



Bacteriol

bag # 1.35

Bacteriol

Class

Book

University of Chicago Library

GIVEN BY

Besides the main topic this book also treats of

Subject No.	On page	Subject No.	On page









# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.**

**Erste Abteilung. XXXIX. 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. XXXIX. Band.**

**Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.**

**Originale.**

**Mit 18 Tafeln und 68 Abbildungen im Texte.**

---

**J e n a ,**  
**Verlag von Gustav Fischer.**  
**1905.**

YIANG HUI  
TO MING  
YIANG HUI

Nachdruck verboten.

## Weitere Untersuchungen über den Meningococcus.

Von Dr. P. Sorgente,

Stifter und Direktor des Kinderhospitals (Ospedale Tiburtino) in Rom.

In einer früheren Mitteilung (1901) über einen Fall von cerebrospinaler Meningitis bei einem 40 Tage alten Kinde habe ich mich ziemlich eingehend mit der Biologie des Meningococcus beschäftigt.

Der klinische Fall war sehr günstig. Denn, während sich einerseits aus der reichlichen, direkt aus den lateralen Cerebralventrikeln ausgezogenen Flüssigkeit ein Meningococcus mit den morphologischen und kulturellen Eigenschaften des Weichselbaumschen Typus entwickelte, ergab sich andererseits aus der vermittelst der Lumbalpunktion extrahierten cerebrospinalen Flüssigkeit ein zweiter, dessen charakteristische Eigentümlichkeiten größtenteils dem Jäger-Heubnerschen Typus entsprachen. Schließlich konnte ich aus den inneren Ohren- und Nasenhöhlen post mortem zwei Diplokokken kultivieren, deren Charakterzüge mit dem Jäger-Heubnerschen Typus vollkommen übereinstimmten.

Nach einer allseitigen bakteriologischen Untersuchung dieser vier isolierten Keime kam ich auf den Gedanken, daß, obwohl sich an denselben beträchtliche charakteristische Unterschiede herausgestellt hatten, diese doch nicht auf einer Verschiedenheit der Art beruhen, sondern von der Verschiedenheit des Bodens, auf dem sie gelebt hatten, herrühren möchten. Von diesem Gesichtspunkt aus unternahm ich eine Reihe genauer und minutiöser Untersuchungen über den Einfluß und die Modifikationen, die auf die vier Varietäten des Meningococcus durch die folgenden Faktoren hervorgerufen werden könnten:

- 1) Das saprophytische Leben und die verschiedenen Kulturböden;
- 2) das Alter und die Temperatur;
- 3) das parasitäre Leben auf einigen Tieren (Kaninchen und Meerschweinchen);
- 4) die normale cerebrospinale Flüssigkeit in vitro.

Die Ergebnisse dieser Experimente sind in meiner Originalarbeit ausführlich dargelegt, und die durch die genannten Faktoren auf die vier Stämme des Meningococcus hervorgebrachten Modifikationen waren derartige, daß sich mir von selbst die Ueberzeugung aufdrängte, es handle sich um Varietäten eines einzigen Meningococcus-Typus, die von den verschiedenen Lebensbedingungen, in denen er sich befunden hatte, abhingen.

Eine der wichtigsten aus meinen Versuchen hervorgegangenen Tatsachen bestand darin, daß der aus den inneren Nasenhöhlen isolierte Diplococcus (der in Glycerinagar dicke, gelbliche, uniforme Belege gab) nach dreimonatlichem Verbleiben in normaler cerebrospinaler Flüssigkeit, in Glycerinagar übergeführt, kleine punktförmige, an Tautropfen erinnernde Kolonien aufwies, die den von mir aus der Flüssigkeit der lateralen Cerebralventrikeln erhaltenen vollkommen ähnlich waren. Es ergab sich daher als logische Konsequenz meiner Versuche, daß die Typen Weichselbaum und Jäger-Heubner nicht als Vertreter zweier verschiedener Meningococcus-Arten betrachtet werden können, sondern daß sie richtiger als Varietäten einer einzigen Species anzusehen sind.

Zu derselben Auffassung waren ein Jahr früher auch Concetti und Longo gelangt.

Jedoch haben diese von uns aus der pädiatrischen Schule Roms vertretenen Ansichten keine allgemeine Zustimmung gefunden, und selbst nach 1902 haben sich gewichtige Stimmen zu Gunsten der spezifischen Verschiedenheit der beiden erwähnten Typen ausgesprochen.

So hat z. B. Xaver Lewkowicz in einer 1902 erschienenen Mitteilung die dualistische Auffassung der Typen Weichselbaum und Jäger-Heubner wieder aufgenommen, obwohl er zugibt, daß dieselbe der Bestätigung durch weitere Untersuchungen bedarf.

Zu denselben dualistischen Schlußfolgerungen waren vorher (1901) auch Albrecht und Ghon gekommen, die im Auftrage ihres Lehrers Weichselbaum die Frage von diesem Gesichtspunkt aus studiert hatten.

Da nun der bisher eingeschlagene Weg zu keinen übereinstimmenden Schlüssen geführt hatte, lag es nahe, eine neue Richtung zu verfolgen und auch zur Lösung dieser Frage unsere Kenntnisse über die Serumagglutination zu verwerten. Aus Gründen, die nicht von meinem Willen abhängen, konnte ich diese Studien erst im Juli 1903 unternehmen, zu einer Zeit, wo über diesen Gegenstand noch keine Arbeit vorlag.

Heubner hat jedoch Untersuchungen veröffentlicht, die zum großen Teil denselben Endzweck im Auge haben, wie die meinigen.

Er stellte sich die Aufgabe, vermittelst des Agglutinationsprozesses die Frage zu studieren, ob die von den Autoren in den stattgefundenen Epidemien beschriebenen Meningokokken, die zum Teil als voneinander verschieden angesehen wurden, auf einen einheitlichen Typus zurückgeführt werden könnten.

In dieser Absicht hat Heubner die Tiere einer doppelten Immunisationsreihe unterzogen, indem er bei einigen einen typischen Stamm seiner Kulturen, bei anderen einen typischen Stamm Weichselbaums anwandte.

Zur Erlangung der Immunisation impfte er den Kaninchen immer anwachsende Mengen toter Kulturen subvenös ein, und mit den auf diese Weise gewonnenen Sera stellte er 16 Meningokokken fest, die aus verschiedenen Epidemien stammten und verschiedenen Typen angehörten, einen *Micrococcus catarrhalis*, einen *Micrococcus quadrigeminus*, zwei *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Seine Schlußfolgerungen sind die folgenden:

1) Das durch Immunisation der Kaninchen erhaltene Serum agglutiniert die *Meningococcus*-Kulturen in spezifischer Weise, und diese Methode ist von großem Wert, um die *Meningococcus*-Kulturen von denen anderer Mikroorganismen zu unterscheiden.

2) Die verschiedenen *Meningococcus*-Typen wurden alle agglutiniert, trotz ihrer kulturellen Verschiedenheiten, auf dieselbe Weise durch das Serum der, sei es mit dem Weichselbaumschen, sei es mit dem Jägerschen Typus immunisierten Tiere.

3) Die von Jäger als wahre Meningokokken betrachteten Stämme erwiesen sich bei der Agglutinationsprobe als solche.

4) Der *Micrococcus catarrhalis* darf nicht als *Meningococcus* angesehen werden.

5) Auch einige den Meningokokken sehr ähnliche Stämme, von denen der eine aus der cerebrospinalen Flüssigkeit in einem Fall von Meningitis, der andere aus einem Fall von Angina tonsillaris, ein dritter aus

der Luft isoliert waren, agglutinierten nicht, sind folglich keine Meningokokken.

Meine Arbeit ging von einer etwas verschiedenen Basis aus, denn ich hatte mir vorgenommen, nicht nur zu untersuchen, ob der aus der Agglutination hergeleitete Beweis die Einheit des Weichselbaumschen und des Jäger-Heubnerschen Typus bestätigte oder nicht, sondern auch, ob dadurch ein spezifischer Unterschied zwischen dem Meningococcus und anderen nicht aus der cerebrospinalen Flüssigkeit stammenden Diplokokken festgestellt wurde.

Zu diesem Zweck habe ich zwei Kaninchen mit zwei Meningokokken von verschiedener Herkunft und verschiedenem Typus und andererseits ein Kaninchen mit einem aus einer Phlegmone isolierten Diplococcus immunisiert.

Die von mir angewandte Methode bestand darin, daß ich zuerst subkutan und dann subvenös immer anwachsende Mengen toter Kulturen und nachher lebender von den betreffenden Keimen inokulierte.

Vermittelst der aus diesen drei Kaninchen gewonnenen Sera habe ich in verschiedenen Immunisationsperioden die Agglutinierung bei 28 Meningokokken verschiedener Herkunft und bei 8 Diplokokken, die nicht aus der cerebrospinalen Flüssigkeit stammten, untersucht.

Ich schicke eine kurze Beschreibung der von mir geprüften Stämme voraus, und um Wiederholungen zu vermeiden, und zugleich zum besseren Verständnis erinnere ich sogleich an die charakteristischen Eigentümlichkeiten der beiden Meningococcus-Typen nach der dualistischen Auffassung.

### 1. Typus Jäger-Heubner.

Massenhafte Gruppierung, oft Bildung von Ketten, Gramsche Färbung, üppige Entwicklung, mehr oder weniger dichte Belege.

Entwicklung auch bei Zimmertemperatur (18° C) in Bouillon, auf Gelatine, Kartoffeln und in Milch.

### 2. Typus Weichselbaum.

Entfärbung durch die Gramsche Flüssigkeit.

Bildet in Agar bei 37° nach 48 Stunden kleine isolierte Kolonien, Tautropfen ähnlich.

Bei gewöhnlicher Temperatur keine Entwicklung, weder in Bouillon, noch in Gelatine, noch auf Kartoffeln.

Ferner teile ich die von mir untersuchten Diplococcus-Stämme in zwei Kategorien.

#### A. Aus der cerebrospinalen Flüssigkeit isolierte Diplokokken.

##### 1) Meningococcus Diotallevi.

Herkunft aus der cerebrospinalen, vermittelt Lumbalpunktion ausgezogenen Flüssigkeit eines 6-jährigen Mädchens, das an cerebrospinaler Meningitis litt, und im Hospital gestorben ist.

Während ihres 15-tägigen Aufenthaltes daselbst wurden 6 Lumbalpunktionen vorgenommen, die 30—60 ccm klarer Flüssigkeit ergaben. Aus dieser ließ sich immer ein Meningococcus des Jäger-Heubnerschen Typus kultivieren, und ebensolche Kulturen erhielt man aus dem sehr dünnen Exsudat, das sich bei der Autopsie an dem Chiasma und der Brücke herausstellte.

Der *Meningococcus Diotallevi* tötete nach ungefähr 5 Tagen eine weiße Maus, die mit 1,5 ccm einer Bouillonkultur im Peritoneum geimpft war; und nach 24 Stunden ein Kaninchen infolge einer subvenösen Inokulation von 6 in sterilisiertem Wasser emulsierten Agarkulturen.

Derselbe *Meningococcus* wurde aus dem Herzblut kultiviert.

2) *Meningococcus Grazioli*.

Herkunft aus der durch Lumbalpunktion extrahierten cerebrospinalen Flüssigkeit von einem 5-jährigen im Hospital an cerebrospinaler Meningitis gestorbenen Knaben.

Während der 7 Tage seines Verbleibens im Hospital wurden 2 Lumbalpunktionen ausgeführt mit einem Ergebnis von 15—30 ccm einer mit ein wenig Blut vermischten Flüssigkeit, die sich nicht abklärte, nachdem man sie hatte stehen lassen.

In Glycerinagar entwickelten sich bei 37° nach 36—48 Stunden kleine Kolonien wie Tautropfen.

Die Bouillons trübten sich nicht, auch bildete sich in ihnen kein Bodensatz. Sie enthielten Diplokokken in Form von Kaffeebohnen, die größtenteils isoliert waren, hier und da zu kurzen Kettchen und sehr spärlichen Gruppen verbunden.

Auch die übrigen Eigenschaften wiesen auf den *Meningococcus*-Typus hin.

3) *Meningococcus Bignardi*.

Aus der durch Lumbalpunktion extrahierten cerebrospinalen Flüssigkeit von einem 5-monatigen Mädchen. Dieses litt an einer Meningitis, die einen sehr langsamen Verlauf hatte und durch Anfälle von Eklampsie charakteristisch war, welche sich anfangs 6—10mal täglich wiederholten, dann infolge der Lumbalpunktionen seltener wurden, bis zu einem Anfall alle 20—40 Tage. Im Verlauf von 10 Monaten wurden 18 Lumbalpunktionen vorgenommen mit einem Ergebnis von 20—40—80 ccm einer klaren Flüssigkeit, aus der sich in Glycerinagar bei 37° nach 2—3 Tagen *Meningococcus*-Kulturen meistens vom Weichselbaumschen Typus entwickelten. Die charakteristischen Eigenschaften stimmen mit dem vorhergehenden überein, jedoch ist die Form der Kokken runder, sehr wenig abgeplattet an der Seite, wo man sie ansieht.

4) *Meningococcus Stefanini A.*

Aus der vermittelst Lumbalpunktion ausgezogenen cerebrospinalen Flüssigkeit von einem 5-jährigen Mädchen, das an cerebrospinaler Meningitis litt, und nach 7-tägigem Aufenthalt im Hospital starb; die Autopsie bestätigte die Diagnose. Der kultivierte *Meningococcus* gehört dem Typus Weichselbaum an. Die Eigenschaften sind denen des *Meningococcus* 3 gleich.

5) *Meningococcus Aquilani*.

Aus der cerebrospinalen, durch Lumbalpunktion extrahierten Flüssigkeit von einem 6-jährigen Knaben mit den Symptomen von Meningitis und Septikämie. Heilung nach einem Aufenthalt von etwa einem Monat.

In Glycerinagar entwickelten sich bei 37° nach 24—36 Stunden sehr dünne irisierende Ueberzüge. Die Bouillons waren ein wenig trübe und enthielten nicht abgeplattete Diplokokken, von denen viele zu kurzen Ketten verbunden waren.

Ebensolche Kulturen erhielt man aus dem Blut durch Incision einiger Beulen, die die Haut des ganzen Körpers während 6 Krankheitstagen in großer Anzahl bedeckten.

Die Eigenschaften dieses Diplococcus entsprechen im allgemeinen denen des Typus Jäger-Heubner.

6) Meningococcus Capitali.

Aus der cerebrospinalen, vermittelt Lumbalpunktion extrahierten Flüssigkeit eines 20 Monate alten Mädchens, das an spastischer Cerebraldiplegie und häufigen Konvulsionen epileptischer Natur litt.

Die 4 Lumbalpunktionen ergaben je 15—30 ccm völlig klarer Flüssigkeit, aus der sich immer in Glycerinagar bei 37° nach 24 Tagen Meningococcus-Kulturen vom Typus Jäger-Heubner entwickelten.

Das Mädchen verblieb etwa 2 Monate im Hospital, es starb außerhalb des Hospitals an Marasmus.

7) Meningococcus Tiraferri.

Aus der durch Lumbalpunktion ausgezogenen cerebrospinalen Flüssigkeit von einem 10 Monate alten Knaben, der an häufigen Konvulsionen epileptischen Charakters litt.

Während seines 18-tägigen Aufenthalts im Hospital wurden 3 Lumbalpunktionen gemacht, aus denen man je 15—20 ccm einer etwas mit Blut vermischten Flüssigkeit erhielt. Aus dieser entwickelten sich in Glycerinagar bei 37° nach 24—36 Stunden Kulturen eines Meningococcus vom Typus Jäger-Heubner. Die Krankheit währte ungefähr 2 Monate; der Knabe starb außerhalb des Hospitals.

8) Meningococcus Miani.

Aus der durch Lumbalpunktion extrahierten cerebrospinalen Flüssigkeit eines Mädchens von 13 Monaten. Es litt an häufigen epileptischen Konvulsionen. Von den beiden während eines 21-tägigen Aufenthalts vorgenommenen Lumbalpunktionen ergab die erstere eine klare, die letztere eine etwas mit Blut vermischte Flüssigkeit, im ganzen 30 ccm. Man erhielt in Glycerinagar bei 37° nach 24—36 Stunden Kolonien eines Meningococcus, Typus Jäger-Heubner. — Die Krankheit dauerte vom ersten konvulsivischen Anfall an ungefähr 9 Monate. Bei der Autopsie erwiesen sich keine Exsudate an der Pia mater, sondern nur eine starke Kongestion der Meningengefäße sowohl an der Konvexität als an der Basis.

Dünnes Exsudat der Pia mater an der Brücke und am Bulbus. Aus diesem erhielt man in Glycerinagar Kulturen, die den aus der cerebrospinalen Flüssigkeit in vitro stammenden gleich waren, sowie denselben Diplococcus.

9) Meningococcus Bencivenni.

Von einem 4-jährigen Knaben, der seit dem Alter von 7 Monaten an epileptischen Anfällen gelitten hatte. Er blieb 10 Tage im Hospital und zeigte die Symptome einer cerebrospinalen Meningitis. Durch zwei Lumbalpunktionen wurden je 15—20 ccm klare Flüssigkeit ausgezogen, aus der sich in Glycerinagar bei 37° Kolonien eines Meningococcus (Jäger-Heubner-Typus) entwickelten. Die Autopsie bestätigte die Diagnose einer eiterigen cerebrospinalen Meningitis.

10) Meningococcus Panetti.

Aus der cerebrospinalen Flüssigkeit eines Knaben von 13 Monaten, der während einer Woche 3 Anfälle von Eklampsie hatte, die von Diätfehlern herzurühren schienen. Die Lumbalpunktion ergab 20 ccm klare Flüssigkeit, aus der man in Glycerinagar bei 37° Kulturen eines Meningococcus (Jäger-Heubner-Typus) erhielt.

11) Meningococcus Manetti.

Aus der cerebrospinalen Flüssigkeit eines 7 Monate alten Knaben,

der an erblicher Lues und chronischem Hydrocephalus litt. Er blieb 5 Monate lang in Beobachtung. Infolge einer antisiphilitischen Kur und der 5mal wiederholten Lumbalpunktionen nahm der Umfang des Schädels um 3 cm ab. Obwohl der Knabe jedoch mit der Muttermilch gut ernährt war, entwickelte er sich durchaus nicht, und starb in atrophischem Zustand und unter Anfällen von Eklampsie.

Durch die beiden ersten Lumbalpunktionen wurden nur wenige Kubikcentimeter einer etwas mit Blut vermischten Flüssigkeit ausgezogen. Die anderen ergaben 40—50 ccm klare Flüssigkeit, aus der sich in Glycerinagar bei 37° nach 24—48 Stunden Kulturen eines Meningococcus (Jäger-Heubner-Typus) entwickelten.

12) Meningococcus Antonini.

Von einem 11 Monate alten Knaben, der 6 Tage im Hospital blieb unter Meningitissymptomen. Vermittelt der Lumbalpunktion wurden unter Druck 30 ccm klare Flüssigkeit extrahiert, aus der sich in Glycerinagar bei 37° nach 24 Stunden Kulturen eines Meningococcus (Jäger-Heubner-Typus) entwickelten.

Gleiche Kulturen erhielt man aus der reichlichen Flüssigkeit, die sich bei der Autopsie in den Subarachnoidalräumen vorfand.

13) Meningococcus Cuboni.

Von einem 11-monatigen Knaben, der 12 Tage im Hospital blieb, mit geringen Meningitissymptomen. Aus der ersten Lumbalpunktion erhielt man 30 ccm sehr klarer Flüssigkeit, aus der zweiten 10 ccm einer mit etwas Blut vermischten. In Glycerinagar entwickelten sich bei 37° nach 1—2 Tagen Kulturen eines Meningococcus (Jäger-Heubner-Typus).

Bei der Autopsie ergab sich eine vorwiegende Konvexitätsmeningitis.

14) Meningococcus Viale.

Von einem 2-jährigen Knaben, der 3 Tage im Hospital zubrachte, mit Symptomen der Meningitis.

Vermittelt der Lumbalpunktion erhielt man unter niedrigem Druck 20 ccm sehr klarer Flüssigkeit, aus der sich in Glycerinagar bei 37° nach 48 Stunden die kleinen charakteristischen, tautropfenartigen Kolonien entwickelten (Meningococcus Typus Weichselbaum).

Dagegen ergaben sich aus dem Blut, das man aus der Apophysis mastoidea nach Ansetzung von Blutegeln ausströmen ließ, und aus dem aus einer Fingerkuppe entnommenen in Agar bei 37° nach 24 Stunden Kolonien des Meningococcus Typus Jäger-Heubner.

Die Autopsie des Knaben bestätigte die Diagnose auf Meningitis. Aus der reichlichen Flüssigkeit, die sich in den Subarachnoidalräumen, sowie in dem Exsudat der Pia mater und in den inneren Höhlungen der Ohren vorfand, erhielt man in reiner Kultur den Meningococcus des Typus Jäger-Heubner.

Aus diesem Fall wurden also mehrere Meningococcus-Stämme isoliert. In Bezug auf die Agglutination wurden der aus der cerebrospinalen Flüssigkeit während der Krankheit isolierte und der aus dem Blut herrührende untersucht. Diese nennen wir:

15) Meningococcus Viale aus dem Blut,  
und den aus den Höhlungen der Ohren isolierten

16) Meningococcus Viale aus den Ohren.

Diese beiden letzten sind der ersten Kategorie zugezählt, weil sie in Hinsicht auf die Agglutination dasselbe Verhalten zeigten, wie die aus der cerebrospinalen Flüssigkeit isolierten.



17) *Meningococcus Pinzi*.

Von einem 3 Monate alten Knaben, der weniger als 2 Tage im Hospital war; mit Symptomen von Lobärpneumonie an der rechten Seite und Meningitis; eine Diagnose, die durch die Autopsie bestätigt wurde.

Aus den 20 ccm ein wenig mit Blut vermischter Flüssigkeit, die durch Lumbalpunktion extrahiert war, entwickelten sich in Glycerinagar bei 37° nach 24 Stunden Kulturen des *Meningococcus* Typus Jäger-Heubner.

18) *Meningococcus Sericoni*.

Von einem 22 Monate alten Mädchen, das 40 Tage im Hospital verblieb, mit zweifellosen Symptomen der Störung des Zentralnervensystems, (Paresis des linken Nervus facialis, Unruhe abwechselnd mit Betäubung, Nachts plötzliches Aufschreien).

Aus der vermittelt 2 Lumbalpunktionen ausgezogenen cerebrospinalen Flüssigkeit, sowie aus dem einmal aus einem Finger, ein anderes Mal aus der Apophysis mastoidea entnommenen Blut und aus dem mit dem Katheter extrahierten Urin entwickelten sich in Glycerinagar bei 37° nach 36—48 Stunden dieselben Kulturen des *Meningococcus* Typus Jäger-Heubner.

Von diesen 3 Stämmen wurden 2 in Rücksicht auf die Agglutination untersucht, nämlich der aus der cerebrospinalen Flüssigkeit isolierte unter der No. 18 und der aus dem Urin erhaltene, den wir

19) *Meningococcus Sericoni*, Urin benennen wollen.

20) *Meningococcus Liera*.

Von einem 10 Monate alten Mädchen, welches 4 Tage unter evidenten Meningitissymptomen im Hospital zubrachte.

Vermittelst der Lumbalpunktion wurden 20 ccm klarer Flüssigkeit ausgezogen, aus der sich in Glycerinagar bei 37° nach 24 Stunden Kulturen des *Meningococcus* vom Typus Jäger-Heubner entwickelten.

Dieselben Kulturen ergaben sich aus dem Blut der Apophysis mastoidea, nachdem Blutegel appliziert waren.

Diesen zweiten Stamm benenne ich:

21) *Meningococcus Liera*, Blut.

22) *Meningococcus Ditraglia*.

Von einem 4-jährigen, mit chronischem Hydrocephalus behafteten Knaben. Aus der reichlichen cerebrospinalen Flüssigkeit, die durch viele Lumbalpunktionen im Verlauf von 8 Monaten extrahiert war, entwickelten sich regelmäßig in Glycerinagar bei 37° nach 48 Stunden Kulturen des *Meningococcus*, Typus Weichselbaum.

23) *Meningococcus Nicolai*.

Von einem 18 Monate alten, gleichfalls an chronischem Hydrocephalus leidenden Knaben.

Aus der reichlichen, innerhalb 11 Monaten durch zahlreiche Lumbalpunktionen ausgezogenen cerebrospinalen Flüssigkeit entwickelten sich beständig in Agar bei 37° nach 2—4 Tagen Kulturen des *Meningococcus*, Typus Weichselbaum.

24) *Meningococcus Stefanini B*.

Von einem 7-monatigen Mädchen, Schwester der anderen Stefanini, von der der *Meningococcus* 4 herrührt.

Sie befindet sich seit 5 Monaten und noch augenblicklich im Hospital unter Symptomen der Little-Krankheit. Ihre Entwicklung war im Alter von 6 Monaten unterbrochen. Außerhalb des Hospitals hatte

sie eine Fieberkrankheit mit Symptomen der Affektion des Zentralnervensystems.

Aus der spärlichen, nach sehr langen Zwischenräumen durch Lumbalpunktion extrahierten cerebrospinalen Flüssigkeit entwickelten sich immer in Glycerinagar bei 37° nach 24—36 Stunden Kulturen des Meningococcus, Typus Jäger-Heubner.

Ebensolche Kulturen wurden wiederholt aus dem Blut gewonnen von einem Diplococcus mit dem Namen:

25) Meningococcus Stefanini (Blut).

26) Meningococcus Carocci.

Von einem 17 Monate alten Mädchen, das 11 Tage im Hospital mit Symptomen der Meningitis zubrachte.

Aus der durch 2 Lumbalpunktionen ausgezogenen Flüssigkeit entwickelten sich in Glycerinagar bei 37° nach 24—48 Stunden Kulturen des Meningococcus, Typus Jäger-Heubner.

Gleiche Kulturen ergaben sich aus dem Blut und aus dem Urin mit Diplokokken des Namens:

27) Meningococcus Carocci, Blut.

28) Meningococcus Carocci, Urin.

#### B. Diplokokken, die nicht von der cerebrospinalen Flüssigkeit herrühren.

##### 1) Diplococcus d'Elia.

Aus einer akuten Arthrosynovitis am Fuß eines 7-jährigen Mädchens, das im Hospital behandelt wurde.

Aus dem extrahierten dicken Eiter entwickelten sich in Glycerinagar bei 37° nach 24 Stunden uniforme, mehr oder weniger dichte Belege, die anfangs gelblich waren, dann nach 2—3 Monaten aufeinanderfolgender Uebertragungen eine rötlich-gelbe Färbung annahmen.

Diese enthielten stets scharf ausgeprägte, ein wenig bewegliche Diplokokken, die der Gramschen Färbung widerstanden. Die Bouillonkulturen hatten ein etwas trübes Aussehen mit einem geringen flockigen Bodensatz.

##### 2) Diplococcus Maini.

Aus dem Exsudat der Pleura eines 7-jährigen Knaben, der im Hospital an Pleuropulmonitis an der rechten Seite behandelt wurde.

Aus der extrahierten zitronengelben Flüssigkeit (15 ccm) entwickelten sich in Glycerinagar bei 37° dünne, fast transparente Belege, die größtenteils freie, von einem Hof umgebene und andere kapselförmige Diplokokken enthielten. Diese nahmen die Gramsche Färbung nicht an und trübten die Bouillons nicht.

In den späteren Uebertragungen auf Glycerinagar wurden die Belege dichter und mehr gelb.

##### 3) Diplococcus Bergamaschi.

Von einem Fall von Empyem an der linken Seite eines 2 $\frac{1}{2}$  Jahre alten, im Hospital behandelten Knaben. Aus dem dicken Eiter entwickelten sich in Glycerinagar bei 37° kleine runde Kolonien und dünne, uniforme Belege, die große Diplokokken enthielten, von denen viele mit einem Hof kapselförmig umgeben waren und sich durch Gram entfärbten.

Die Bouillons waren ein wenig getrübt und enthielten einen spärlichen, flockigen Bodensatz.

Bei den späteren Uebertragungen auf Glycerinagar erhielt man immer dichtere und gelbere Belege.

4) *Diplococcus Sardella*.

Aus dem spärlichen Exsudat der Pleura eines 18 Monate alten Knaben, der im Hospital an einer Pleuropulmonitis (links) behandelt wurde.

Aus der serös-fibrinösen Flüssigkeit entwickelten sich in Glycerinagar bei 37° den vorhergehenden gleiche Kulturen. Die Diplokokken waren weniger groß und nahmen die Gramsche Färbung an.

5) *Diplococcus Bendani*.

Aus dem Vaginalexsudat eines Mädchens von 5 Jahren, das im Ambulatorium an einer eitrigen Vulvovaginitis mit reichlicher Absonderung behandelt wurde. In Glycerinagar entwickelten sich bei 37° zahlreiche kleine Kolonien, groß wie ein Nadelkopf und auch größer, die scharf ausgeprägte Diplokokkenformen enthielten. Diese nahmen die Gramsche Färbung nicht an und trübten die Bouillon ein wenig. Bei den späteren Uebertragungen in Glycerinagar erhielt man uniforme, ziemlich dichte, gelblich-weiße Belege.

Tabelle I.

Kaninchen A ungefähr 3 Monate hindurch durch den Meningococcus Diotallevi 1 immunisiert.

Nach wiederholten subkutanen Inokulationen wurden 3 reichliche Kulturen in Agar, die in sterilisiertem Wasser emulsiert und 1 Stunde lang bei 55° C erhitzt waren, eingimpft. Die Blutentziehung wurde 15 Tage später vorgenommen.

Stämme	Typus der Kultur	Verdünnung		Bemerkungen
		1:50	1:100	
1) <i>Meningococcus Diotallevi</i>	J.-H.	++	+	J.-H. = Jäger-Heubner W. = Weichselbaum
2) " <i>Graziosi</i>	W.	+	+	
3) " <i>Bignardi</i>	"	+	+	
4) " <i>Stefanini A</i>	"	+	+	
5) " <i>Aquillani</i>	J.-H.	+	+	
6) " <i>Capitali</i>	"	+	+	
7) " <i>Tirafferri</i>	"	+	+	
8) " <i>Miani</i>	"	+	+	
9) " <i>Bençivenni</i>	"	+	+	
10) " <i>Panetti</i>	"	+	+	
11) " <i>Manetti</i>	"	+	+	
12) " <i>Antonini</i>	"	+	+	
13) " <i>Cuboni</i>	"	+	+	
14) " <i>Viale</i>	W.	+	+	
15) " <i>Viale (Blut)</i>	J.-H.	+	+	
16) " <i>Viale (Ohren)</i>	"	+	+	
17) " <i>Pinzi</i>	"	+	+	
18) " <i>Sericoni</i>	"	+	+	
19) " <i>Sericoni (Urin)</i>	"	+	+	
20) " <i>Liera</i>	"	+	+	
21) " <i>Liera (Blut)</i>	"	+	+	
22) " <i>Ditraglia</i>	W.	+	+	
23) " <i>Nicolai</i>	"	+	+	
24) " <i>Stefanini B</i>	J.-H.	+	+	
25) " <i>Stefanini (Blut)</i>	"	+	+	
26) " <i>Carocci</i>	"	+	+	
27) " <i>Carocci (Blut)</i>	"	+	+	
28) " <i>Carocci (Urin)</i>	"	+	+	
1) <i>Diplococcus d'Elia</i>		—	—	
2) " <i>Maini</i>		—	—	
3) " <i>Bergamaschi</i>		—	—	
4) " <i>Sardella</i>		—	—	
5) " <i>Bondani</i>		—	—	
6) " <i>Phlegmone</i>		—	—	
7) " <i>Canali</i>		—	—	
8) " <i>Pane</i>		—	—	

6) *Diplococcus Phlegmone*.

Isoliert aus dem Eiter eines Knaben, der wegen einer Phlegmone an der Hüfte im Ambulatorium behandelt wurde. — Die morphologischen und kulturellen Eigenschaften stimmen mit denen des *Diplococcus Elia* 1 völlig überein.

7) *Diplococcus Canali*.

Von einem 3-jährigen Mädchen, das an der Lösungsperiode einer Pulmonitis an der rechten Seite mit einem Ausschlag von Eiterblasen, namentlich an den Beinen, bedeckt wurde. Aus einigen derselben entwickelte sich in Reinkultur ein *Diplococcus*.

8) *Diplococcus Pane*.

Ein *Pneumococcus*, den Herr Prof. Pane mir gütigst aus Neapel verschafft hat.

Tabelle II.

Kaninchen B ungefähr 7 Monate lang durch den *Meningococcus Grazioli* 2 immunisiert.

Anfangs wurden subkutan, später intravenös immer anwachsende tote Kulturen inokuliert; nach und nach schritt man zur subvenösen Inokulation von 3 lebenden Kulturen. 10 Tage darauf erfolgte die Blutentziehung.

Stämme	Typus der Kultur	Verdünnung				Bemerkungen
		1:30	1:50	1:100	1:1000	
1) <i>Meningococcus Diotallevi</i>	J.-H.	+++	+++	++	+	J.-H. = Jäger-Heubner W. = Wechselbaum
2) „ <i>Grazioli</i>	W.	+++	+++	++	+	
3) „ <i>Bignardi</i>	„	+++	+++	++	+	
4) „ <i>Stefanini A</i>	„	++	++	++	+	
5) „ <i>Aquilani</i>	J.-H.	++	++	+	+	
6) „ <i>Capitali</i>	„	++	++	+	+	
7) „ <i>Tirafferri</i>	„	++	++	+	+	
8) „ <i>Miani</i>	„	++	++	+	+	
9) „ <i>Bencivenni</i>	„	++	++	+	+	
10) „ <i>Panetti</i>	„	++	++	+	+	
11) „ <i>Manetti</i>	„	++	++	+	+	
12) „ <i>Antonini</i>	„	++	++	+	+	
13) „ <i>Cuboni</i>	„	++	++	+	+	
14) „ <i>Viale</i>	W.	++	++	+	+	
15) „ <i>Viale (Blut)</i>	J.-H.	++	++	+	+	
16) „ <i>Viale (Ohren)</i>	„	++	+	±	±	
17) „ <i>Pinzi</i>	„	++	++	+	+	
18) „ <i>Sericoni</i>	„	++	++	+	+	
19) „ <i>Sericoni (Urin)</i>	„	+	+	+	±	
20) „ <i>Liera</i>	„	++	++	+	+	
21) „ <i>Liera (Blut)</i>	„	++	++	+	+	
22) „ <i>Ditraglia</i>	W.	++	++	+	+	
23) „ <i>Nicolai</i>	„	++	++	+	+	
24) „ <i>Stefanini B</i>	J.-H.	++	++	+	+	
25) „ <i>Stefanini (Blut)</i>	„	++	++	+	+	
26) „ <i>Carocci</i>	„	++	++	+	+	
27) „ <i>Carocci (Blut)</i>	„	++	+	+	+	
28) „ <i>Carocci (Urin)</i>	„	++	+	+	±	
1) <i>Diplococcus d'Elia</i>		+	Paral- ysis	—	—	
2) „ <i>Maini</i>		+	do.	Paral- ysis	—	
3) „ <i>Bergamaschi</i>		+	±	—	—	
4) „ <i>Sardella</i>		+	±	—	—	
5) „ <i>Bondani</i>		—	±	—	—	
6) „ <i>Phlegmone</i>		+	±	—	—	
7) „ <i>Canali</i>		—	±	—	—	
8) „ <i>Pane</i>		—	—	—	—	

Die untersuchten Diplokokkenstämme belaufen sich also im ganzen für beide Kategorien auf 36.

Aus den Tabellen p. 9—13 ist ersichtlich, welches Verhalten dieselben in Hinsicht der Serumagglutination gezeigt haben.

Tabelle III.

Kaninchen C ungefähr 6 Monate lang durch den Diplococcus Phlegmone 6 immunisiert.

Blutentziehung 14 Tage nach der letzten (subvenösen) Inokulation von 5 toten Kulturen.

Stämme	Typus der Kultur	Verdünnung				Bemerkungen
		1:30	1:50	1:100	1:300	
1) Meningococcus Diotallevi	J.-H.	+	—	—	—	J.-H. = Jäger-Heubner W. = Weichselbaum
2) " Graziosi	W.	+++	—	—	—	
3) " Bignardi	"	—	—	—	—	
4) " Stefanini A	"	—	—	—	—	
5) " Aquilani	J.-H.	+	—	—	—	
6) " Capitali	"	—	—	—	—	
7) " Tiraferri	"	—	—	—	—	
8) " Miani	"	—	—	—	—	
9) " Bencivenni	"	—	—	—	—	
10) " Panetti	"	—	—	—	—	
11) " Manetti	"	—	—	—	—	
12) " Antonini	"	—	—	—	—	
13) " Cuboni	"	—	—	—	—	
14) " Viale	W.	+	—	—	—	
15) " Viale (Blut)	J.-H.	+++	—	—	—	
16) " Viale (Ohren)	"	+++	—	—	—	
17) " Pinzi	"	+	—	—	—	
18) " Sericoni	"	+++	—	—	—	
19) " Sericoni (Urin)	"	+++	—	—	—	
20) " Liera	"	+++	—	—	—	
21) " Liera (Blut)	"	+++	—	—	—	
22) " Ditraglia	W.	+	—	—	—	
23) " Nicolai	"	—	—	—	—	
24) " Stefanini B	J.-H.	—	—	—	—	
25) " Stefanini (Blut)	"	—	—	—	—	
26) " Carocci	"	—	—	—	—	
27) " Carocci (Blut)	"	—	—	—	—	
28) " Carocci (Urin)	"	+	—	—	—	
1) Diplococcus d'Elia		++	++	+	+	
2) " Maini		++	++	+	+	
3) " Bergamaschi		++	++	+	++	
4) " Sardella		++	++	+	+++	
5) " Bondani		+	+	Paral- lysis	—	
6) " Phlegmone		+++	+++	++	+	
7) " Canali		+	+	+	Para- lysis	
8) " Pane		+	+	+	—	

Aus den Tabellen I und II geht mit völliger Evidenz hervor, daß alle aus der cerebrospinalen Flüssigkeit oder dem Blut oder dem Urin von mit Meningitis behafteten Kindern kultivierten Diplokokken dasselbe Verhalten gezeigt haben gegenüber dem Serum von Kaninchen, die durch zwei derselben (Meningococcus 1 und Meningococcus 2) immunisiert waren, von denen der eine dem Typus Jäger-Heubner, der andere dem Typus Weichselbaum angehört. Die untersuchten Stämme betragen im ganzen 28, von denen 6 den Typus Weichselbaum, 22 den Typus Jäger-Heubner vertreten. Alle blieben durch die beiden der Prüfung unterzogenen Sera agglutiniert, mit geringem Unterschied lediglich in Rücksicht auf größere Verdünnungen.

Tabelle IV.  
Serum des Mädchens Bignardi (Meningococcus 3).

Stämme	Typus der Kultur	Verdünnung			Bemerkungen
		1:30	1:50	1:100	
1) Meningococcus Diotallevi	J.-H.	+	+	—	J.-H. = Jäger-Heubner W. = Weichselbaum
2) „ Graziosi	W.	+	+	—	
3) „ Bignardi	„	++	+	+	
4) „ Stefanini A	„	+	+	—	
5) „ Aquilani	J.-H.	+	+	—	
6) „ Capitali	„	+	+	—	
7) „ Tiraferri	„	+	+	—	
8) „ Miani	„	+	+	—	
9) „ Bencivenni	„	+	+	—	
10) „ Panetti	„	+	+	—	
11) „ Manetti	„	+	+	—	
12) „ Antonini	„	+	+	—	
13) „ Cuboni	„	+	+	—	
14) „ Viale	W.	+	+	—	
15) „ Viale (Blut)	J.-H.	+	+	—	
16) „ Viale (Ohren)	„	+	+	—	
17) „ Pinzi	„	+	+	—	
18) „ Sericoni	„	+	+	—	
19) „ Sericoni (Urin)	„	+	+	—	
20) „ Liera	„	+	+	—	
21) „ Liera (Blut)	„	+	+	—	
22) „ Ditraglia	W.	+	+	—	
23) „ Nicolai	„	+	+	—	
24) „ Stefanini B	J.-H.	+	+	—	
25) „ Stefanini (Blut)	„	+	+	—	
26) „ Carocci	„	+	+	—	
27) „ Carocci (Blut)	„	+	+	—	
28) „ Carocci (Urin)	„	+	+	—	
1) Diplococcus d'Elia		—	—	—	
2) „ Maini		—	—	—	
3) „ Bergamaschi		—	—	—	
4) „ Sardella		—	—	—	
5) „ Bondani		—	—	—	
6) „ Phlegmone		—	—	—	
7) „ Canali		—	—	—	
8) „ Pane		—	—	—	

Andererseits war bei den 8 zur zweiten Kategorie gehörigen Diplokokken kein Einfluß durch das Serum des Kaninchens A bemerkbar; während sie bis zu einer Verdünnung von 1:50 agglutiniert oder paralytisch wurden in Gegenwart des Serums von dem Kaninchen B, welches, da es ein größeres Agglutinationsvermögen besitzt, seine Wirkung auch auf verwandte Diplokokkenarten äußerte.

Jedoch trat die Verschiedenheit der beiden Gruppen bei starken Verdünnungen wieder aufs neue in evidentester Weise hervor.

Die Tabelle III bestätigt durchaus, was sich bereits aus den beiden vorhergehenden ergeben hat, da alle Diplokokken der Kategorie I durch das Serum des mit dem Diplococcus der Phlegmone immunisierten Kaninchens C nicht agglutiniert blieben. Nur bei der schwachen Verdünnung von 1:10 zeigten einige derselben eine gewisse Empfindlichkeit, indem sie unvollständig agglutinierten oder nur paralytisch wurden.

In der Tabelle IV sind die Resultate der Agglutination durch das Serum des Mädchens Bignardi zusammengefaßt, aus dessen cerebrospinaler Flüssigkeit der Meningococcus 3 isoliert wurde. Hier agglutinierten alle Diplokokken der Kategorie I bis zur Verdünnung von 1:50 und der

Tabelle V.  
Antipneumonisches Serum Pane.

Stämme	Typus der Kultur	Verdünnung				Bemerkungen
		1:10	1:50	1:100	1:1000	
1) Meningococcus Dotallevi	J.-H.	—	—	—	—	J.-H. = Jäger- Heubner W. = Weichsel- baum
2) „ Graziosi	W.	—	—	—	—	
3) „ Bignardi	„	+	—	—	—	
4) „ Stefanini A	„	—	—	—	—	
5) „ Aquilani	J.-H.	—	—	—	—	
6) „ Capitali	„	+	—	—	—	
7) „ Tiraferri	„	—	—	—	—	
8) „ Miani	„	—	—	—	—	
9) „ Bencivenni	„	—	—	—	—	
10) „ Panetti	„	—	—	—	—	
11) „ Manetti	„	—	—	—	—	
12) „ Antonini	„	—	—	—	—	
13) „ Cuboni	„	—	—	—	—	
14) „ Viale	W.	—	—	—	—	
15) „ Viale (Blut)	J.-H.	—	—	—	—	
16) „ Viale (Ohren)	„	—	—	—	—	
17) „ Pinzi	„	—	—	—	—	
18) „ Sericoni	„	—	—	—	—	
19) „ Sericoni (Urin)	„	—	—	—	—	
20) „ Liera	„	—	—	—	—	
21) „ Liera (Blut)	„	—	—	—	—	
22) „ Ditraglia	W.	—	—	—	—	
23) „ Nicolai	„	—	—	—	—	
24) „ Stefanini B	J.-H.	—	—	—	—	
25) „ Stefanini (Blut)	„	—	—	—	—	
26) „ Carocci	„	—	—	—	—	
27) „ Carocci (Blut)	„	—	—	—	—	
28) „ Carocci (Urin)	„	—	—	—	—	
1) Diplococcus d'Elia	„	—	—	—	—	
2) „ Maini	„	+	+	+	—	
3) „ Bergamaschi	„	+	+	+	—	
4) „ Sardella	„	+	+	+	—	
5) „ Bondani	„	—	—	—	—	
6) „ Phlegmone	„	—	—	—	—	
7) „ Canali	„	—	—	—	—	
8) „ Pane	„	+++	+++	+++	+++	

Meningococcus 3 bis zur Verdünnung von 1:100, während dasselbe Serum auf alle 8 Diplokokken der Kategorie II ohne Wirkung blieb.

Aus der Tabelle V geht hervor, daß das antipneumonische Serum einerseits eine sehr ausgesprochene agglutinierende Wirkung auf den Pneumococcus Pane ausgeübt hat. Andererseits hat dasselbe eine ziemlich beträchtliche agglutinierende Aktion auf 3 Diplokokken der Kategorie II gezeigt. Diese sind dem erstgenannten ohne Zweifel verwandt, da sie aus metapneumonischen Exsudaten der Pleura stammen. Auf die anderen 4 Diplokokken der Kategorie II und auf alle 28 der Kategorie I angehörigen hat es sich unwirksam erwiesen, abgesehen von einer geringen Agglutination, die sich bei der Verdünnung 1:10 auf den Meningococcus 3 Bignardi und den Meningococcus 6 Capitali geäußert hat.

Aus den Beobachtungen und Tatsachen, die ich auseinandergesetzt habe, lassen sich folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1) Es ist der Beweis geführt worden, daß man auch vermittelt der Serumagglutinationsprobe nicht dazu gelangt, spezifische Verschiedenheiten zwischen den Meningococcus-Typen Weichselbaum und Jäger-

Heubner zu konstatieren. Folglich müssen beide als Varietäten einer einzigen bakterischen Art betrachtet werden.

2) Die aus den Meningitisfällen isolierten oder aus der cerebrospinalen Flüssigkeit herkommenden Meningokokken haben der Agglutinationserscheinung gegenüber ein Verhalten gezeigt, welches durchaus verschieden ist von demjenigen der anderen aus dem menschlichen Organismus isolierten Diplokokken.

3) Das Blutserum eines mit meningokokkischer Meningitis behafteten Individuums agglutinierte bis zur Verdünnung 1:100 den aus demselben Individuum isolierten Meningococcus und bis zur Verdünnung 1:50 jeden anderen Meningococcus, während es den nicht aus Meningitisfällen isolierten Diplokokken gegenüber völlig unwirksam blieb.

4) Während das Serum eines durch einen gewöhnlichen Diplococcus immunisierten Kaninchens denselben bei einer Verdünnung 1:300 und darüber aufs entschiedenste agglutinierte, übte es auf die Meningokokken keine Wirkung aus.

5) Das antipneumonische Serum Pane erwies sich den Meningokokken gegenüber wirkungslos; dagegen agglutinierte es den Pneumococcus bis zur Verdünnung 1:1000.

Bevor ich meine Arbeit abschließe, erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Jatta meinen Dank auszudrücken für den Beistand und die Ratschläge, durch die er mich mit seiner in dieser Materie bekannten Kompetenz reichlich unterstützt hat.

Rom, Januar 1905.

#### Literatur.

- 1) Lewkowicz, Xaver, Ueber die Aetiologie der Gehirnhautentzündungen und die diagnostische Bedeutung der Lumbalpunktion. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LV. 1902. Heft 3.)
- 2) Sorgente, P., Ricerche cliniche e sperimentali sopra un caso di meningite cerebrospinale in un bambino di 40 giorni. Contributo alla biologia del meningococco. (IV. Congresso pediatrico italiano. Policlinico. Vol. VIII. M. 1902.)
- 3) Jäger, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. p. 225—242.
- 4) Lepierre, Subsidio para o estudo do meningococco. Virulencia, toxina, immunisação sôro antimeningococcico. (Separata do Movimento medico. Coimbra 1902.)
- 5) Weichselbaum, Kolle-Wassermanns Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. 1903.
- 6) Weyl, Beitrag zur Kenntnis des Meningococcus intracellularis. (Jahrb. f. Kinderheilk. 1905.)

Nachdruck verboten.

## Zur Biologie der Typhus-Coligruppe.

[Aus dem kgl. Operationskurs für Militärärzte, München.]

Von Dr. Ernst Krencker.

Die vorliegende Arbeit, welche auf Veranlassung von Herrn Oberstabsarzt Prof. Dr. Dieudonné entstanden ist, soll eine tabellarische Uebersicht der in neuerer Zeit zur Unterscheidung angegebenen biologischen und chemischen Eigenschaften der zur Typhus-Coli-Gruppe zu rechnenden Bakterienarten geben. Untersucht wurden *B. coli*, verschiedene Typhusstämme, *B. paratyphi* A und B, *B. dysenteriae* Shiga, *B. dysenteriae* Kruse, *B. faecalis* alcaligenes, *B. typhi* murium, *B. suipestifer*, ein von Kayser aus dem Straßburger Wasserleitungs-



wasser gezüchtetes *B. paracoli anindolicum* und eine Anzahl von Fleischvergiftungsbacillen. Diese Stämme stammten zum Teil aus dem Operationskurs selbst, zum Teil wurden sie uns von den bakteriologischen Instituten zu München und Straßburg, sowie vom Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt in liebenswürdigster Weise überlassen.

Geprüft wurde: das Wachstum auf dem Dieudonné-Barsiekowschen Nährboden, nebst den von Klopstock angegebenen Modifikationen und den Serumnährböden<sup>1)</sup>, ferner auf Conradi-Drigalski- und Endo-Platten, wobei wir, von dem Standpunkte ausgehend, möglichst übersichtlich zu werden, kleine Unterscheidungsmerkmale, die sich erst nach Tagen auf den Platten zeigten und sich nicht immer als konstant erwiesen, nicht näher anführten; des weiteren das Wachstum in muskeltuckerfreier Laktosebouillon und die Proteinochromreaktion<sup>2)</sup>.

Von sonstigen Unterscheidungsmerkmalen führen wir außer den bekannten noch der Vollständigkeit halber das Wachstum auf Kashida-Agar und der Fitzgerald-Dreyerschen Nährlösung an, soweit wir dasselbe der soeben erschienenen Arbeit über gattungsspezifische Immunitätsreaktionen von Dr. Zupnik entnehmen können.

Das Resultat der Versuche ist aus folgender Tabelle leicht ersichtlich. Es zeigt sich, daß wir gerade in dem Bestreben, durch Prüfung des Wachstums auf verschiedenen Nährböden, durch neue Reaktionen etc. tiefere Unterscheidungsmerkmale zu finden und so die einzelnen Arten strenger voneinander zu trennen, zu dem entgegengesetzten Resultate gelangt sind. Nach der Tabelle können wir im ganzen 5 Gruppen unterscheiden:

- 1) *B. Coli*-Gruppe; umfassend *B. coli*, *B. Grünthal* und zur nächsten Gruppe überleitend *B. paracoli*.
- 2) Die Gruppe der Fleischvergiftungsbacillen mit *B. typhi murium*, *B. suipestifer* und die beiden *B. paratyphi A* und *B* überleitend zu
- 3) *B. typhi*.
- 4) *B. dysenteriae Shiga* und *B. dysenteriae Kruse*.
- 5) *B. faecale alcaligenes*.

Unter den verschiedenen Typhusstämmen fanden sich auch bezüglich der Säurebildung und Gerinnung im Nutrose-Traubenzuckernährboden kleine Unterschiede, indem nach 1—3 Tagen, aber auch erst nach Wochen, Säurebildung und Gerinnung eintrat, eine Tatsache, die Zupnik in seiner oben erwähnten Arbeit wohl mit Unrecht veranlaßt hat, den Nährboden nicht für artfest zu halten und so bei seinen Versuchen auszuschalten.

In dem von Kolle und Wassermann herausgegebenen Handbuch der pathogenen Mikroorganismen finden wir die zur Typhus-Coli-Gruppe gehörigen *B. suipestifer* und *B. typhi murium* und ebenso die Paratyphen von der von Van Ermengem zusammengefaßten Enteritisgruppe getrennt. In neuerer Zeit haben andere Autoren besonders auf Grund von Agglutinationsprüfungen und pathologisch-anatomischen Vergleichen auch diese Arten mit den Enteritisarten zu größeren und kleineren Gruppen zusammengefaßt.

So bildet Trautmann die *Species paratyphosus* mit 5 Unterarten (später 4), zu dem er die Fleischvergiftungsbacillen und die Paratyphen rechnet.

1) 10 Proz. Serum, 1 Proz. Trauben- resp. Milchzucker, Aq. dest. ad 100°.  
2) Beim Schütteln mit Amylalkohol geht die Farbe in denselben über.

	Be- weglich- keit	Gelatineplatte, Oberflächen- kolonien	Bouillon	Milch	Kartoffel	Traubenzuckeragar	Neutral- rotagar
<i>B. coli</i>	gering	irisierende Kol. mit blattartig gewelltem Rand	diffuse Trübung	Gerinnung	dicker gelber oder brauner Belag	Gas	Entfärb., Fluoreszenz, Gas
<i>B. Grüntal</i>	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.
<i>B. paracoli</i>	in jungen Kult.lebh.	do.	do.	do. 1)	do.	do.	do.
<i>B. breslaviensis Kaensche</i>	lebhaft	wie <i>B. typhi</i>	Trübung mit später. Häutchenbildung	keine Gerinn. Milch wird allmählich durchschein. u. alkalisch	feuchter Belag	do.	do.
<i>B. bremensis febris gastricae</i>	do.	wie <i>B. enteritidis</i>	do.	do.	do.	do.	do.
<i>B. enteritidis Gärtner</i>	do.	fast farblos, grobe Körnung der Kolonien	do.	do.	brauner Belag	do.	do.
<i>B. friedebergens.</i>	gering	runde, leicht schleimige gelbl. Kolonien	do.	do.	leicht gelblich. Belag, der braun wird	do.	do.
<i>B. Gaustad</i>	lebhaft	wie <i>B. coli</i>	do.	do.	feuchter Belag	do.	do.
<i>B. morbificans bovis</i>	do.	stark ausgebreit. Kolonien, zarter peripherer Abschnitt grob gekörnt	do.	do.	feuchter, später gelblich. Belag	do.	do.
<i>B. morseelensis</i>	do.	farblose Randpartie, feingekörnt und etwas gestreift	do.	do.	feuchter, später brauner Belag	do.	do.
<i>B. typhi murium</i>	do.	starke Körnung, zarte Fältelung der Kolonien	diffuse Trübung	do.	weißer, dicker Belag	do.	do.
<i>B. suipestifer</i>	do.	flache, rundliche rein weiße Kol., im durchschein. Licht opaleszier. blauweiß	do.	do.	Schmutzig-graugelber, feuchtglänz. Belag	do.	do.
<i>B. paratyphi B 2)</i>	do.	weißliche, dicke, runde Kolonien	do.	do.	dicker graubrauner Belag	do.	do.

1) Nach Kayser gerinnt die Milch nicht.

2) Wachstum üppiger als *B. paratyphi A*.

Lackmus- molke	Nutrose + Trauben- zucker	Nutrose + Milchzucker	Nutrose + Trauben- zucker + Milchzucker	Serum + Trauben- zucker	Serum + Milchzucker	Serum + Trauben- zucker + Milchzucker	Muskelzucker = freie Laktosebouillon	Indolreaktion	Proteinochromreaktion	Conradi-Drigalski- Platten	Endo- Platten	Kashida-Agar	Fitzgerald-Dreyersche Nährlösung
sauer	Säure, Gerinnung, 1. Tag	Säure, Gerinnung	Säure, Gerinnung, Gas	Gerinnung	Gerinnung	Gerinnung, Gas	Gas 1. Tag	pos.	neg.	rote Kolon., Nährb.- gerötet	strahlend rote Kol., Nähr- boden rot	rot	rot
do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	Gas 1. Tag	do.	do.	do.	do.	—	—
do.	do.	Säure	do.	do.	do.	do.	Gas 1. Tag	neg.	pos.	do.	do.	—	—
anfangs sauer, später alkalisch	do.	unver- ändert	do.	do.	unver- ändert	do.	Gas 1. Tag	do.	do.	blaue Kolon.	farblose Kolonieen	blau	gelb
do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	kein Gas	do.	do.	do.	do.	—	—
do. <sup>1)</sup>	do.	do.	do.	do.	do.	do.	Gas 1. Tag	do.	do.	do.	do.	blau	gelb
do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	Gas 2. Tag	do.	do.	do.	do.	—	—
do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	Gas 3. Tag	do.	do.	do.	do.	blau	gelb
do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	Gas 2. Tag	do. <sup>2)</sup>	do.	do.	do.	do.	do.
do. <sup>3)</sup>	do.	do.	do.	do.	do.	do.	kein Gas	do.	do.	do.	do.	do.	do.
alkalisch, trüb	do.	do.	do.	do.	do.	do.	Gas 2. Tag	do.	do.	do.	do.	do.	do.
anfangs sauer, später alkalisch	do.	do.	do.	do.	do.	do.	Gas 1. Tag	do.	do.	do.	do.	do.	do.
klar, sauer von der 2. Woche an alkal.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	Gas 1. Tag	do.	do.	do.	do.	do.	do.

1) Wird mitunter entfärbt.

2) Nach Basenau positiv.

3) Wird mitunter entfärbt.

Erste Abt. Orig. Bd. XXXIX.

Heft 1.

2

	Be- weglich- keit	Gelatineplatte, Oberflächen- kolonien	Bouillon	Milch	Kartoffel	Traubenzuckeragar	Neutralrot- agar
<i>B. paratyphi</i> A	lebhaft	farblose, runde Kolonien ohne Furchung	diffuse Trübung	keine Gerinn. geringe Säurebildung	zarter, feiner, kaum sichtbar. Belag	Gas	Entfärbung, Fluoreszenz, Gas
<i>B. typhi</i>	do.	zarte, gelappte, weinblattförmige durchscheinende Kolonien ohne Furchung	do.	do.	ausgebreiteter weißer unsicht- barer Belag	kein Gas	unverändert
<i>B. dysenteriae</i> Stamm Shiga und Kruse	unbe- weglich	weinblattähn- l. Ausbreitung, leichte Körnung der Kolonien	do.	keine Gerinnung	oft kaum sicht- barer, oft brauner Belag	do.	do.
<i>B. faecale alcal.</i>	lebhaft	wie <i>B. typhi</i>	do.	do.	dicker brauner Belag	do.	do.

Schottmüller identifiziert *B. paratyphi* B mit *B. enteritidis* Gärtner (Agglutination, hitzebeständige Stoffe und Pathogenität).

Bonhoff hält *B. enteritidis* Gärtner, *B. paratyphi* B und *B. typhi murium* biologisch, agglutinatorisch und bakteriolytisch gleich.

Smith bildete den Typus der Hogcholera, enthaltend Mäusetyphus, *B. enteritidis* und *B. suipestifer*.

Nach Smidt sind *B. typhi murium*, *B. suipestifer* und *B. paratyphi* B durch Agglutination und kulturell gleich.

In allerneuer Zeit hat Zupnik durch umfassende Versuche speziell auch mit der Typhus-Coli-Gruppe die Grundlage für ein neues natürliches System der Bakterien zu bringen versucht, indem er auf Grund biologischer und chemischer Unterscheidungsmerkmale, sowie pathologisch-anatomischer Vergleiche und mit Hilfe der Agglutination, die verschiedenen Arten zu Gattungen und diese wieder zu Familien zusammenfaßt, die durch Grenzarten mehr oder weniger eng miteinander verbunden sind. Für die Typhus-Coli-Gruppe stellt er speziell 3 Gattungen auf: 1) Coli-Gattung durch Grenzarten mit 2) Typhusgattung verbunden. Diese enthält *B. typhi*, *B. paratyphi* A und B, *B. suipestifer*, *B. typhi murium* und verschiedene Fleischvergiftungsbacillen, und 3) die Shiga-Krusesche Gattung, die Flexnerschen Manilabacillen und *B. dysenteriae* Shiga und Kruse, sowie den *B. faecalis alcaligenes* enthaltend.

#### Literatur.

Neufeld, F., Typhus. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen, herausg. v. Kolle u. Wassermann.)

Lentz, O., Dysenterie. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen, herausg. v. Kolle u. Wassermann.)

Escherich, Th. und Pfandler, M., *B. coli commune*. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen, herausg. v. Kolle u. Wassermann.)

Lackmus- molke	Nutrose- + Trauben- zucker	Nutrose + Milchzucker	Nutrose + Trauben- zucker + Milchzucker	Serum + Trauben- zucker	Serum + Milchzucker	Serum + Trauben- zucker + Milchzucker	Muskelzucker = freie Laktosebouillon	Indolreaktion	Proteinchromreaktion	Conradi-Drigalski- Platten	Endo- Platten	Kashida-Agar	Fitzgerald-Dreyersche Nährlösung
klar, sauer	Säure, Geringg. 3—10 Tge	unver- ändert	Säure, Gerin- nung, Gas	Gerin- nung	unver- ändert	Gerin- nung, Gas	kein Gas	neg.	pos.	blaue Kolon.	farblose Kolonieen	blau	gelb
klar, schwach sauer	Säure, Geringg. 3—21 Tge	do.	Säure, Gerin- nung	do.	do.	Gerin- nung	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.
klar, sauer	Säure <sup>1)</sup>	do.	Säure <sup>1)</sup>	do.	do.	do.	do.	do.	neg. <sup>2)</sup>	do.	do.	do.	do.
alkalisch	unver- ändert	do.	unver- ändert	unver- ändert	do.	unver- ändert	do.	do.	pos.	do.	do.	—	—

Van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen, herausg. v. Kolle u. Wassermann.)

Joest, E., Schweineseuche und Schweinepest. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen, herausg. v. Kolle u. Wassermann.)

Bongert, J., Der Mäusetyphus. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen, herausg. v. Kolle u. Wassermann.)

Fischer, Bernhard, Zur Aetiologie der sogenannten Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXXIX.)

Trautmann, H., Der Bacillus der Düsseldorfer Fleischvergiftung. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XLV.)

— —, Wie verhalten sich die klinischen Affektionen Fleischvergiftung und Paratyphus zueinander? (Ibid. Bd. XLVI.)

Kurth, Ueber eine typhusähnliche durch einen bisher nicht beschriebenen Bacillus (*B. bremensis febris gastricae*) bedingte Erkrankung. (Deutsche med. Wochenschr. 1901.)

Smidt, Zur Charakterisierung der Hochcholera-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII.)

Steinhaus, F., Ueber den Paratyphus. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1905.)

Clemens, P., Ueber den Paratyphus. [Sammelref.] (Deutsche med. Wochenschr. 1904.)

Barsiekow, Max, Beiträge zur Differentialdiagnose des Typhusbacillus. (Wien. klin. Rundschau. 1901.)

Klopstock, M., Beitrag zur Differenzierung von Typhus, Coli- und Ruhrbacillus. (Berl. klin. Wochenschr. 1902.)

Segin, Ueber die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 12 u. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV.)

Erdmann u. Winternitz, Ueber die Proteinchromreaktion, eine klinisch und bakteriologisch bisher nicht verwertete Farbenreaktion. (Münch. med. Wochenschr. 1903.)

Zupnik, Ueber gattungsspezifische Immunitätsreaktion. (Ztschr. f. Hyg. etc. Bd. XLIX.)

Kayser, Die Flora der Straßburger Wasserleitung. [Inaug.-Diss.] Straßburg. 1900.

1) Nach Segin Gerinnung.

2) Nach Zupnik bei einigen Stämmen nach Wochen positiv.

*Nachdruck verboten.*

## The macroscopic identification of colonies of the pneumococcus.

By **Leo Buerger, M. D.**,

Assistant in the Pathological Laboratory, Mt. Sinai Hospital, New York.

The colonies of the pneumococcus when cultivated on the surface of certain solid media often present characteristics which are distinctive and diagnostic. These are made apparent when serum-agar or glucose-serum-agar is employed for the cultures.

The method of making up these media may be briefly described as follows. Neutral agar (to phenolphthalein) prepared preferably from meat infusion, and containing 1,5 to 2 per cent peptone, and 2,5 per cent agar, is melted down in large tubes. When it has cooled sufficiently (i. e. below the coagulating point of the serum to be employed), one third its volume of rich sterile ascitic fluid is added, the two are mixed and poured either into tubes or plates. Similarly, for the glucose-serum-agar, 0,5 per cent to 2 per cent glucose agar is used.

Although the appearances to be described are to be found on both of these media, that containing sugar is as a rule to be preferred. After eighteen to twenty hours, surface colonies of the pneumococcus show a circular disc-like flattened growth with a regular contour. When viewed from above the surface appears glassy with often a slightly depressed center. When looked at from the side, or by transmitted light they appear as distinct milky rings enclosing a transparent center. This form may be designated as the "ring type" of colony.

The ring colonies may vary considerably in their size as also in the finer details of their constitution. Thus the presence of rings can be detected in colonies which are scarcely larger than the period employed in ordinary newspaper type. Very large forms are occasionally met with after 48 hours cultivation. The largest I have seen measured 1,5 to 2 mm in diameter.

Often the characteristic appearance is not observed until 48 hours have elapsed. Such colonies are slightly convex at the end of 24 hours; if the plates be then allowed to stand at room temperature or be incubated for twenty-four hours longer, the typical form may develop.

The distinctness of the ring or raised periphery, depends upon the opacity of the growth itself and upon the degree of umbilication of the center. Thus the glassy almost transparent looking colonies develop a fairly good contrast between periphery and center. After 24 to 48 hours their centers are practically transparent, and their peripheries although not very markedly raised, appear as plain milky rings by transmitted light. When such colonies get old (72 hours or more) the opacity of their centers increases and the ring picture is less marked. The more opaque, denser growing, and whiter colonies have a decidedly elevated periphery. Their centers may, however, show more growth and be less transparent than those just described. But even this type often presents easily recognizable ring forms. The pneumococcus does not always present this appearance on the surface of the media recommended. At times attenuated forms grow in colonies too small for the recognition of distinct rings. Again, the convex type, and the large mucoid colony is to be found.

When recently isolated from human beings or animals on favorable culture media, many strains, however, show this peculiarity. The persistence with which the ring-form clings to pneumococci which have been transplanted for many generations, varies considerably. I have found it four months after the isolation of the organism.

As far as I have been able to determine it is diagnostic of the pneumococcus. It must be differentiated from two other types of colonies; first from colonies with a prominent periphery (ring) occasionally met with in the case of streptococci, and secondly from those which show rings only by transmitted artificial light. The former, if carefully examined, will be seen to possess a distinct nucleus. This is never found in the characteristic pneumococcus form. The latter is not to be mistaken if it be studied by reflected light. Its center is definitely raised above the periphery. When held up against an artificial source of light, such as an incandescent bulb, it appears to have a bluish peripheral ring. Such colonies belong to certain streptococci.

Finally it may be noted that in most instances this peculiar "ring-type" of colony is an expression of fairly luxuriant growth of the organism. In it the typical lanceolate encapsulated forms can readily be demonstrated.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber einen eigenartigen Fall von Blutfleckenkrankheit.

[Aus dem Landkrankenhaus zu Kassel.]

Von Dr. W. Rosenblath.

Unsere Kenntnisse der mit hämorrhagischer Diathese einhergehenden Krankheiten haben in der jüngsten Zeit eine erfreuliche Bereicherung erfahren. Wir haben erkannt, daß der Begriff Purpura haemorrhagica klinisch wie ätiologisch eine Vielheit darstellt, und wir haben gelernt, aus dieser Mannigfaltigkeit manches zu sondern. Vor allem vermögen wir jetzt die akute Leukämie leicht von der Purpura zu trennen, und ebenso gestattet uns die bakteriologische Blutuntersuchung rasch jene Formen der Bakteriämie zu erkennen, bei denen neben der Sepsis auch Haut- und Schleimhautblutungen in die Erscheinung treten. Sieht man von diesen beiden Gruppen und anderen leicht zu scheidenden, wie etwa dem Skorbut, ab, so bleibt immer noch unter dem Begriffe Morbus maculosus eine Vielheit von Fällen übrig, deren Genese dunkel und deren Zusammengehörigkeit fraglich ist. Genauer untersuchte Fälle dieser Art liegen auch nicht so zahlreich vor, daß sich die Mitteilung eines einzelnen Falles erübrigte.

Die Krankengeschichte desselben ist einfach. Ein junger Mann von 23 Jahren, auf den keine erkennbare Schädlichkeit eingewirkt hatte, der aus gesunder Familie stammte, erkrankte 4 Tage vor der Aufnahme plötzlich mit Nasenbluten, Kopfweh und Schwindel. In den nächsten Tagen kamen einige Ohnmachtsanfälle vor, bei deren einem er ganz bewußtlos wurde. Als dann noch Blutflecken in der Haut auftraten, suchte Pat. das Krankenhaus auf. Füge ich dem Gesagten hinzu, daß Pat. bei der Aufnahme am 25. Okt. 1904 blaß aussah, daß die Haut des ganzen Körpers eine sehr große Zahl von Blutflecken von etwa Linsengröße trug, daß ähnliche Flecken auf der Schleimhaut der Lippen und Wangen sicht-

bar waren, so habe ich alles wesentliche erwähnt, was die Untersuchung zunächst ergab.

Was lag nun vor? Eine skorbutische Erkrankung nicht. Das Zahnfleisch des Pat. war ganz unversehrt und ein ähnliches Leiden war in dem Dorfe, wo der Kranke lebte und arbeitete, nicht beobachtet. Eine akute Leukämie kam nicht in Frage: das Bluttrockenpräparat wies eine ganz ausgesprochene Leukopenie auf. Die Zählung ergab am 28. Okt.  $2\frac{1}{2}$  Mill. rote und nur 2500 weiße Blutkörperchen.

Nun konnte man an eine septische Erkrankung denken. Eine Endocarditis war auszuschließen. Der Puls war regelmäßig, das Herz bis auf ein offenbar anämisches Geräusch ohne Veränderung, der Augenhintergrund frei. Nichts von Gelenkaffektionen, Frösten, Schweißen und von Milztumor.

Trotzdem konnte eine Bakteriämie bestehen. Dieser Gedanke lag mir um so näher, als ich in den letzten Jahren wiederholt hier Diplokokkeninfektionen als Ursache einer hämorrhagischen Diathese gesehen hatte. Indessen blieben Blutkulturen, die ich mit 3 ccm Blut am 29. Okt. auf Agar angelegt hatte, völlig steril. Ich wiederholte die Untersuchung am 1. Nov., indem ich nunmehr 10 ccm Blut auf 8 Agarplatten verteilte. Als nach einigen Tagen nur 3 der Platten je einen Keim zeigten, von denen 2 als Streptokokken, einer als Stäbchenkolonie sich erwies, mußte ich das als Verunreinigung deuten. Es sei aber gleich hier erwähnt, daß diese Auffassung für die Stäbchen wenigstens nicht richtig war. Die weitere Untersuchung ergab vielmehr, daß diese identisch mit den nach dem Tode aus den Organen gezüchteten Spaltpilzen waren.

Konnte somit eine Infektionskrankheit nicht diagnostiziert werden, so war allenfalls noch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß eine akute Pseudoleukämie vorlag. Aber sieht man auch davon ab, daß dieser Begriff noch keineswegs allgemein anerkannt ist, so ließen sich auch im gegenwärtigen Falle keine einigermaßen charakteristischen Zeichen aufweisen. Bei wiederholtem Nachsuchen wurden zwar einige erbsengroße Drüsen in beiden Achseln gefunden, aber ein deutliches Wachstum derselben war nicht erkennbar. Ebenso fehlte Milzvergrößerung. Das Blutbild hatte zwar eins der von Ehrlich geforderten Merkmale der Pseudoleukämie, es bestand nämlich eine unverkennbare relative Vermehrung der Lymphocyten gegenüber den polymorphkernigen Leukocyten, aber von einer absoluten Vermehrung der Lymphocyten konnte bei der hochgradigen Leukopenie doch nicht die Rede sein.

Somit war es nicht möglich, einen tieferen Einblick in das Wesen des vorliegenden Prozesses zu gewinnen.

Ueber den weiteren Verlauf der Krankheit habe ich nur hinzuzufügen, daß vom 27. Okt. an Fieber bestand, das staffelförmig ansteigend schließlich  $41^{\circ}$  C erreichte. Sehr heftiges Nasenbluten machte mehrfach die Tamponade nötig. Am 30. Okt. wurde der Urin stark bluthaltig. In den letzten Tagen bestand Benommenheit, und am 2. Nov. starb der Patient, nachdem er also im ganzen nur 13 Tage krank gewesen war.

Bei der Sektion, die wenige Stunden nach dem Tode gemacht wurde, fand sich in der rechten Pleurahöhle etwas blutige Flüssigkeit, in den Pleurablättern ziemlich zahlreiche kleine Blutungen. Vereinzelt Blutungen in dem Peri- und Endokard. Das Herz enthält dünnflüssiges Blut. Herzfleisch, Klappen und Gefäße ließen keine Veränderungen erkennen. Die linke Lunge ist im Unterlappen schwer, die Pleura hier blaurot verfärbt. Auf dem Durchschnitt ist die linke Lunge stark ödematös, enthält im obe-



ren Teile kleinere, im unteren größere blutig infiltrierte Partien und zwischen den letzteren kleine derbere graue, offenbar pneumonische Herdchen.

Die rechte Lunge zeigt ähnliche, aber weniger ausgedehnte Veränderungen. Die Milz ist kaum vergrößert, ziemlich derb, auf dem Durchschnitt gleichmäßig fleischrot mit kaum erkennbaren Follikeln. Die Schleimhaut des Magens enthält zahlreiche Blutungen, die des Darmes ist zum größten Teile unverändert. Nur im unteren Ileum hat dieselbe, anscheinend infolge Schwellung der Drüsensubstanz, ein reibeisenähnliches Aussehen. Die Drüsen des Mesenteriums sind bis bohngroß geschwollen, fühlen sich fest an und sehen auf dem Durchschnitt gleichmäßig blaßrot aus. In der Schleimhaut der Halsorgane, besonders der Zunge, flächenhafte Blutungen, die nicht bis in die Muskulatur eindringen. Die Drüsen des Zungengrundes mäßig geschwollen. Leber groß, der Durchschnitt trübe braunrot, mit gelblicher, feinfleckiger Sprenkelung. Die Nieren deutlich vergrößert, Kapsel leicht abziehbar, Rinde nicht verbreitert. Papillen hier und da gelblich gestreift. In beiden Nierenbecken blutige Coagula. Schleimhaut beider Nierenbecken blutig durchtränkt.

In der harten Hirnhaut einige kleine Hämorrhagieen. Das Knochenmark im unteren Teile des rechten Oberschenkels Fettmark, im oberen Teile himbeergeleeartig.

Weitere Auskunft gab die bakteriologische und mikroskopische Untersuchung der Organe. Schon am nächsten Tage waren auf 2 Platten, die mit Milz- und Lebergewebe bestrichen waren, sehr zahlreiche gleichartige Keime gewachsen. Sie wiesen sich aus als Stäbchen ohne Eigenbewegung, die alle gebräuchlichen Farbstoffe sehr leicht aufnehmen. Die Form ist wechselnd. Manche sind sehr kurz und liegen dann als Diplobacillen häufig hintereinander. Die meisten Formen ähneln sehr den Coli-Bacillen. Bildung von Scheinfäden kommt vor. Häufig sind die Stäbchen auch zu zweien parallel gelagert. Manche werden so kurz, daß sie von Kokken nicht zu unterscheiden sind, und wiederholt glaubte ich eine Verunreinigung der Kulturen mit solchen annehmen zu müssen. Jedesmal aber bewiesen dann angelegte Gelatineplatten die Reinheit der Kulturen.

Das Wachstum ist folgendes:

Agarstrich: Saftiger, leicht gelbgrüner Rasen.

Gelatineplatte: Kreisrunde, scharf begrenzte, gelbliche Kolonien, die, wenn sie die Oberfläche erreichen, sich noch rascher vergrößern. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Im Gelatinestich: An der Oberfläche nagelkopfförmlich, in der Tiefe ohne Besonderheit.

In Trauben- und Milchzuckerbouillon starke Gasentwicklung.

Lackmusagar wird rasch gerötet.

Milch wird binnen 1—2 Tagen zur Gerinnung gebracht.

Neutralrotagar nach Rotberger nimmt gelbgrüne Fluoreszenz an.

In Gelatine mit Ferrum tartaricum oxyd. versetzt wird kein Schwefel-eisen gebildet.

In Peptonwasser keine Indolbildung.

Die eine Stäbchenkolonie, welche wie erwähnt, während des Lebens aus dem Blute erhalten war, stand glücklicherweise noch zur Verfügung. Sie erwies sich als identisch mit den eben beschriebenen Formen. Es war somit sicher, daß diese Spaltpilze während des Lebens, wenn auch in geringen Mengen, im Blute vorhanden waren.

Von großem Interesse war nun weiterhin die histologische Unter-

suchung. Zunächst fanden sich in Milz und Leber so zahlreiche nekrotische Herde, daß ein jeder Schnitt von diesen Organen mehrere solcher Stellen erkennen läßt. Es handelt sich dabei um fast kreisrunde Herde von einer Größe, daß sie mit unbewaffnetem Auge gerade noch erkannt werden können. Sie schließen sich entweder an die Trabekeln oder auch an die kleinen Arterien an. Innerhalb dieser Herde haben die Gewebszellen jede Kernfärbung eingebüßt, die Zellen sind nicht mehr erkennbar. An ihrer Stelle findet sich eine homogene Masse, in der nur spärliche Wanderzellenkerne wahrnehmbar sind. Gegen die gesunde Umgebung setzt sich der Herd ziemlich scharf ab. Aber es fehlt jede Umgrenzung durch Leukocyten, wie man sie sonst in der Umgebung absterbenden Gewebes findet. Im Zentrum fast aller dieser Herde liegen nun große Mengen von kurzen Stäbchen, vereinzelt auch in den Randpartieen. Ferner sind fast alle kleineren Arterien, sowohl in der Nähe der Nekrosen, als auch sonst ohne räumliche Beziehung zu diesen, mehr oder minder hochgradig verändert. Die Gefäßwand erscheint gequollen, die Kerne manchmal vermehrt, in der Umgebung der letzteren finden sich Vakuolen. Weiter wird die Gefäßwand homogen und hyalin. Die Struktur wird un deutlich, nur blaß gefärbte Kerne sind in der Wand noch erkennbar. Die so veränderte Gefäßwand färbt sich mit Hämatoxylineosin blaßviolett, nach van Gieson blaßrot. Amyloidreaktion erhält man nicht. Das Lumen wird auf diese Weise oft stark verengt und hier und da durch Anlagerung kleiner Thromben noch mehr beschränkt. Das Endothel ist an vielen Stellen abgehoben, die Kerne sind oft deutlich vermehrt.

Im Bereiche der Nekrosen sterben die Gefäße mit ab. Am längsten erhält sich noch der Endothelschlauch, dessen Zellen hier und da noch eine zerstörte Arterienwand andeuten.

Weiter finden sich an vielen Stellen, aber fast nur innerhalb der Follikel, hyaline Schollen und Klumpen von recht beträchtlicher Größe. Ihre Entstehung läßt sich meist nicht feststellen, sicher aber ist ein Teil derselben aus den Trabekeln der Milz oder auch aus kleinen Arterien hervorgegangen, denn es gelang einigemale, den Zusammenhang der hyalinen Massen mit noch weniger veränderten Teilen solcher Gebilde festzustellen.

Hier und da sieht man auch außerhalb der Gefäße meist im Bereich der Follikel hyaline Massen in Form von Klumpen oder Balken.

Ebenso wie die Milz ist die Leber von zahllosen nekrotischen Herdchen durchsetzt. Sie sind von ähnlicher Beschaffenheit wie in der Milz. Die Kerne verschwinden, die Pfortaderkapillaren sind nicht mehr erkennbar, die Leberzellbalken verquellen miteinander zu einer homogenen Masse. Auch hier fehlt völlig ein demarkierender Leukocytenwall, und auch hier sind im Zentrum der Herde massenhaft Stäbchen nachweisbar. Dagegen fehlen hier die Gefäßveränderungen. Wohl aber enthalten die Kapillaren, besonders in der Umgebung solcher Herde, zahlreiche runde Gebilde, die sich mit Hämatoxylineosin blaßviolett färben, von verschiedener Größe, im Durchschnitt etwa so groß wie ein rotes Blutkörperchen sind. Sie ähneln den Gebilden, die man bei Nephritis in den Harnkanälchen findet.

Von Interesse sind wieder die Veränderungen des unteren Ileum. Was makroskopisch als Schwellung der solitären Drüsen erschien, zeigt sich mikroskopisch vornehmlich bedingt durch zahlreiche kleine nekrotische, verschorfte und erhabene Stellen der Schleimhaut. Etwa die Hälfte der Drüsenschicht ist in diese Nekrosen aufgegangen. Auch hier

fehlt in der Umgebung die leukocytaire Infiltration, oder sie ist gering. An manchen Stellen kleine Schleimhautblutungen. In den Nekrosen sind reichliche Haufen von Stäbchen erkennbar. Sie dringen von hier aus in die Drüsenlumina ein und liegen auch oft zwischen Epithel und der Membrana propria. Die Submucosa ist unverändert.

Die Mesenterialdrüsen tragen nur die Zeichen der zelligen Hyperplasie. Nekrosen und Bakterien sind nicht nachweisbar. Auch Schnitte durch das Knochenmark lassen, abgesehen von der Umwandlung des Fettmarkes in lymphoides, nichts besonderes erkennen. Ebenso zeigen Schnitte durch Nieren- und Magenwand keine anderen Veränderungen als die Blutungen. In der Niere finden sich nur vereinzelte Nekrosen. Die Lunge weist an den meisten Stellen ein blutiges Oedem, an anderen lobulär-pneumonische Herdchen auf. In vielen Alveolen finden sich Haufen von Stäbchen. Innerhalb der Blutgefäße wurden die Bakterien wiederholt gefunden, meist in den Venen von Leber, Milz und Niere.

War es somit möglich, daß die gefundenen Bakterien die Erreger der Krankheit waren, so konnte der Tierversuch weitere Aufklärung geben. Aber der Erfolg war nicht der erwartete. Am 8. Nov. spritzte ich 2 Kaninchen je  $\frac{1}{2}$  ccm einer eintägigen Bouillonkultur in die Ohrvene und einem dritten Kaninchen eine kleinere Quantität in die Bauchhöhle. Das letztere Tier blieb gesund, die beiden anderen wurden schwer krank, fraßen nicht mehr und lagen tagelang besonders an den Hinterbeinen gelähmt da. Nach etwa 14 Tagen fingen sie aber an, sich zu erholen und wurden ganz gesund.

Am 10. Dez. infizierte ich daher nochmals subkutan 2 weiße Mäuse, 2 Meerschweinchen und 2 Kaninchen. Alle Tiere überstanden die Infektion gut, nur eine Maus starb nach 2 Tagen. Die Organe boten makroskopisch keinen Befund, die Kulturen von Leber und Milz ließen aber massenhaft die verimpften Stäbchen aufgehen. In der Annahme, daß diese Kulturen vielleicht eine höhere Virulenz erhalten haben könnten, infizierte ich wieder 3 Kaninchen intravenös mit diesem Stamme. Die Tiere wurden nach wenigen Tagen schwer krank, bekamen ebenso wie die ersten Lähmungen, besonders der Hinterbeine. Während zwei sich wieder erholten, ging das dritte am 12. Tage ein. Bei der Sektion fand sich makroskopisch wieder nichts besonderes. Auf Agarplatten von Milz und Leber gingen mäßig zahlreich die verimpften Keime auf.

Die gefundenen Bakterien waren also wohl pathogen für Tiere, aber eine hämorrhagische Diathese ließ sich mit denselben nicht hervorrufen.

Die Literatur enthält eine Anzahl einschlägiger Beobachtungen, auch wenn man die älteren bei Seite läßt. Zunächst seziierten Tizzoni und Giovannini<sup>1)</sup> einen Fall von Purpura haemorrhagica, der sich im Anschluß an Impetigo entwickelt hatte. In Leber und Niere fand sich Koagulationsnekrose und aus Blut und Leber ließ sich ein Stäbchen züchten, das nach der Beschreibung morphologisch dem meinigen gleicht, aber keine Säure produziert und nach Gram entfärbt wird. Hunde, Kaninchen und Meerschweinchen erkrankten nach subkutaner Impfung mit Fieber, Albuminurie und hämorrhagischer Diathese, und mikroskopisch finden sich herdförmige Koagulationsnekrose in der Leber mit kleinzelliger Infiltration und Koagulationsnekrosen in dem Nierenlabyrinth.

Auch Kolb<sup>2)</sup> hatte Gelegenheit, aus den Organen von 3 an sehr

1) Ziegler, Beitr. z. pathol. Anat. Bd. VI.

2) Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. VII.

akut verlaufender Purpura gestorbenen Personen einen Spaltpilz zu isolieren, der dem vorigen ähnlich ist. In zahlreichen Tierversuchen erwiesen sich namentlich Kaninchen als empfänglich für die Infektion, die nach intraperitonealer Impfung unter den Erscheinungen einer Purpura erkranken, und deren Organe, Blut, Milz, Leber den Spaltpilz in großen Mengen enthalten.

Aehnliche Erfahrungen hat auch Babes<sup>1)</sup> gemacht. Er bespricht in seiner Arbeit die Resultate seiner Vorgänger und besonders die der beiden letzterwähnten Autoren, macht auf die geringen Unterschiede zwischen den beschriebenen Bakterien aufmerksam und zieht den Schluß, daß es eine zusammengehörige Gruppe von Bakterien gibt, die die hämorrhagische Sepsis des Menschen erzeugen und eine verwandte hämorrhagische Sepsis der Tiere. Allen diesen Bakterien soll die gemeinsame Eigenschaft zukommen, Leber- und Nierenzellen zur Nekrose zu bringen, wie in dem Falle Tizzoni-Giovannini, die hyaline Entartung der Gefäßwandung zu erzeugen, was er selbst beobachtet hat.

Eine weitere Arbeit von Carriere<sup>2)</sup> war mir nur im Referate zugänglich (Centralbl. f. Path. 1902). Auch er scheint einen verwandten Spaltpilz gefunden zu haben, den er aus dem Blute eines Purpura-Kranken züchtete und der sich durch Vielgestaltigkeit auszeichnete.

Meine Beobachtung würde sich zunächst an jene älteren anlehnen, da ja die hyaline Entartung der Gefäße sowohl als die Nekrose von Drüsenparenchym in ausgesprochener Weise vorhanden war und das beschriebene Stäbchen in die Gruppe der von früheren Beobachtern gefundenen zu gehören scheint. Form und Lagerung, sowie die von Tizzoni auch erwähnten kokkenähnlichen Bildungen stimmen gut zusammen, und wenn der von mir untersuchte Spaltpilz die Gramsche Färbung annimmt, der Tizzonische sie aber ablehnt, so stehen als Uebergänge zwischen diesen Extremen doch die von Kolb und Babes beschriebenen Bakterien, welche schwach Gram-positiv waren. Auch passen die kulturellen Eigenschaften, soweit sich das im Vergleich mit älteren Beobachtungen feststellen läßt, eine Zusammengehörigkeit annehmen. Nicht zu übersehen ist freilich, daß es mir nicht gelang, im Tierversuch eine hämorrhagische Diathese zu erzeugen. Es wäre denkbar, daß ich in dieser Beziehung mehr Erfolg gehabt hätte, wenn ich den Tierversuch direkt mit den frischen Kulturen und nicht erst nach mehreren Umimpfungen begonnen hätte. Der Mißerfolg könnte aber auch an meinem Tiermaterial gelegen haben. Auch bei meinen Vorgängern weisen die Resultate des Tierversuches einige nicht unerhebliche Unterschiede auf. So konnte Kolb Kaninchen intraperitoneal infizieren, Tizzoni nicht. Dieser vermochte Mäuse überhaupt nicht zu infizieren, während sie bei Kolb nach einigen Tagen septisch zu Grunde gingen und Hämorrhagien, wenn vorhanden, sich auf die Lymphdrüsen beschränkten.

Denkbar wäre es also wohl, daß die gefundenen Bakterien die ganze Krankheit hervorgerufen hätten. Als Eintrittspforte würde man dann den Darm betrachten müssen.

Die Schörfe und Nekrosen, welche im Ileum gefunden wurden, können wohl die ersten Veränderungen, der Beginn der Krankheit selbst gewesen sein. Dafür spricht zunächst, daß diese Nekrosen weitaus die

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IX. 1891.

2) Arch. de méd. expér. T. XIII. 1901. No. 2.

größten waren, die überhaupt gefunden wurden, und die Annahme liegt nahe, daß die Bakterien zunächst auf der Darmschleimhaut sich ansiedelten dann in die Ausführungsgänge der Lieberkühnschen Drüsen gelangten, das Epithel durchsetzten und zum Absterben brachten und sich damit die Pforten zum Eintritt in das Gefäßsystem eröffneten. In der Anamnese hätte dieser Vorgang freilich keine Spuren hinterlassen, eine Angabe über initiale Darmstörungen hat der Pat. nicht gemacht. Aber es ist auch ganz wohl denkbar, daß diese Nekrosen, so folgenschwer ihr Auftreten für den ganzen Organismus werden sollte, die Funktion des Darmes doch gar nicht wesentlich gestört haben. Nahmen sie doch auch in ihrer höchsten Entwicklung, wie sie bei der Sektion gefunden wurde, nur einen verhältnismäßig kleinen Teil der Schleimhaut des unteren Ileums ein.

Dazu kommt nun weiter, daß der von mir gefundene Spaltpilz offenbar der Coli-Gruppe sehr nahe steht. Form und Wachstum, sowie die Fähigkeit, Säure zu bilden, Trauben- und Milchzucker zu zersetzen, Milch zur Gerinnung zu bringen, Neutralrot zu verändern, weisen ihn dieser zu, und er würde überhaupt von ihr nicht zu sondern sein, wenn er nicht Gram-positiv wäre und der Fähigkeit der Indolbildung ermangelte. Man wird so förmlich zu der Annahme gedrängt, daß entweder ein an sich harmloser Darmparasit, der zur Coli-Gruppe gehört, aus unbekanntem Ursachen virulent wurde, oder auch, daß ein solcher Spaltpilz etwa mit infizierten Nahrungsmitteln in den Darm gelangte, und schon von Haus aus mit pathogenen Eigenschaften ausgestattet, alsbald seine zerstörenden Wirkungen entfaltete.

Auf den Zusammenhang von Visceralerkrankungen und Purpura haben schon Oddo und Olmer<sup>1)</sup> aufmerksam gemacht und hervorgehoben, daß es eine Gruppe von Purpurafällen gibt, bei denen eine Erkrankung der Lungen, der Tonsillen oder des Darmes die Eintrittspforte der hämorrhagischen Infektion bildet. Eine Bestätigung dieser Auffassung würde in der Beobachtung von Gausse<sup>2)</sup> liegen, wenn sie minder vielsdeutig wäre. Hier soll sich an eine Dysenterie Purpura angeschlossen haben.

Man hätte sich dann also vorzustellen, daß aus dem Ileum Bakterien in die Schleimhaut eingedrungen wären und umschriebene Nekrosen veranlaßt hätten, daß sie von da die Mesenterialdrüsen passierten, ohne hier andere Veränderungen als Hyperplasie anzuregen, zu starker Vermehrung aber in Leber und Milz gekommen wären. In der Leber wäre es dann zur Ausbildung sehr zahlreicher umschriebener Nekrosen gekommen und die Trümmer der Leberzellen wären massenhaft in den Pfortaderkreislauf geschwemmt worden. Die Milz hätte ebenfalls mit der Bildung umschriebener Nekrosen und hyaliner Schollen in den Follikeln und hyaliner Degeneration der Gefäße reagiert. Mit dem Blutstrom wären die Bakterien schließlich in das Labyrinth der Nieren gelangt, wo die Nekrosen noch recht klein sind, und auch in die Lungenalveolen, wo es zu degenerativen Veränderungen noch nicht gekommen ist. Die hämorrhagische Diathese würde man auch bei dieser Auffassung nicht als unmittelbare Folge der Ansiedlung der Bakterien zu betrachten haben. Es wäre wohl zu beachten, daß da, wo sich Nekrosen finden, Blutungen entweder ganz fehlen, wie in Leber und Niere, oder daß sie ganz unbedeutend sind, wie in Milz und Darm. Umgekehrt wurden da, wo die Blutungen ausgedehnt waren, in der Magen- und Nierenbeckenschleimhaut keine Nekrosen ge-

1) Zitiert nach Virchow-Hirsch. 1900. p. 66.

2) Zitiert nach Virchow-Hirsch. 1896. p. 41.

funden. Trotzdem wäre aber ein indirekter Zusammenhang zwischen Bakterieninvasion und Purpura wohl denkbar.

Nun stehen aber der ganzen eben skizzierten Auffassung doch mehrere Bedenken gegenüber. Zunächst ist es fraglich, ob die mitgeteilte Beobachtung solchen Fällen, wie denen von Babes, Tizzoni und Kolb an die Seite gestellt werden dürfen. Unter Purpura im engeren Sinne wollen wir doch jedenfalls ein primäres Leiden verstehen, nicht eine hämorrhagische Sepsis, die sich an eine andere mit ulcerösen Prozessen verlaufende Erkrankung anschließt. Bei Tizzonis Fällen ging aber Impetigo voraus, deren Pusteln der Autor ausdrücklich als Eintrittspforte für die weitere Infektion bezeichnet. In einem der Fälle von Babes ging eine Tonsillitis voraus. So wichtig derartige genau beobachtete Erkrankungen sein mögen, sie illustrieren doch zunächst nur die hämorrhagische Sepsis, die durch ganz verschiedene Spaltpilze hervorgerufen werden kann, und deren Zugehörigkeit zu der Purpura im engeren Sinne doch noch recht zweifelhaft, und jedenfalls erst noch zu beweisen sein wird. In meiner Beobachtung dagegen handelte es sich um ein völlig gesundes Individuum, das primär an Purpura erkrankte. Nun ist freilich zuzugeben, daß Kolbs Fälle ebenfalls primäre Purpuraerkrankungen gewesen sind. Allein diese haben wieder das Eigenartige, daß sie zum Teil außerordentlich stürmisch verliefen und schon in 2—4 Tagen zum Tode führten, was für die gewöhnliche Purpura jedenfalls ungewöhnlich ist. Nun kommt hinzu, daß der Krankheitsverlauf in meiner Beobachtung zwei Phasen erkennen läßt, eine erste, in der der schon schwer kranke Pat. mit ausgeprägten Symptomen der Purpura noch fieberfrei war, und eine zweite, die mit dem 27. Okt., also dem 7. Krankheitstage, einsetzte, und mit stetig ansteigendem, zuletzt 41° C erreichendem Fieber verlief.

Ein solcher Verlauf muß natürlich auf die Möglichkeit hinweisen, daß hier zu einer Purpura, deren Ursache unbekannt, eine bakterielle Infektion hinzugekommen ist. Bedenken stehen der Annahme einer solchen nicht im Wege, da die Blutungen in der Schleimhaut der Verdauungsorgane leicht eine Schädigung des Deckepithels gemacht haben können, und dementsprechend Sekundärinfektionen bei ähnlichen Krankheiten, z. B. der akuten Leukämie schon öfter beobachtet sind. Es wäre also möglich, daß die mikroskopischen Blutungen, die neben den Nekrosen in der Schleimhaut des Ileum sich fanden, die Eintrittspforte für die gefundenen Bakterien erst geschaffen hätten. Nimmt man also an, daß die Einwanderung der Bakterien in den Darm erst vom 7. Krankheitstage an erfolgte, und in den nächsten Tagen erst Milz und Leber infiziert wurden, die Ausbildung der Nekrosen also nur wenige Tage vor dem Tode erfolgt sein mag, dann begreift sich am leichtesten, daß jede Reaktion in der Umgebung dieser abgestorbenen Gebiete fehlt. Ließe sich auch bei der nachgewiesenen Leukopenie verstehen, daß die Ausbildung eines Leukocytenwalles um die Nekrosen herum ausblieb, so war bei längerem Bestande des Herdes doch eine Reaktion von den fixen Gewebszellen zu erwarten. Darauf machte mich Herr Prof. Aschoff, der die Güte hatte, die Präparate mit mir durchzusehen, besonders aufmerksam.

Fassen wir also diese Nekrosen als Folge einer Sekundärinfektion auf, so sind doch die hyalinen Degenerationen wohl anders zu bewerten. Die bedeutende Größe der hyalinen Klumpen, die Entartung der Gefäßwand, die an manchen Stellen schon zu Wucherung des Endothels geführt hat, lassen ein längeres Bestehen vermuten. Auch ist hier zu bemerken,

daß ähnliche Veränderungen, wie Thrombenbildung, hyaline Gefäßentartung, Verengung des Gefäßlumens, Wucherung des Endothels nicht allein von Tizzoni, sondern von verschiedenen Autoren bei sehr verschiedenen, mit hämorrhagischer Diathese verlaufenden Krankheiten gefunden sind. Ich erwähne hier nur v. Kogerer<sup>1)</sup>, der diese Dinge bei Skorbut, Endocarditis, Carcinomatose, Tuberkulose, Sepsis etc. fand, und Silbermann<sup>2)</sup>, der ähnliche Befunde bei Fermentblutintoxikationen hatte.

Demnach scheint es, daß sehr verschiedenartige Prozesse schließlich zu denselben Veränderungen der Gefäße führen können. Während nun v. Kogerer meint, in diesen Gefäßveränderungen die Ursache der Blutungen gefunden zu haben, ist diese Deutung für meinen Fall, in dem solche Befunde nur in der Milz erhoben werden konnten, nicht zulässig. Es wäre ja aber denkbar, daß die Blutungen auf einer unerkennbaren Schädigung der Gefäßwände beruhten, die sich nur unter besonderen Umständen in einer gröberen Schädigung der Gefäßwand verriete.

Welche Bedeutung der Schwellung der Mesenterialdrüsen zukommen mag, wird kaum zu entscheiden sein. Ein Zusammenhang mit der Bakterieninfektion ist jedenfalls nicht erkennbar, da weder Nekrosen noch Bakterien nachweisbar waren. Auch die derbe Beschaffenheit der Drüenschwellung spricht vielleicht dafür, daß diese Drüsenhyperplasie älter als die Infektion mit Darmbakterien ist, daß sie also dem ursprünglichen Krankheitsprozeß zugehören.

Von den klinischen Symptomen verdient der Blutbefund Beachtung. Wiederholt erhoben und auch am Tage nach der Aufnahme schon konstatiert, ist die auffallende Leukopenie jedenfalls auf die ursprüngliche Purpura, und nicht auf die Bakterienwirkung zu beziehen. Sie ist um so bemerkenswerter, als sie verbunden war mit einer ausgesprochenen relativen Vermehrung der Lymphocyten, wie sie in ähnlicher Weise neuerdings für den Typhus abdominalis konstatiert ist. An ähnlichen Beobachtungen fehlt es bislang für die Purpura, für die nur einige Male Leukocytose beobachtet wurde. Ob diesem Symptom eine größere Bedeutung zukommt, können erst weitere Untersuchungen zeigen.

*Nachdruck verboten.*

## On the virulence of *Bacillus mallei* obtained from human sources.

By William Bulloch and F. W. Twort, London.

Glanders in man is generally believed to be uncommon although no doubt this belief is partially due to the protean characters which the disease manifests clinically and which render it difficult of diagnosis. Years ago Virchow (1) wrote: "Es geschieht, daß Leute mit dieser Affektion lange Zeit behandelt werden, ohne daß man von der gefährlichen Natur ihrer Krankheit eine Ahnung hat." During the years that the bacteriological recognition of *Bacillus mallei* has been rendered possible, cases have been recorded with ever increasing frequency. In the majority recourse has been had to the inoculation of the male guineapig

1) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. X.

2) Festschr. f. Henoch.

in which as was pointed out especially by Straus a well marked orchitis develops. The inoculation material has been either the bacillus isolated from the glanders lesions or the pus and exudate from these lesions directly as the finding of the bacillus in the exudate is often associated with difficulty. In regard to the development of the testicular disease in the guineapig reports are fairly uniform. Without mentioning the question of dosage required Straus (2) says that after intraperitoneal inoculation the swelling of the testicle is very apparent in 2—3 days. "Au 8<sup>e</sup> ou 10<sup>e</sup> jour elle a acquis des proportions très considérable, l'animal succombe beaucoup plus rapidement, en général au bout de douze a quinze jours parfois en quatre a huit jours." Nocard et Leclainche (3) express themselves in exactly similar strain: "L'animal succombe généralement en 12—15 jours, parfois en 4—8 jours".

Prettner (4) without mentioning the animal source of the culture states that 1 g of a bouillon culture (obtained from an agar culture of the first generation) causes orchitis within 24 hours the swelling reaching its maximum in 3 days after the inoculation and the guineapigs never survive till the 8th day, the majority dying on the 5th or 6th day.

Zieler (5) who experimented with the pus of two human cases of glanders obtained at first inconstant results as far as concerned the production of a typical "Straus reaction" but with pure cultures the result was unequivocal and even after prolonged antiseptic treatment of the glanders lesions no attenuation of the virulence of the bacillus could be observed. With cultures from his second case — the dose used is not stated — he obtained typical orchitis in 24 hours and death in 3—6 days.

During the last three years we have examined six cases of glanders at the London Hospital, two being acute in course and four chronic. In each case the diagnosis was made by bacteriological examination the typical exudate of the tunica vaginalis being obtained from the injection of pure cultures isolated from the glanders lesions. In each case we have been struck by the rapidly fatal disease induced in the guineapig. The animals used weighed from 400—700 g death occurring on the third day. From the first culture obtained from each human case on loopful was suspended in bouillon and injected intraperitoneally. The loop contained about 1 mg. The original cultures were obtained from the human cases on surfaces of potato and as soon as the appearance of the yellowish colony suggested *B. mallei* a minute loopful was obtained by touching the colony and this was the material injected. The remaining part of the colony was used for the microscopic examination (staining etc.).

Within 24—36 hours the testicles were found to be profoundly swollen, red and apparently tender the swelling increasing up till death which as stated above occurred in all the cases within three days. The post mortem examination revealed an extensive typical glanders exudate in the tunica vaginalis and an exudate in the peritoneum. From the testicular lesion as well as from the peritoneum typical *B. mallei* existed in pure culture. From the frequency with which we have obtained this rapid effect it has occurred to us that the bacillus is probably much more virulent from human than from equine sources. We subjoin a very short summary of the actual cases and do not propose to deal with glanders in man in extenso as that has been recently done very completely by Zieler (l. c.).



#### Acute glanders.

Case 1. H. B. 51. tramconductor. Ill three weeks. Illness began with shivering and fever. Pustules appeared on arms legs and forehead, erythematous rash. High temperature throughout the disease. Death two days after admission into the hospital.

P. M. Farcy nodules in skin, acute glanders nodules diffused throughout the lung. Primary source of infection not determined.

From a pustule on arm during life *B. mallei* isolated a potato. From first culture one loopful inoculated into male guineapig. Typical Straus' reaction in 24 hours. Death on 3<sup>rd</sup> day.

Case 2. G. B. Carman, illness about three weeks, admitted with pyrexia and multiple abscesses.

Pus from abscesses contained bacilli like *B. mallei* inoculation on potato, save a pure growth of *B. mallei*. One loopful inoculated into guineapig, severe orchitis by the 48<sup>th</sup> hour. Death on 3<sup>rd</sup> day.

#### Chronic cases.

Case 3. A. F. Abscesses of thigh lasting for months. From pus *B. mallei* obtained in pure culture. One loopful from first potato culture killed guineapig with typical glanders in 48 hours.

Case 4. A. D. Aged 31. Occupation warehouseman, admitted suffering from chronic pyaemia, multiple abscesses all over body. Bacillus isolated from on abscess on the arm. Inoculation gave positive result and death of the guineapig on 3<sup>rd</sup> day.

Case 5. F. R. Aged 23. Carman, history of illness of 10 months began after attending a horse suffering from "inflammation of the lungs". Illness began with abscess on inner side of right foot. Four months later abscess of testicle which burst through the scrotum. Large abscess of left thigh. On admission a large raised infiltrated area on left side of face extending from inner canthus to left ala nasi. A sinus existed at the lower end. Sinus scraped out and the mixture of pus and blood subjected to examination. *B. mallei* isolated, one loopful injected into guineapig. Death with typical appearances on the 3<sup>rd</sup> day. Testicle severely affected.

Case 6. No information could be obtained about this case except that it was one of chronic pyaemia in a man whose occupation was a carman. The pus from one of the abscesses was sent for examination. Pure culture of *B. mallei* isolated. Inoculation of first culture obtained killed a large male guineapig in 3 days with a dose of 1 loopful.

We add a seventh case although the exact nature of the disease is doubtful and it possibly comes into the category of pseudoglanders. It was that of a woman suffering from an abscess the character of the pus of which led to the bacteriological examination for *Bacillus mallei*. On potato a culture was obtained of what appeared to be typical *Bacillus mallei*. It was a non motile, Gram negative rod giving greyish colonies on agar and yellowish moist colonies on potato ultimately turning to the typical chocolate brown said to be characteristic of *Bacillus mallei*. Seven different inoculations were performed on male guineapigs. Four of these were entirely negative. In the other three a rapidly fatal infection was produced death occurring in 24 hours. No glanders lesions were found although the bacillus which was present in large quantities presented like the primary culture all the typical appearances, morphologically and culturally, of the *Bacillus mallei*.

#### Bibliography.

- 1) Virchow, Die krankhaften Geschwülste. Bd. II. 1864/65.
- 2) Straus, Sur un moyen de diagnostic rapid de la morve. (Arch. de méd. expér. T. I. 1889. p. 461.)
- 3) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. T. II. 1903. 3<sup>e</sup> éd. p. 219.
- 4) Prettner, Die Zuverlässigkeit der Strausschen Methode. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. 1899. p. 563.)
- 5) Zieler, Ueber chronischen Rotz beim Menschen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903. p. 309.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber ein Symptom der experimentellen Lyssa (das sogenannte prämonitorische Fieber).

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz Josef-Universität Kolozsvár.]

Von Prof. Dr. Josef v. Löte.

Diese Mitteilung beabsichtigt, zur Aufklärung einer alten Diskussion bezüglich eines Symptoms der experimentellen Lyssa auf Grund neuerer Erfahrungen beizutragen.

Gleich nach der Veröffentlichung der epochemachenden Experimentaluntersuchungen Pasteurs wurden auch bei uns im Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der Universität Budapest anfänglich am 13. Nov. 1885 unter Leitung Prof. Hógyes weitumgreifende Untersuchungen unternommen, an welchen auch ich von Anfang an teilnahm und mich nebenbei auch mit der Forschung der Symptome der experimentellen Lyssa beschäftigte. Ich untersuchte namentlich die Schwankungen in der Temperatur der Versuchskaninchen nach Injektion mit Lyssavirus gleich von Anfang der 24. Passage, wo ich beweisen konnte, daß das erste nachweisbare Symptom der experimentellen Lyssa das Fieber ist. Die Endresultate dieser Untersuchungen wurden der ungarischen Akademie der Wissenschaften am 15. Nov. 1886 von Prof. Hógyes im Rahmen seiner Mitteilung bekannt gegeben. In ausführlicher Darlegung veröffentlichte ich dieselben in den Nummern 12—18 des „Orvosi Hetilap“. Jahrg. 1887. In dieser Mitteilung erwähnte ich gleichzeitig die Temperaturverhältnisse von 5 Kaninchen, die mit dem Mark einer an Lyssa gestorbenen Frau infiziert wurden. Diese gingen nach 15—21 Tagen daran zu Grunde. Diese Angaben konnten aber nur beschränkt verwendet werden, da die Beobachtung erst am 5. Tage begann, wo schon 3 Tiere fieberten, und zwar hatte eines  $41,7^{\circ}$  C und fieberte noch am Ende des 7. Tages. Dieses Fieber hielt ich aber nicht für eine Folge der Lyssa-infektion. Hinsichtlich des Kausalnexus bezüglich der Lyssa wurde nur das Fieber des einen Kaninchens in Betracht gezogen, welches sich vor den Irritationserscheinungen zeigte, und welches dem Fieber des mit Virus fixe infizierten Kaninchens im Anfang des stad. morbi entsprach. Aus so wenigen und nicht ganz vollständigen Untersuchungen konnten ja weitere Schlüsse nicht gezogen werden.

In Virchows Archiv (Jahrg. 1887, Dezemberheft) erschien eine Studie von Babes, in welcher Autor viele interessante Angaben über die experimentelle Wut mitteilt, und in welcher von den Wutsymptomen gerade die Temperaturverhältnisse nach der Infektion mit Straßen-, außerdem mit künstlich abgeschwächtem Virus besprochen werden. Was das erstere anbelangt, so bestätigt auch Babes meine Erfahrung, daß nämlich als Folge der Infektion nicht immer Fieber erscheint. Auch dann folgt es nicht immer, wenn ein irgendwie abgeschwächtes Virus dem Kaninchen geimpft wird. Uebrigens kommt es vor, daß das Fieber 6—8 Tage nach der Infektion auf  $39,9^{\circ}$ , ja sogar auf  $40,0^{\circ}$  steigt, die Temperatur aber den nächsten Tag normal wird. Das Fieber kann aber auch zum zweiten, ja sogar zum dritten Male erscheinen, und schließlich verendet das Tier unter Abnahme der Temperatur und des Körpergewichts. Oder es kann auch dieser Fieberanfall vorübergehen, ja das Tier genest sogar

vollständig. B. hatte nach Infektionen des von Pasteur erhaltenen Virus auch öfters beobachtet, daß das zur bestimmten Zeit erschienene Fieber verschwand und die schweren Irritationserscheinungen erst nach mehreren Wochen erschienen. Er beobachtete auch in einigen seltenen Fällen nach Infektionen mit abgeschwächtem Virus, daß auf einmal mit dem vorübergehenden Fieber auf kurze Zeit auch typische Irritations-symptome erschienen. Aus all diesen Erfahrungen kann man mit Recht den Schluß ziehen — sagt Babes — daß die Anfangssymptome der Wut bei den mit abgeschwächtem Virus geimpften Kaninchen erscheinen können, welche aber nicht fortschreiten und kein Verenden des Tieres nach sich ziehen.

Ich beobachtete aber solche Fälle, welche mit rekurrentem Fieber abliefen, auch später nicht bei meinem damaligen Material, bei präzisen Untersuchungen. Daher hatte ich — offen gestanden — kein besonderes Vertrauen zu dem Bestehen solcher Fälle, besonders da Verf. selbst sagt, daß er im Blute seiner infizierten Kaninchen während des Fiebers oft Bakterien gefunden habe (l. c. p. 581).

Högyes berichtet in seiner in *Annal. de l'Inst. Pasteur*. Jahrg. 1888 erschienenen, die experimentelle Wut behandelnden Studie auch über meine Untersuchungen bezüglich der Temperaturverhältnisse der mit Virus fixe geimpften Kaninchen. Högyes beruft sich auf meine Erfahrung, nach welcher die Regelmäßigkeit der Temperaturverhältnisse nicht dieselbe ist bei den mit Straßenvirus und Virus fixe geimpften Kaninchen. Er erwähnt, daß ich im Stadium incubationis der lang verlaufenden Fälle manchmal  $0,3-1,0^{\circ}$  Temperatursteigerung beobachtete, aber dies bei den mit abgeschwächtem Virus geimpften Kaninchen nicht fand. „Ich glaube nicht“ — sagt Högyes — „daß diese kleinen Temperaturschwankungen von Wichtigkeit sein könnten, trotzdem Babes in diesen die prämonitorische Erscheinung der Wut sieht. Erstens, weil diese Erscheinungen nicht konstant sind, zweitens, weil man solche kleine Schwankungen auch bei gesunden Kaninchen beobachten kann etc.“

Babes beschäftigt sich im selben Jahrgang der obengenannten Zeitschrift mit dieser Frage auf Grund neuerer Erfahrungen wieder. Er meint, daß es schwer sei, die Wichtigkeit dieses Symptoms im voraus zu verneinen — wie dies Högyes tut — wenn es auch nicht konstant ist und derzeit noch keinen praktischen Wert hat. Es spricht nichts dagegen, daß dieses Symptom hinsichtlich der Vermehrung und Verbreitung des Lyssavirus im Organismus von Wichtigkeit wäre. Er leugnet das Vorkommen dieser Temperaturschwankungen bei gesunden Kaninchen und meint, daß sie, wenn sie auch manchmal vorkommen, immer nur ein Zeichen eines pathologischen Zustandes sind. Man darf diese seltenen und vorübergehenden Anfälle nicht mit den vom Verf. erwähnten, sich oft wiederholenden und regelmäßigen Fieberanfällen verwechseln. Er beobachtete sie am häufigsten nach Infektionen mit Straßenvirus. Unter seinen letzten 25 Fällen nach Impfungen mit Straßenvirus verschiedener Provenienz beobachtete er dieses Fieber 23mal bei den Kaninchen. Es begann  $4\frac{1}{2}-10$  Tage nach der Infektion. In 20 Fällen war es intermittierend mit 2—3 Anfällen, 12—48 Stunden dauernd, mit 1—2-tägiger Unterbrechung. In den meisten Fällen schwanden die prämonitorischen Symptome 10—12 Tage nach der Infektion, und die Temperatur blieb normal bis zum Eintreten des Terminalfiebers oder der Irritations-symptome. Dieses prämonitorische Fieber zeigt sich im allgemeinen früher bei denjenigen Kaninchen, welche am 13.—17. Tage nach der Infektion

zu Grunde gehen, als bei denen, die länger am Leben blieben. Er überzeugte sich auch, daß die Trepanation allein oder in Verbindung mit Injektionen steriler Flüssigkeit unter die harte Hirnhaut kein Fieber erzeugt. Dieses vom Verf. prämonitorisch bezeichnete Fieber steht im innigen Zusammenhang mit der Wirkung des Lyssavirus und sein Erscheinen ist fast eine Regel nach der Infektion mit Straßenvirus, hingegen ist das Terminalfieber weniger konstant: In den obengenannten 25 Fällen fehlte es 9mal. Der Wert des prämonitorischen Fiebers wird nach Verf. auch durch den Umstand gesteigert, daß es in der Inkubation schon früh erscheint, viel früher als die Irritationssymptome.

Meine Meinung bezüglich des prämonitorischen Fiebers kann ich auf Grund meiner damaligen Untersuchungen auch jetzt nachträglich nicht ändern. Ich glaube aber, meine neueren Untersuchungen beleuchten diese Frage in manchen Punkten.

Um die Sache kurz zu fassen, kommen wir vor allem mit der Frage ins reine: Zeigt sich bei längerer Beobachtung gesunder Kaninchen eine dem prämonitorischen Fieber gleichende Temperaturerhöhung? Nach unseren Erfahrungen zeigen sich bei den von hier und da zusammengekauften Kaninchen teils wegen schlechter Nahrung oder eventueller Infektion öfters Temperaturschwankungen, so daß wir bei unseren wichtigeren Untersuchungen niemals solche Tiere zu gebrauchen pflegen. Hingegen sehen wir in der Temperatur unserer wohlgenährten, selbstgezogenen Kaninchen eine befriedigende Regelmäßigkeit ohne jede Schwankung. Ja diese Regelmäßigkeit wird sogar nicht einmal nach Infektionen mit durch gewisse Umstände sehr abgeschwächtem Lyssavirus gestört. Die Temperatur von 50 solchen Kaninchen zeigte nach einmonatlicher Beobachtung eine kleine und regelmäßige Schwankung zwischen  $39,0$ — $39,6^{\circ}$  C. Dagegen kamen unter den Kaninchen, welche zu unseren Versuchszwecken in Budapest verwendet wurden, auch solche vor, deren Temperatur bei zweiwöchentlicher Beobachtung ohne jeden Eingriff  $1,2^{\circ}$  Schwankung zeigte. Diese waren auch von überall zusammengekaufte und geklaubte Kaninchen verschiedener Rasse und Größe. Meine Meinung ist nach all diesem, daß die Temperatur der vollkommen gesunden Kaninchen genügende Regelmäßigkeit zeigt, um als Leitfaden bei Beurteilung pathologischer Veränderungen dienen zu können, und daß eine dem prämonitorischen Fieber gleichende Unregelmäßigkeit bei gesunden Tieren nicht vorkommt.

Was nun das prämonitorische Fieber selbst anbelangt, so kann ich bemerken, daß wir wenig solche Fälle haben, bei welchen die Impfung direkt mit Straßenvirus begann. Auch von diesen Fällen sollen nur diejenigen in Betracht gezogen werden, über deren vollkommene Reinheit wir uns wenigstens durch das negative Resultat der Aussaaten auf Agaragar überzeugten. Es blieben uns 6 solcher Fälle. Darunter war ein Fall sozusagen fieberfrei. In zweien zeigte sich ein ziemlich ausgebildetes Terminalfieber ( $40,0$ — $40,6^{\circ}$ ; normale Temperatur  $38,5$ — $39,4^{\circ}$ , resp.  $39,0$ — $39,6^{\circ}$  C). Der vierte Fall, welcher, so wie auch die vorigen, anderen Ursprunges ist, verendete am 27. Tage. Bei diesem zeigte sich vom 9. Tage an ein 9 Tage lang dauernder Fieberanfall, und zwar mit ungewöhnlich hohem Fieber, so daß er die Temperatur von  $41,0^{\circ}$  dreimal erreichte, zweimal sogar überschritt ( $41,1$ — $41,2^{\circ}$ ). Am 23.—24. Tage erschien das Terminalfieber. Der 5. und 6. Fall stammt aus ein und demselben, mit Straßenvirus geimpften und daran zu Grunde gegangenen Hunde und bildet zugleich den Ausgang einer unserer am weitesten vor-

geschrittenen Serie. In beiden Fällen erschien ein mäßiges prämonitorisches Fieber je zweimal (40,4—40,6°, resp. 40,0—40,5°; normale Temperatur 39,2—39,6°, resp. 39,0—39,6° C). Das Terminalfieber fehlte auch nicht. Die Tiere gingen am 21. resp. 23. Tage zu Grunde. Besonders muß betont werden, daß Krankheitsfälle mit prämonitorischen Fieberanfällen aus dieser am 29. Jan. 1902 weitergeimpften Serie auch später öfters vorkamen, namentlich in der 25., 27., 40., 45., 66. und 79. Generation. Diese Fälle waren zugleich auch von längerem Verlaufe, als die gewöhnlichen. Das eine Kaninchen aus der 45. Passage verendete sogar am 161. Tage unter den typischen Terminalerscheinungen der Wut. Obwohl wir schon bei der 87. Generation halten, verendet das Tier dennoch erst am 12. Tage, trotzdem das Terminalfieber schon am 5. Tage zu erscheinen pflegt, es dauert aber gewöhnlich 3—5 Tage lang, ebenso dauert auch das Stadium paralyticum länger. Wir haben aber seit 25. März 1904 auch eine andere Serie, welche aus einer an Hundswut zu Grunde gegangenen Dogge stammt. Diese zeichnete sich schon anfangs durch ihre ungewöhnlich große Virulenz aus. Die Krankheitsdauer wurde gar nicht kürzer, obwohl wir auch mit dieser Serie schon bei der 29. Generation halten. Der Tod folgt auch jetzt meistens am 10.—12. Tage, wie anfangs. In dieser Serie kamen niemals Fälle mit prämonitorischem Fieber vor und kein einziges Kaninchen überlebte den 15. Tag. Diese Serie unterscheidet sich außer durch ihre große Virulenz von der anderen weit vorgeschrittenen auch dadurch, daß bei ihr das Terminalfieber gewöhnlich kürzer ist, höchstens 1—2 Tage lang dauernd, ebenso ist auch das Stadium paralyticum kürzer. In der Temperaturhöhe ist kein auffallender Unterschied.

Nach meinem oben kurzgefaßten Erfahrungsergebnisse zweifle ich also an dem Vorkommen des sogenannten prämonitorischen Fiebers meinerseits nicht im geringsten und halte es für eine Folge der Wirkung des Lyssavirus. Ich schreibe ihm aber gar keine besondere Bedeutung zu, insbesondere, weil gleichzeitig auch andere charakteristische Symptome nebenbei erscheinen, die dann auf kürzere oder längere Zeit, ja sogar auch gänzlich verschwinden können. Ich halte dies einfach für ein vorübergehendes Erscheinen des Stadium morbi. Lyssa ist es, nur erscheint es in milder und unvollkommener Form und wir können seinen Charakter erst nach dem Vorübergehen desselben erkennen; wir können nicht einmal das im voraus wissen, ob der erste prämonitorische Fieberanfall gleichzeitig auch der letzte war, oder ob er sich noch wiederholen wird. Das Vorübergehen dieses Anfalles erweckt im Menschen höchstens die schwache Hoffnung, daß das Ende der Infektion eine eventuelle Genesung sein könnte. Diese Form nennen wir zum Unterschiede von der gewöhnlichen Lyssa: *Lyssa recurrens*.

Was nun die Bedingung des Entstehens des prämonitorischen Fiebers anbelangt, so halte ich die relative Virulenz des Infektionsstoffes als ausschlaggebenden Faktor. Nach Infektionen mit stark virulentem Virus erfuhr ich sein Erscheinen nie. Fälle von kurzer Krankheitsdauer enden mit kurzdauerndem Terminalfieber, oder auch ohne dasselbe letal. Nach Infektionen mit stark abgeschwächtem Virus zeigt sich nicht einmal nach einem Monat prämonitorisches Fieber. Es ist nur das charakteristische Zeichen der Wirkung eines Virus von mittelstarker Virulenz, wo noch der Ausgang des Kampfes zwischen dem angegriffenen Organismus und dem Infektionsstoffe sozusagen zweifelhaft ist, bis endlich der eine oder der andere Kämpfende die Oberhand gewinnt,

3\*

*Nachdruck verboten.*

## Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

### 3<sup>o</sup> Mémoire.

#### La variole et son parasite (*Plasmodium variolae*).

Par F. J. Bosc, Professeur à l'Université de Montpellier.

Avec 2 planches et 12 figures.

#### I.

#### Etudes générales des symptômes.

Grâce à la pratique préventive de la variolisation, le médecin a pu, à côté de l'observation de la variole spontanée, se livrer à une véritable étude expérimentale de la variole chez l'homme. On peut retirer de cette étude comparative des enseignements d'un grand intérêt en particulier pour ce qui regarde la connaissance de l'accident primitif.

#### A. Variole inoculée.

Elle a été bien étudiée par les anciens; Trousseau (21) lui consacre quelques pages fort intéressantes. Après inoculation du virus variolique à la peau de l'homme, on observe:

1) Une période d'incubation qui va de l'inoculation au début apparent de l'accident local; elle a une durée moyenne de 3 fois 24 heures et ne s'accompagne pas de phénomènes généraux. On peut noter parfois, dès 2<sup>o</sup> jour, une aréole rouge en rapport le plus souvent avec une infection surajoutée.

2) Une période prééruptive ou de l'accident local, pendant laquelle se fait le développement de la pustule mère et qui se termine avec le début de l'éruption généralisée. Au point d'inoculation, la macule peut se marquer dès la fin du 2<sup>o</sup> jour et le plus souvent au milieu ou à la fin du 3<sup>o</sup> jour. Cette macule, qui ressemble à une piqûre de puce, s'indure et donne une papule qui, au 4<sup>o</sup> jour, s'élève et présente une induration plus forte, de l'aspérité, de la rougeur plus vive et souvent une petite vésicule à son sommet. Cette vésicule est très nette à partir du 5<sup>o</sup> jour: elle est acuminée avec un sommet luisant, blanchâtre et une aréole rouge étendue. Dans le cours du 5<sup>o</sup> jour, il se produit une légère ombilication et au voisinage immédiat de l'accident primitif on voit apparaître une éruption localisée qui peut ne survenir que du 6<sup>o</sup> au 10<sup>o</sup> jour. Les éléments de cette éruption locale passent à l'état de macule, papule et vésicule; Trousseau (21) a noté que sur l'aréole rouge de la pustule d'inoculation et à ses environs on peut voir jusqu'à 20 petites papulo-vésicules ou pustules satellites. L'ensemble de la pustule primitive et de l'éruption satellite porte le nom de variole mère ou pocken-master<sup>1)</sup>.

Au 6<sup>o</sup> jour, la papulo-vésicule qui constitue l'accident primitif augmente de volume; son aréole rouge est bien plus étendue et le patient éprouve de la douleur pour élever son bras à cause d'une inflammation ganglionnaire prononcée. Au 7<sup>o</sup> jour, la vésicule très accrue se transforme en pustule: la lymphe devient trouble et l'aréole, d'un rose bleuâtre commence à s'affaïsser. Du 8<sup>o</sup> au 9<sup>o</sup> jour la variole-mère est en maturité de suppuration avec une cavité distendue par le pus et une large aréole bleuâtre à bords inégaux. Les ganglions lymphatiques correspondants sont hypertrophiés au maximum. Du 10<sup>o</sup> au 11<sup>o</sup> jour et même au 13<sup>o</sup>, après l'inoculation (du 7<sup>o</sup> au 10<sup>o</sup> à partir du début apparent de l'accident local) apparaît l'éruption généralisée.

1) La pocken-master de la variole reproduit le tableau que j'ai décrit, pour la 1<sup>o</sup> fois, dans la clavelée: après inoculation sous-cutanée de claveau et apparition d'une tumeur, il se fait, au niveau de la peau qui recouvre cette dernière et à son voisinage, une éruption locale ou satellite, parfois très abondante, formée de 20 à 50 éléments éruptifs jambon fumé et qui précède de plusieurs jours l'éruption généralisée (voir F. J. Bosc, Etude symptomatique de la clavelée expérimentale, Rev. gén. de méd. vétér. 1904. No. 42).

La master-pocken, c'est-à-dire l'accident d'inoculation accompagné de son éruption satellite, évolue donc à l'état isolé, du 3<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> ou au 13<sup>e</sup> jour, c'est-à-dire pendant une période de 7 à 11 jours.

Les phénomènes généraux sont nul à la période d'incubation et dans les 2 jours qui suivent le début apparent de la pustule d'inoculation (période de macule et de papule). Les phénomènes généraux débutent entre le 5<sup>e</sup> et le 9<sup>e</sup> jour après l'inoculation (du 7<sup>e</sup> au 6<sup>e</sup> jour après le début apparent de l'accident local) et ce début coïncide avec la vésiculation accompagnée de l'éruption satellite. La date du 9<sup>e</sup> jour (Trousseau) nous paraît trop reculée; c'est surtout du 5<sup>e</sup> au 8<sup>e</sup> jour que débutent les phénomènes généraux. Ils se marquent d'abord par le la fréquence du pouls, une langue sale, des douleurs axillaires par engorgement ganglionnaire, et un peu d'abattement; au 7<sup>e</sup> jour (4 jours après le début de l'accident primitif), c'est-à-dire, avec le début de la pustulation des phénomènes plus sérieux se manifestent: fièvre, frissons légers, pesanteur de tête, lassitude générale. Vers le 8<sup>e</sup> jour, éclatent les grands symptômes qui, dans la variole spontanée, ont reçu le nom de symptômes avertisseurs: fièvre intense, frissons violents, vomissements, rachialgie, céphalalgie, et qui précèdent de 24 à 48 heures l'apparition de l'éruption généralisée.

La période prééruptive ou de l'accident local isolé présente donc 3 phases: la 1<sup>e</sup>, sans retentissement sur l'état général (papule) et d'une durée de 2 jours; la 2<sup>e</sup>, avec des phénomènes généraux légers, qui correspond à la vésiculation et à l'éruption satellite et d'une durée de 3 jours; une 3<sup>e</sup>, avec des phénomènes généraux intenses, qui correspond à l'invasion du sang par le virus à la durée de 3 à 4 jours et précède l'éruption généralisée (phase d'invasion de la variole spontanée).

3) Période éruptive. L'éruption se fait du 10<sup>e</sup> au 11<sup>e</sup> jour après l'inoculation, c'est-à-dire 7 à 8 jours après le début apparent de l'accident primitif; elle peut ne débuter qu'au 13<sup>e</sup> jour. L'éruption évolue du 10<sup>e</sup>, 11<sup>e</sup> ou 12<sup>e</sup> jour jusqu'au 14<sup>e</sup> ou 16<sup>e</sup> jour et alors commence la dessiccation. Dès le début de l'éruption généralisée, la fièvre diminue ou cesse, les phénomènes généraux s'amendent puis disparaissent. La fièvre reparait du 12<sup>e</sup> au 14<sup>e</sup> jour et elle est en rapport avec la suppuration des pustules de l'éruption généralisée (phase de suppuration); elle disparaît du 14<sup>e</sup> au 15<sup>e</sup> jour.

4) Dessiccation et cicatrisation. Cette phase part du 14<sup>e</sup> ou 15<sup>e</sup> jour après l'inoculation; la dessiccation est en général très régulière mais parfois, il se produit une escarre humide qui pénètre profondément et laisse une cicatrice difforme. Nous avons vu ce même processus de nécrose humide pouvoir se produire au niveau de la pustule claveuse (109).

## B. Variole spontanée.

Dans la variole spontanée, les grands phénomènes dits d'invasion sont, en général, les premiers qui arrivent à l'observation du médecin; la phase antérieure, de durée incertaine, est désignée sous le nom de période d'incubation.

Or l'étude de la variole provoquée, nous a montré que cette phase qui précède l'éruption généralisée comprend une première période complètement muette et qui constitue l'incubation véritable, mais aussi une deuxième période, la prééruptive qui correspond à l'évolution apparente de l'accident local (master-pocken) et au passage du virus dans le sang et se manifeste par des symptômes généraux.

La variole spontanée doit certainement, elle aussi, débuter par l'entrée du germe en un point de l'économie, présenter une pustule primitive ou master-pocken précédant l'apparition de phénomènes généraux qui annoncent les grandes phénomènes de la période d'invasion et sont en rapport avec le début de l'infection généralisée. Cet accident primitif de la variole spontanée est rarement observé; il est vrai qu'il a été peu recherché par les cliniciens; il est d'ailleurs très vraisemblable que l'inoculation ne se produit pas à la peau. Nos observations de pustules varioliques pulmonaires précoces [de même que nos expériences d'inoculation positive de vaccin au poumon du lapin (106)], doivent laisser penser que c'est l'appareil respiratoire qui constitue la porte d'entrée pour le virus variolique. Il existe toutefois des exemples typiques dans lesquels la peau a été la porte d'entrée du virus et Trousseau (22)

en a rapporté un cas des plus remarquables: „Un homme atteint de varioloïde présentait au niveau du sillon naso-labial, une pustule plus large du diamètre d'une pièce de vingt centimes, assez profondément creusée entourée d'une aréole rouge sur la largeur d'une pièce de un franc, couverte de petites vésico-pustulettes satellites. L'éruption généralisée s'était faite douze jours après l'apparition de cette master-pocken.“

Etant démontré qu'il y a dans la variole spontanée, comme dans la variole inoculée, évolution d'un accident primitif, les phénomènes généraux devront apparaître, dans un cas comme dans l'autre, du 7<sup>o</sup> au 9<sup>o</sup> jour, comme nous l'avons noté pour la variole provoquée. Or c'est bien là la durée moyenne admise par les auteurs, pour la variole spontanée, entre le moment supposé de la contagion et l'apparition des phénomènes d'invasion. Boerhaave, Stoll comptent 7 jours; Eichorst compte 9 jours, à partir du contage, en se basant sur l'observation de médecins; on a signalé des chiffres de 10, 12, 16 jours, mais il faut tenir compte de la difficulté de fixer le moment précis de l'inoculation du contage. La moyenne la plus exacte est de 8 à 9 jours et elle s'accorde parfaitement avec les données fournies par l'étude de la variole inoculée (Tableau I).

La marche des phénomènes généraux au cours de la variole spontanée reproduit d'ailleurs exactement le tableau que nous avons établi pour la variole inoculée: Sydenham note que, dans certains cas, la période prodromique peut s'accompagner de phénomènes généraux très-nets, en particulier dans les varioles anormales. Mais même dans les varioles régulières, on constate 2 à 3 jours avant l'apparition des grands phénomènes d'invasion, des troubles plus légers: malaises digestifs, fatigue (Curschmann), fièvre légère allant de 38 à 38,5, et qui précèdent de 24 à 48 heures, parfois de 3 jours, le grand frisson avertisseur. Ce sont ces phénomènes qui apparaissent, dans la variole provoquée au moment de la vésiculation de la master-pocken et qui sont en rapport avec le début de l'invasion du sang par le virus. Du 8<sup>o</sup> au 9<sup>o</sup> jour, les phénomènes généraux s'aggravent, parfois brutalement et persistent environ 3 jours<sup>1)</sup> avant le début de l'éruption généralisée. Cette période dite d'invasion correspond en réalité à la dernière phase de la période prééruptive (Tableau I): la fièvre atteint 39,5, un frisson violent se produit, puis des nausées, de l'inappétence, de l'abattement; le lendemain, c'est-à-dire 2 jours avant l'éruption, le frisson a cessé, la température est à 39,5 ou 40° et il existe de la céphalalgie, une rachialgie forte, des vomissements, des sueurs, de la vultuosité de la face, un pouls dur et violent, et parfois un rash apparaît; le 3<sup>o</sup> jour, la température subit une dernière poussée à 40,5°, 41° C avec de faibles rémissions. Mais le 4<sup>o</sup> jour à partir du frisson, c'est-à-dire le 10<sup>o</sup> ou 11<sup>o</sup> à partir du contage, et le 7<sup>o</sup> de la période prééruptive, l'éruption généralisée apparaît.

On peut donc dire qu'une phase d'incubation vraie de deux jours est suivie d'une phase prééruptive qui comporte: une période muette de 2 jours où l'accident local au stade de papule ne s'accompagne d'aucun retentissement sur l'économie; une seconde période de 2 jours  $\frac{1}{2}$ , à 3 jours qui correspond au stade de vésico-papule de la master-pocken et s'accompagne de phénomènes généraux légers; une 3<sup>e</sup> période de 2 à 3 jours caractérisée par des phénomènes généraux violents et qui correspond à la pustulation de la master-pocken et à l'infection du sang par le virus.

La période éruptive va du 10<sup>o</sup> au 18<sup>o</sup> jour, c'est-à-dire du 3<sup>o</sup> au 11<sup>o</sup> jour, à partir du frisson. D'après Grisolle, l'éruption se ferait simultanément aux muqueuses et à la peau; Trousseau indique que le début a lieu à la fois à la gorge et à la face et Roger que l'éruption se fait dans la gorge en même temps que sur la peau ou peu de temps auparavant. Nos observations nous montrent que les premières macules doivent être recherchées au niveau de la muqueuse buccale et, à ce titre, la variole humaine est identique à la variole ovine; nous avons montré en effet (109), que, dans la clavelée, l'éruption généralisée débute nettement au niveau de la

1) Cette durée de 3 jours (Trousseau) peut n'être que de 48 heures; elle peut parfois atteindre jusqu'à 6 et 7 jours (Grisolle).



surface muqueuse de la bouche et en particulier des lèvres. L'éruption gagne ensuite la face cutanée des lèvres, le menton, la vulve et le prépuce (encore comme dans la clavelée), le reste de la face, puis le cou, le thorax et les membres. L'éruption se généralise dans l'espace de 2 à 4 jours. Les éléments éruptifs passent par les stades de macule, papule, vésico-papule, pustule, puis se dessèchent. Les macules peuvent être assez confluentes à la face pour laisser penser à un érysipèle (Sydenham), à la rougeole; elles évoluent en 24 heures, de même que les papules qui d'abord légèrement saillantes donnent l'impression de „peau de chagrin“. La vésico-papule profondément enchâssée dans le derme devient apparente dans le cours des troisièmes 24 heures; elle dure 36 à 48 heures et s'ombilique. La pustule se forme dans la deuxième moitié du 4<sup>e</sup> au 5<sup>e</sup> jour après le début de l'éruption; elle est nettement suppurée et bien ombiliquée dès le 6<sup>e</sup> jour et s'accompagne d'une tuméfaction du tissu cellulaire sous-cutané; elle augmente de volume jusqu'au 7<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> jour et, à ce moment, elle est rugueuse, avec une croûte centrale qui commence à se dessécher. Comme la suppuration des pustules du thorax et des membres ne tarde que de 48 heures à 3 jours sur la suppuration des pustules de la face (l'évolution des éléments de la dernière partie de l'éruption ayant une évolution raccourcie, sans doute à cause du développement de l'immunité), il y aura une période de suppuration généralisée allant du milieu du 5<sup>e</sup> à la fin du 7<sup>e</sup> jour après le début de l'éruption à la face, c'est-à-dire du 8<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour après le grand frisson (voir Tableau I).

Les phénomènes généraux de la période éruptive se marquent par la diminution rapide des phénomènes graves de la période prééruptive, y compris la fièvre, et par une euphorie souvent complète 24 à 36 heures après le début de l'éruption, c'est-à-dire quand celle-ci s'est complétée. Dans la variole confluyente, la déférescence n'a lieu que 12 à 24 heures après le début de l'éruption et ne dure que 12 heures ce qui a pu faire croire à la continuité de la fièvre<sup>1)</sup>. Avec le début de l'éruption, il se produit des sueurs abondantes, du ptyalisme, par fluxion des glandes salivaires, et une tuméfaction prononcée de la face et des extrémités dont la disparition prématurée ou l'absence entraînent un pronostic grave (Sydenham) et que nous avons notées dans la clavelée (109). Vers la fin de la poussée éruptive, il se produit un amaigrissement brusque de même ordre que celui que nous avons vu se produire dans la clavelée sous forme d'une émaciation brutale (109).

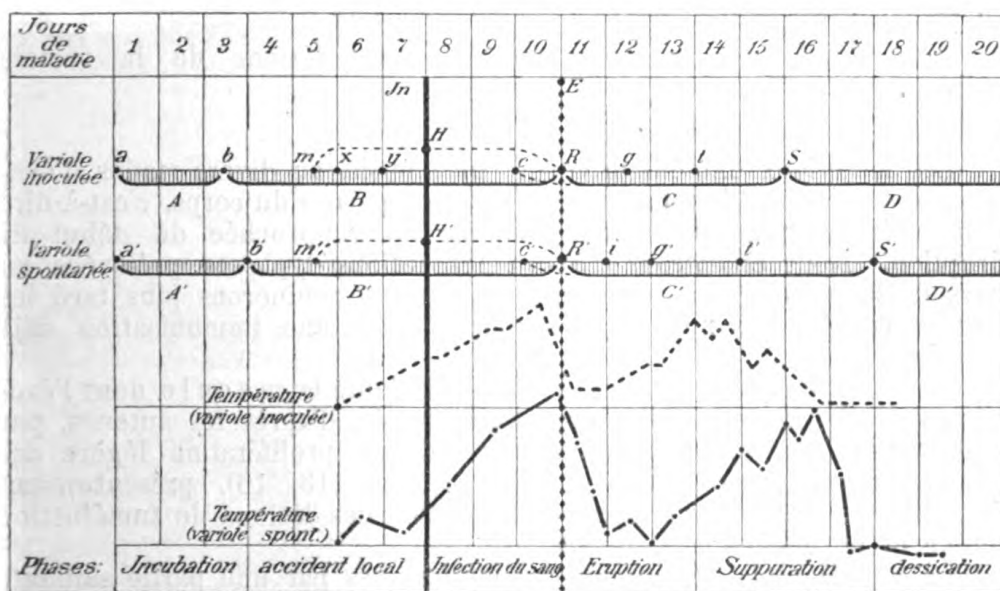


Tableau I. Phases comparées de la variole inoculée et la variole spontanée.

A, A' période d'incubation; B, B' période prééruptive; C, C' période éruptive; D, D' période de dessiccation. La ligne *Jn* indique le début des grands phénomènes généraux et la ligne pointillée *E* indique le début de l'éruption généralisée.

1) Dans les cas de variole grave, la température au lieu de baisser, s'exacerbe à 40,5, 41 et s'y maintient jusqu'au 9<sup>e</sup> jour (Roger). Déjà Rhazès avait noté la gravité de la persistance de la fièvre après l'éruption.

$a$  moment de l'inoculation ou du contagé ( $a'$ );  $b, b'$  début de l'accident local;  $x, x'$  éruption locale satellite (pocken-master);  $y$  début de la pustulation de la master-pocken; la ligne de  $m$  à  $H$  et  $m'$  à  $H'$  indique la marche des phénomènes généraux légers qui précèdent le ramollissement de la pocken-master; la ligne  $H$  à  $R$  et  $H'$  à  $R'$  indique l'évolution des phénomènes généraux violents qui constituent la période dite d'invasion de la variole spontanée et qui sont en rapport avec l'infection du sang. La période éruptive va de  $R$  à  $S$  de  $R'$  à  $S'$ ; mais elle peut commencer un peu avant, en  $c$  ou  $c'$ . En  $g$  et  $g'$  vésiculation des éléments de l'éruption généralisée; en  $t, t'$  début de la pustulation.

## II.

### Anatomie pathologique.

Les lésions de la peau et des muqueuses ont été seules considérées comme spécifiques; celles qui ont été constatées au niveau des organes, et du poumon en particulier, ont été rapportées à un processus inflammatoire banal. Mais en étudiant attentivement les lésions du poumon rencontrées à l'autopsie d'enfants non vaccinés et morts de variole confluente avant la période de suppuration, nous avons trouvé, dans le parenchyme pulmonaire, des lésions spécifiques et qui correspondent à de véritables pustules varioliques du poumon. Leur apparition précoce, leur évolution rapide, et l'ignorance où l'on était des caractères spécifiques des lésions varioliques et en particulier de la période terminale d'élimination avec polynucléose expliquent qu'on ne les ait pas observées plutôt et qu'on n'ait pensé, lorsqu'on les observait à leur phase terminale, qu'à une infection microbienne surajoutée. L'étude que nous avons faite des caractères et de l'évolution des lésions claveleuses et vaccinales non seulement de la peau mais encore des organes et du poumon a été un guide sûr dans notre recherche des lésions pulmonaires spécifiques à leurs divers stades, dans la variole.

Notre étude portera uniquement sur les lésions de la variole humaine.

#### A. Lésions de la peau.

Les matériaux ont été prélevés par biopsie, au divers stades d'évolution des éléments éruptifs et sur diverses parties du corps, c'est-à-dire à une période plus ou moins éloignée ou rapprochée du début de l'éruption. Nous étudierons d'abord les lésions typiques prélevées au cours de la première poussée éruptive; nous examinerons plus tard les pustules cornées des membres en rapport avec une immunisation déjà avancée.

Nous n'avons pas fait une étude spéciale de la macule dont l'évolution est très fugace. Elle serait caractérisée, d'après les auteurs, par la dilatation des vaisseaux du derme et une prolifération légère des cellules malpighiennes qui, selon Weigert (13, 16), présenteraient déjà, tout au moins dans la partie centrale, des lésions de tuméfaction trouble et de dégénérescence vitreuse.

La papule et la vésico-papule sont formées par une partie saillante et une partie enchâssée dans le derme et de plus en plus considérable.

1) Papule. L'examen histologique montre que la papule n'est pas due, comme on l'a cru, à une hyperémie du derme avec infiltration de leucocytes. Elle est constituée essentiellement par la prolifération pure et l'hypertrophie des cellules malpighiennes et des cellules conjonctives du derme, c'est-à-dire des cellules fixes, la prolifération épithéliale étant à ce stade, très nettement prédominante; elle s'accompagne d'une légère mononucléose du sang.

Lésions épithéliales. Les cellules malpighiennes activement proliférées forment des couches superposées; le travail de prolifération se poursuit aux dépens de la

masse des cellules néoformées mais aussi aux dépens des cellules épithéliales normales de la périphérie. Quand on va des bords de la papule vers son centre, les bourgeonnements épithéliaux dus à la prolifération de l'épithélium interpapillaire normal, s'élargissent, pénètrent dans le derme, prennent un aspect papillomateux (*pa* fig. 1, *b*, *h* fig. 2) à cellules sombres, colorées et présentant un grand nombre de mitoses (fig. 2) dans la profondeur (Weigert, Guarnieri, Unna), et vers la surface un processus de kératinisation prononcé (fig. 2 et 3). En approchant du centre, ces bourgeonnements épithéliaux s'élargissent, formés de cellules de plus en plus volumineuses et claires (hypertrophie demi-claire, hypertrophie claire), puis se confondent en un grand placard central de cellules de grande taille, complètement claires (hypertrophie claire colossale); vers la surface, les cellules subissent une dégénérescence kératique partielle (dégénérescence kérato-hydropique) ou une transformation cornée lamelleuse (fig. 2 et 3).

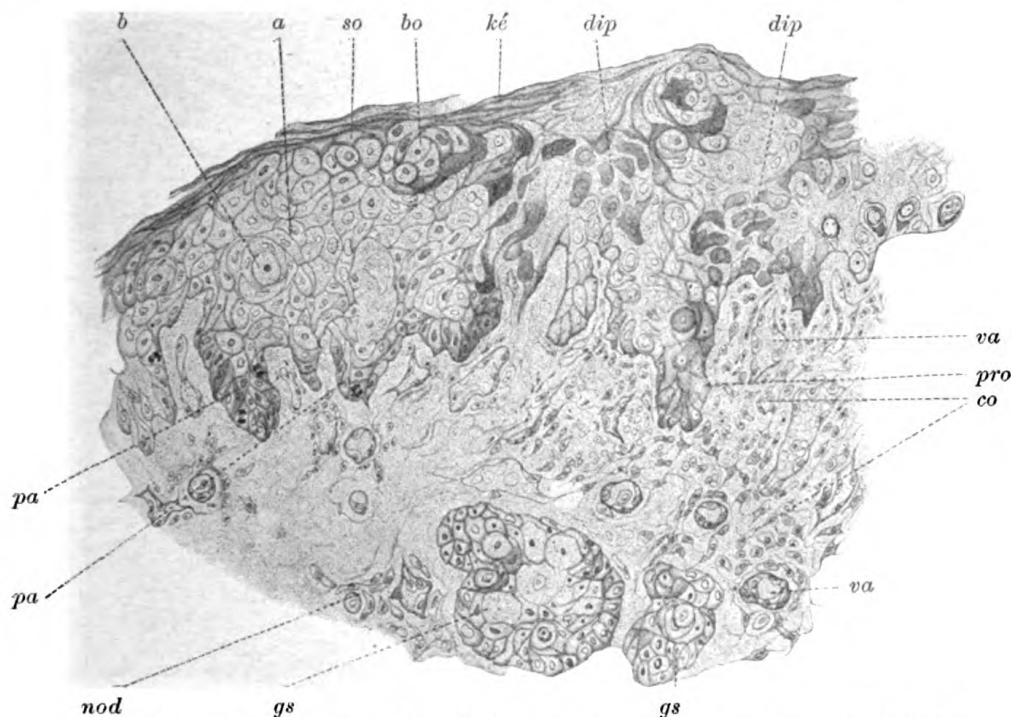


Figure 1. Papule avec dégénérescence vitreuse ou diphthéroïde initiale. *a* prolifération avec hypertrophie claire; *b* sphérule épidermique; *bo* sphérule épidermique avec cellules périphériques en dégénérescence colloïde; *dip dip* foyers de dégénérescence diphthéroïde; *ké* transformation kératique; *pro* bourgeonnements épithéliaux profonds; *gs gs* glandes sudoripares proliférées avec retour des cellules au type malpighien; *va* vaisseaux avec endoperivascularite; *co* prolifération conjonctive.

La nappe des grandes cellules claires centrale qui repose sur la prolifération dermique qu'elle pénètre d'une façon irrégulière comme le cancer (Bradford et Plimmer), est formée dans sa partie médiane, la plus ancienne, d'énormes cellules désorientées en dégénérescence progressive et qui ont, au plus haut degré, les caractères des cellules néoplasiques (fig. 1). Ces cellules malades se reproduisent par division directe ou par des mitoses irrégulières et cela non seulement dans la partie bordante profonde mais encore dans toute l'épaisseur de la néoformation. La papule variolique ne s'accroît donc pas uniquement aux dépens des cellules normales de la périphérie mais surtout aux dépens des cellules néoformées malades et, en cela encore, cette néoformation se rapproche des proliférations néoplasiques cancéreuses.

Grâce à l'hypertrophie inégale des grandes cellules claires de la nappe centrale, grâce aux karyokinésés désorientées de la couche profonde, et à la pénétration, dans la masse, des cellules en hypertrophie progressive venues de la profondeur, il se produit une désorientation susceptible d'aboutir à la formation de sphérules et de globes épidermiques et à la compression des cellules intermédiaires (*b*, *bo* fig. 1). Celles-ci subissent une transformation kératique partielle ou totale et donnent naissance à des tractus

qui rejoignent la zone de dégénérescence kérato-hydropique de la surface. Le processus de kératinisation est très prononcé à la surface: au dessous de l'épaisse couche lamelleuse en desquamation, il existe des cellules aplaties, puis des cellules qui ont subi à la fois une transformation claire et une kératinisation active de sorte qu'elles sont fortement colorées sur les bords avec un centre clair, présentent un noyau homogène ou sont dépourvues de noyau (so fig. 1, r fig. 2), et ont l'apparence de cellules cornées - soufflées (dégénérescence kérato-hydropique). En outre, on peut dire, que presque

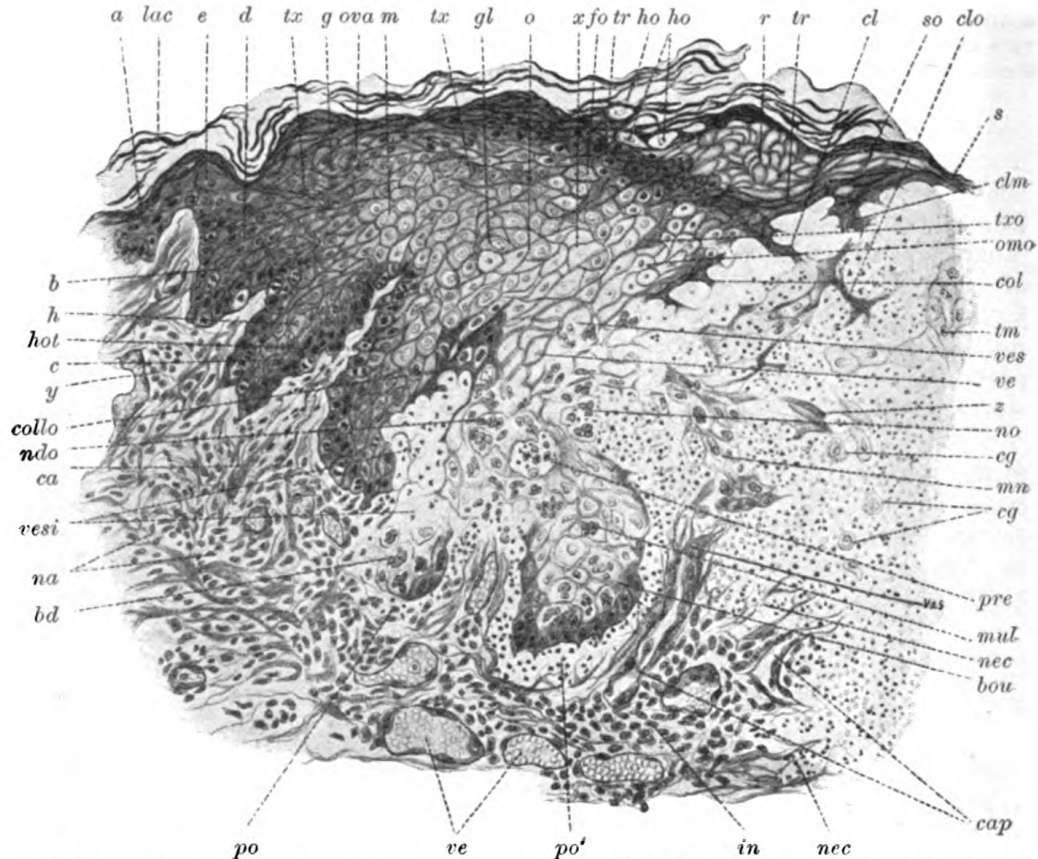


Figure 2. Pustule de variole. *a* espaces épithéliaux interpapillaires normaux; *b* bourgeonnements épithéliaux qui en *c* deviennent plus volumineux et plus profonds et qui en *hot* s'enfoncent profondément en larges nappes dans le tissu conjonctif; *lac* desquamation lamelleuse; *d* cellules en hypertrophie sombre; *m* cellules en hypertrophie demie claire; *o x* cellules en grande hypertrophie claire; *tx tx tr tro* tractus de cellules kératinisées; *ho ho* grandes cellules claires en élimination superficielle; *r* cellules cornées soufflées; *s* partie la plus mince du toit; *gl* sphérules épidermiques; *m* partie en transformation claire qui pénètre comme un coin dans la prolifération sombre périphérique et dans l'axe des bourgeons profonds (*h hot*); *ve* cellules végétales; *mul ndo* cellules à noyaux multiples; *no* noyaux multiples libres sur les bords de la vésicule; *pre* petite vésicule; *resi* vésicule qui communique avec une désintégration du tissu conjonctif autour des bourgeonnements épithéliaux profonds (*po po'*); *z mn* restes de cellules en dégénérescence kératique; *cg cg* grandes cellules rondes en dégénérescence utriculaire et isolées; *vas* vaisseau sanguin en voie de nécrose; *in na* neoformation conjonctive variolique.

toutes les cellules en grande hypertrophie claire ont subi une transformation kérato-colloïde de leur protoplasma périphérique et des filaments de passage dissous et fusionnés de sorte que ces cellules apparaissent entourées par une paroi épaisse et homogène, très fortement colorée par l'hématoxyline ferrique, le picro-indigo-carmin... (fig. 1, 2, 3, 5).

La papule variolique est donc formée dans sa partie épithéliale, la plus importante, par une masse centrale de cellules claires désorientées qui s'étale comme une sorte d'éventail dont le manche repose, au centre, sur le derme, et dont les angles

s'enfoncent comme un coin dans la partie moyenne de la prolifération sombre des jeunes cellules de la périphérie. Comme ce processus s'étend du centre vers les bords, les lésions cellulaires seront d'autant plus avancées que l'on s'approchera de la partie centrale, ce que Cornil (3, 18, 24) avait déjà noté en 1866.

Ces lésions d'hypertrophie claire et de dégénérescence granulo-aqueuse et kératique, toutes prépondérantes quelles qu'elles soient, ne sont pas les seules: dans le centre de la papule on peut observer certaines lésions initiales, c'est-à-dire produites dès les premiers moments de la pénétration du virus, au maximum de sa virulence, dans

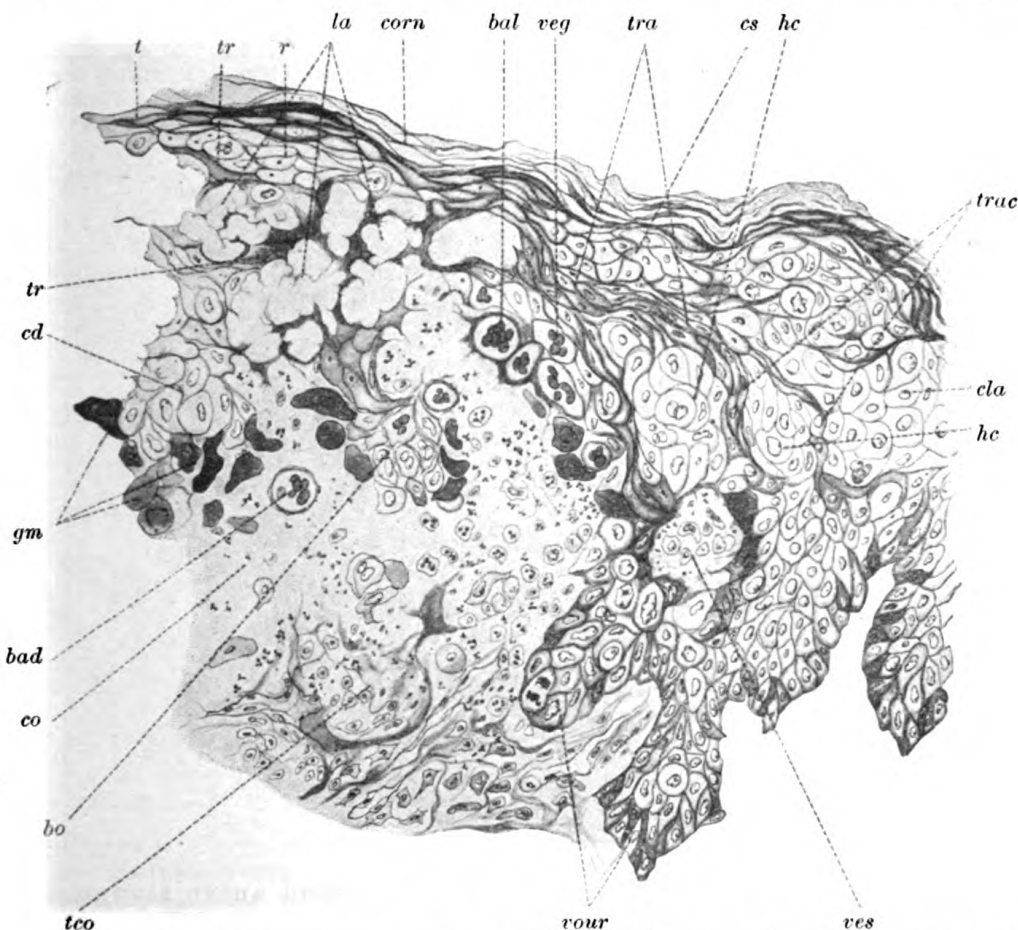


Figure 3. Pustule avancée. *t* partie centrale mince du toit; *la* formations lacunaires alvéolaires dues à la destruction des cellules entre les tractus kératinisés (*tr tr*); *tra trac* tractus kératinisés secondaires et tertiaires, limitant de grands espaces de cellules en grande hypertrophie claire (*hc hc*), ou des cellules cornées soufflées (*cs*); *cd* restes de cellules en hypertrophie claire à disposition sphérolaire entourés de cellules en dégénérescence colloïde (*gm*); *veg* grandes cellules végétales; *bal* grandes cellules soufflées à noyaux discoïdes homogènes; *bad* grande cellule soufflée kystiforme isolée; *ves* petite vésicule; *bour* bourgeonnements épithéliaux profonds périphériques; *tco* prolifération conjonctive en voie de dégénérescence.

l'épithélium normal. On trouve, mélangées aux grandes cellules claires du centre et de la profondeur, des cellules ayant subi une dégénérescence vitreuse qui les a figées dans leur forme et sous un volume variable suivant qu'elles ont été atteintes avant ou après un certain degré de prolifération hypertrophique. Ces cellules en dégénérescence vitreuse sont isolées ou forment des amas (*dip, dip* fig. 1) d'étendue variable: elles sont opaques, homogènes, très colorées et parfois métachromatiques et leur noyau subit une homogénéisation totale; parfois elles siègent au centre des sphères épidermiques. Elles se séparent des grandes cellules claires, se dissocient les unes des autres de sorte qu'il se produit de petits foyers de désagrégation (*dip, dip* fig. 1) qui peuvent constituer l'extrême début de la transformation vésiculaire. Ces

lésions sont bien celles décrites par Weigert (13, 16) sous le nom de nécrose initiale, dans la partie centrale et profonde de la papule: cellules devenues mates, gonflées, avec des noyaux d'abord hyperchromatiques puis impossibles à colorer, rappelant les cellules vitreuses de la pseudo-membrane diphtérique, d'où le nom de dégénérescence diphtéroïde.

Ces petits foyers de dégénérescence vitro-colloïde constituent donc le foyer primaire de la lésion autour duquel peuvent se développer encore, des lésions de dégénérescence vitreuse de certaines cellules déjà hypertrophiées, mais autour duquel les cellules subissent surtout l'hypertrophie claire colossale, la dégénérescence utriculaire, une désorientation plus ou moins marquée. On observe aussi des inclusions d'une cellule

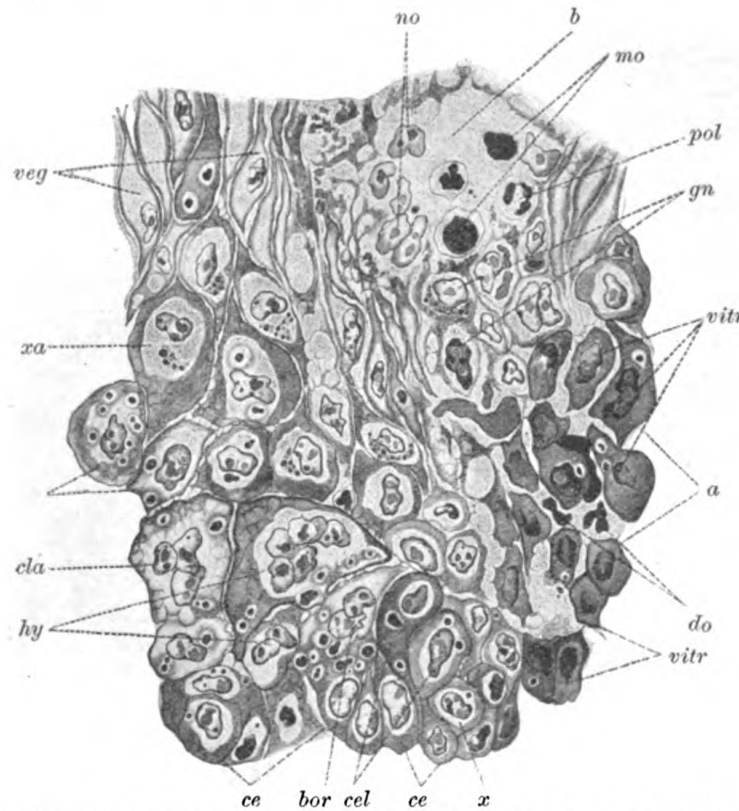


Figure 4. Bourgeonnement épithélial profond au voisinage de la cavité de la vésico-pustule, à un fort grossissement. *a* cavité de la grande vésicule bordée de plusieurs rangées de cellules en dégénérescence vitro-colloïde (*vit vit*); *po po* leucocytes polynucléaires infiltrés; *b* petit vésicule renfermant des mononucléaires (*mo*), des polynucléaires (*pol*), des noyaux (*no*); *gn* cellules bordant la petite vésicule et en dégénérescence spéciale granuleuse des filaments de passage et de la périphérie; *veg* cellules en dégénérescence kératohydropique; *ce ce* cellules récemment proliférées; *cel* cellules en hypertrophie sombre; *hy hy* cellules en hypertrophie demie claire et multinucléée *cla* cellule en hypertrophie claire et multinucléée.

épithéliale dans une autre et souvent des cellules épithéliales multinucléées déjà signalées par Weigert et qui peuvent prendre l'aspect de cellules géantes. On ne trouve aucun leucocyte dans toute l'étendue de la prolifération épithéliale non vésiculée.

Lésions conjonctives. Le derme situé au dessous de la prolifération épithéliale présente des lésions cellulaires qui augmentent d'intensité du centre vers la périphérie. Les papilles étirées et la partie superficielle du derme sont parcourues par des vaisseaux dilatés (*va, va* fig. 1) dont l'endothélium proliféré et hypertrophié fait saillie dans la lumière; autour de ces vaisseaux existe une néoformation des cellules conjonctives fixes qui se disposent en forme de manchon ou de nodule [nodules perivasculaires (*co* fig. 1)]. À la périphérie de ces nodules, les espaces conjonctifs sont de plus en plus dilatés par la pénétration des cellules conjonctives néoformées qui dissocient

et font disparaître le tissu dermique. Les vaisseaux lymphatiques sont dilatés et ont un endothélium saillant. Les glandes sébacées subissent un processus de prolifération de leurs cellules épithéliales périphériques avec retour au type malpighien et hypertrophie claire progressive (*gs, gs* fig. 1).

2) Vésico-papule. La petite vésicule claire qui se forme à la surface de la papule se développe uniquement aux dépens des grandes cellules claires de la prolifération épithéliale centrale. Au niveau des cellules en hypertrophie claire colossale, le protoplasma clair, très réfringent, subit une fonte granulo-aqueuse qui laisse voir un fin réticulum protoplasmique lequel se désagrège à son tour. Il se produit ainsi des vacuoles qui augmentent jusqu'à dégénérescence totale granulo-aqueuse de la cellule tandis que le noyau simple ou les noyaux multiples deviennent vésiculeux, arrondis ou ratatinés ou homogènes, et que la partie périphérique unie aux filaments de passage dissous forme une membrane épaisse, bien colorée. Ces cellules dont le protoplasma est détruit et la paroi très épaisse constituent les cellules utriculaires dont la membrane kératinisée entre en coalescence complète avec celle des cellules voisines de

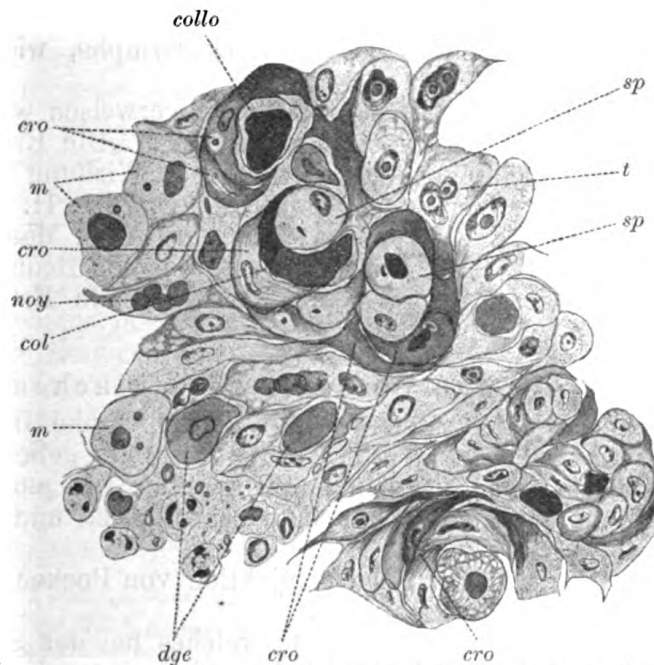


Figure 5. Formation de sphérules épidermiques dans la prolifération malpighienne. *sp sp* grandes cellules centrales en hypertrophie claire des sphérules; *col* cellules en dégénérescence colloïde-cornée à la périphérie ou au centre (*collo*) des sphérules; *cro cro cro* cellules cornées en forme de croissant; *dgc* cellules en dégénérescence colloïdale isolées; *m m* grandes cellules claires.

façon à former un réseau que l'on a comparé à un réseau de cellules végétales. Ces parois cellulaires se détruisent progressivement, les cavités utriculaires s'ouvrent les unes dans les autres et ainsi se forme la vésicule primaire, intraépithéliale et qui ne renferme que du liquide clair et dépourvu d'éléments figurés, sauf des fragments de noyau et quelques rares mononucléaires. Cette dégénérescence cavitaire entraîne la désagrégation des cellules en transformation vitreuse ou colloïdale très résistantes et qui ne se détruisent que lentement dans la vésicule.

Cette petite vésicule s'agrandit donc autour d'un centre qui est le point d'entrée du virus dans l'épithélium et aux dépens des cellules utriculisées et des énormes cellules épithéliales en grande hypertrophie claire.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.***Experimentelle Untersuchungen über die Kuhpockenlymphe.**

[Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik der Universität zu Gent und des Laboratoriums des „Hôpital Civil“.]

Von **H. De Waele** und **E. Sugg.**

Mit 18 Kurven.

So zahlreiche experimentelle Untersuchungen über die Kuhpockenlymphe auch gemacht sind, so wurden wir doch im Laufe unserer Arbeiten über Variola und Vaccine dazu geführt, einen Teil der schon früher gemachten Versuche wieder aufzunehmen und sie weiter auszubauen, um so auf unser Hauptthema, das Studium des *Streptococcus variolo-vaccinalis* in der Pockenlymphe, wieder zurückzukommen.

Für die in dieser Arbeit zitierten Autoren verweisen wir auf unsere frühere in dieser Zeitschrift erschienene Arbeit: „Die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen einer pathogenen Wirkung des Blatternvirus und der Kuhpockenlymphe.“ Sammelref. von Dr. H. De Waele.

Herr J. Van de walle, Veterinärarzt und Chef des städtischen Schlachthofes zu Gent, hatte die Güte, uns bei der Beobachtung und Ueberwachung der Tiere durch seine hervorragende Erfahrung und liebenswürdige Hilfe zu unterstützen.

**A. Variola und Vaccine bei Kaninchen.**

I. Unsere Versuche, Kaninchen mit Pockenlymphe intrakutan zu impfen, haben nur sehr wenig interessante Resultate geliefert. In der Hauptsache sind sie negativ, manchmal konnten wir am 3. Tage die Bildung von Papeln beobachten, die dann schrumpften und am 6. Tage abgeheilt waren.

Die Wirkung der subkutanen Injektion von Pockenmaterial war abhängig von der verwendeten Menge.

Die Einspritzung von  $\frac{1}{2}$  ccm Blut, welches bei der Sektion eines Pockenfalles (Fall 31) entnommen war, blieb bei einem Kaninchen von 1500 g Gewicht ohne Wirkung. Eine Quantität von 2 ccm, die unter denselben Bedingungen injiziert wurde, rief eine leichte lokale Anschwellung hervor, welche 8 Tage lang bestand; das während der ersten 2 Tage kranke Tier erholte sich, ging aber allmählich an einer deutlichen Abmagerung zu Grunde.

Die subkutane Injektion einer ebensogroßen Menge Milzpulpa ergab bei einem Kaninchen von 3500 g eine lokale Schwellung und machte das Tier während der ersten Tage krank. Dann trat eine so beträchtliche Abmagerung ein, daß das Tier am 9. Tage nur noch 2700 g wog; die Kachexie nahm zu und das Tier starb nach 15 Tagen. (cf. Zagari, Roger und Weil.)

Bei einem ebenso schweren Kaninchen führte eine Dosis von 5 ccm Milzpulpa nach 3 Tagen den Tod herbei. Aus dem Herzblut wurde ein *Streptococcus* in Reinkultur gezüchtet, mit allen Eigenschaften des *Streptococcus*, den wir in unseren früheren Arbeiten unter dem Namen des *Streptococcus variolo-vaccinalis* beschrieben haben. (Uebrigens wissen wir schon aus unserer ersten Arbeit, daß dieser *Streptococcus variolo-vaccinalis* konstant in der Milz der an Pocken gestorbenen Patienten vorkommt.)



Wir wollen hier noch hinzufügen, daß wir in der Hoffnung, die interessante Beobachtung von Calmette und Guérin bestätigen zu können, in allen Fällen die Tiere auf dem Rücken rasiert haben in den der Infektion folgenden 24 Stunden; es war uns dabei nicht vergönnt, den Ausbruch einer Eruption zu beobachten.

II. Unsere Resultate der intrakutanen Einimpfung von Kuhpockenlymphe bei Kaninchen stimmten in allen den Fällen, in denen sie gelangen, mit der Beschreibung von Calmette und Guérin überein; wir fanden weiterhin, daß bei den Tieren große individuelle Verschiedenheiten vorkommen.

Die intravenöse Einimpfung selbst großer Quantitäten (z. B. einer Dosis für 20 Personen) wurde sehr gut vertragen; sie scheint Immunität herbeizuführen; jedoch müssen wir bemerken, daß die Empfänglichkeit der von uns verwendeten Kaninchenarten sehr verschieden war.

### B. Variola und Vaccine bei der Ziege.

Versuche, Ziegen mit Pockenstoff oder Kuhpockenlymphe durch Incision zu impfen, ergaben absolut negative Resultate.

Den Beobachtungen entsprechend von Dr. Amerlinck, Arzt im Kongostaat, der in Zambé (Kongo) die Ziege zur Lymphlieferung benutzt hatte, wiederholten wir die Versuche, indem wir die Kuhpockenlymphe durch sehr oberflächliche Skarifikationen einimpften und erhielten so ein befriedigendes positives Resultat.

Folgende Beobachtung ist interessant: Während die Vaccine beim Kalb in dem Serum des Tieres intensive Agglutinationserscheinungen auf den *Streptococcus variolo-vaccinalis* hervorruft, erreicht dieselbe bei der Ziege nur einen sehr geringen Grad<sup>1)</sup>.

Wirkung des Blutserums der Ziege X; 8 Tage nach der Vaccination

auf den <i>Streptococcus</i> Fälle	31	50	60	80
Verdünnung 1: 6	++	+	+	+
1: 12	+	+	+	+
1: 25	+	+	+	+
1: 50	+	+	+	+
1: 100	—	—	—	—
1: 200	—	—	—	—
1: 400	—	—	—	—
1: 800	—	—	—	—
Kontrollversuch	—	—	—	—

Man kann diese Resultate vergleichen mit der analogen Erfahrung, die wir nach mehrfachen Injektionen von Kulturen des *Streptococcus variolo-vaccinalis* zu Immunisierungszwecken gemacht haben: auch hierbei reagierte die Ziege unverhältnismäßig viel weniger als das Kalb.

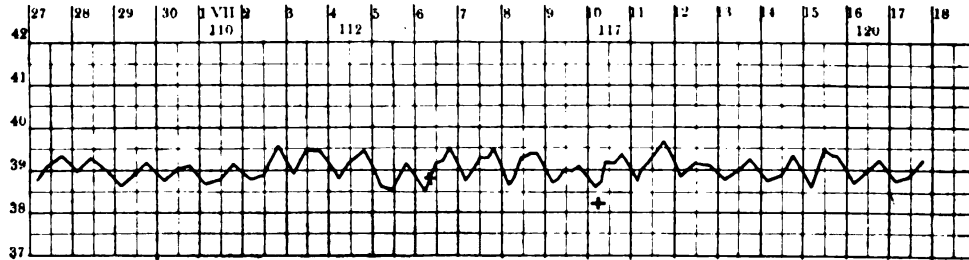
Wir zogen es deshalb vor, in der Folge unsere Versuche nicht an diesem Tier anzustellen.

### C. Intrakutane Impfung von Kuhpockenlymphe beim Kalb.

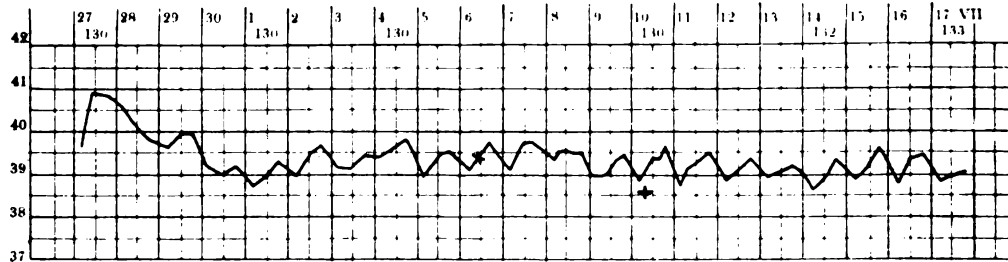
Es ergibt sich aus der Literatur, daß die Steigerung der Körpertemperatur beim Kalb nach der Impfung mit Vaccine sehr gering oder

1) Conf. De Waele et Sugg, Etude sur la variole et la vaccine. [II<sup>me</sup> partie.] (Arch. intern. de pharmacodynamie et de therapie. Vol. XIII. 1904.)

gar nicht vorhanden ist und keine besonderen Eigentümlichkeiten zeigt, wie man an den beiden Temperaturkurven sieht, die zum Vergleich dienen sollen mit den folgenden<sup>1)</sup>, ebenso wie mit denjenigen, welche wir in einer späteren Arbeit veröffentlichen werden.

Kalb 10, Serie A<sup>2)</sup>.

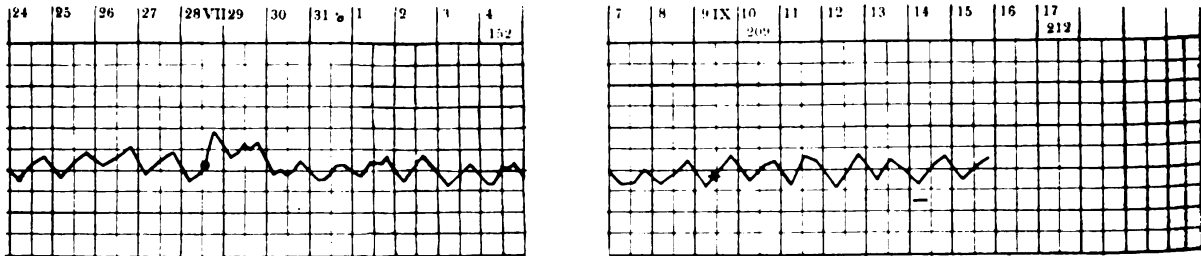
Kalb 11, Serie A.



#### D. Subkutane Injektion von Vaccine beim Kalb.

Wir wollen kurz noch eine Beobachtung bestätigen, die schon Chauveau, Beclère-Chambon und Ménard festgestellt haben: nämlich daß die Injektion von frischer mit Glycerin versetzter Vaccine eine ziemlich bedeutende Temperatursteigerung hervorruft, ja sogar zur Eiterbildung führt, während die lokale Reaktion auf ältere glycerinierte Lymphe sehr gering ist.

Kalb 19, Serie A.



28. Juli. Subkutane Injektion von Vaccine (Dosis für 20 Personen, in physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, ergab in der Kultur nur ganz wenige Staphylokokken). Temperatur siehe die Kurve. Am 4. Tage macht man eine Probepunktion mit der Spritze; auf der Agarplatte entwickeln sich viel Streptokokken, Staphykokken und einige wenige Pseudodiphtheriebacillen. Man isoliert 2 Streptokokkenkulturen a und b, mit welchen Agglutinationsversuche gemacht werden, um ihre Identität festzustellen.

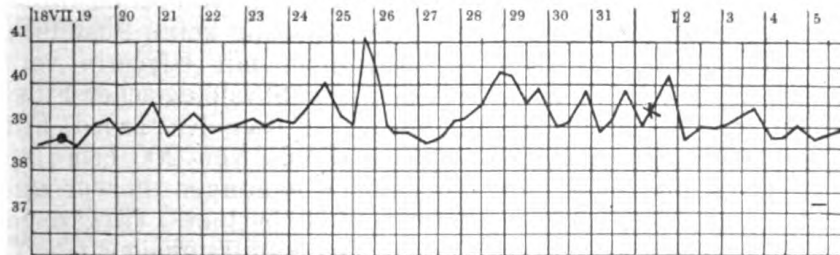
1) Abkürzungen an den Figuren • = Injektion, X = Vaccination, +, - = positives oder negatives Resultat der Vaccination. Die obere Reihe der Zahlen gibt die Daten an, die untere Reihe das Körpergewicht der Tiere.

2) Die Tiere der Serie A sind dieselben, um die es sich in unserer Arbeit „Etude sur la variole et vaccine, II<sup>me</sup> partie“ handelt.

Wirkung des Blutserums von Kalb 36. Serie B. (vacciniert)

auf den Streptococcus	a	b	Brüsseler Lymphe 2810	Pockenfall 108
Verdünnung 1: 6	+++	+++	+++	+++
1: 12	+++	+++	+++	+++
1: 25	+++	+++	+++	+++
1: 50	+++	+++	+++	++
1:100	++	++	+++	++
1:200	+	+	++	+
1:400	—	—	+	—
1:800	—	—	+	—
Kontrollversuch	—	—	—	—

Kalb 35, Serie B.



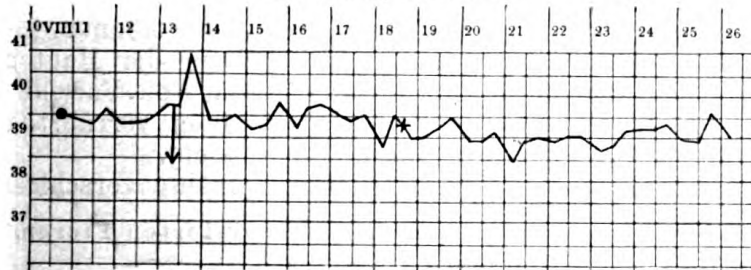
18. Aug. Subkutane Injektion von Vaccine (Dosis für 130 Personen), frisch, nicht mit Glycerin versetzt. Sie ist bei dem im folgenden Kapitel geschilderten Versuch auf dem Filter zurückgeblieben. Man beobachtet eine lokale, jedoch ziemlich wenig hervortretende Anschwellung. Der weitere Verlauf ruft bei dem Tier keine besonderen allgemeinen Erscheinungen hervor.

Der wie immer am 4. Tage abgenommene Eiter enthält viele Streptokokken und Staphylokokken und wenig Bacillen.

Die Temperaturkurve zeigt einen geringen Aufstieg im Anfange, wie in dem vorigen Falle; hierauf folgt eine stärkere Steigerung am Ende des 7. Tages im Moment der stärksten lokalen Reaktion.

Eine am 14. Tage vorgenommene Kontrollimpfung blieb negativ.

Kalb 38, Serie B.



10. Aug. Wir wollen hier die Ergebnisse von einem Versuch benutzen, den wir später schildern werden: eine sehr geringe Quantität Vaccine, die in Schilfsäckchen eingeschlossen ist, wurde unter die Haut eines Kalbes untergeschoben. Am 6. Tage wurde ein Säckchen zerplatzt aufgefunden. Der Versuch dürfte also einer subkutanen Infektion mit einer sehr geringen Menge Vaccine entsprechen. Die lokale Reaktion ist gering, die Temperaturkurve nur wenig auffallend. Eine am 8. Tage ausgeführte Kontrollimpfung ergab ein negatives Resultat.

E. Versuche mit dem Filtrat von Vaccine.

Zu wiederholten Malen haben wir Vaccine der Filtration mit dem Chamberland-Filter F unterworfen, dem in Laboratorien üblichen Modell und dem großen Modell.

Ia. Es wurde verwendet 1) belgische mit Glycerin versetzte Vaccine, die 1 bis 2 Monate aufbewahrt war; letztere ergab auf Agarplatten nur wenige Staphylokokkenkolonien.

Ib. 2) Belgische Vaccine, wie sie abgenommen wird, ohne Glycerinzusatz, nicht verrieben, wie sie Professor de Give, Direktor der tierärztlichen Schule und des staatlichen Lymphinstitutes, sie uns lebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt hatte. Diese Vaccine ergab bei der Kultur zahlreiche Arten von Bakterien, darunter auch den *Streptococcus variolo-vaccinalis*.

In allen Fällen wurde die Vaccine von neuem im Mörser zerrieben und vor der Filtration mit dem 2- bis 5fachen Volumen einer sterilen physiologischen Kochsalzlösung verdünnt. Niemals rief die Impfung dieses Filtrats Eruptionen beim Rindvieh hervor.

II. Vaccine wird mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 1 zu 10 verdünnt und zentrifugiert. Die so von allen festen Bestandteilen befreite Flüssigkeit ruft bei der Impfung keine Pusteln hervor.

III. Das Filtrat von 15 g frischer, nicht mit Glycerin versetzter Vaccine (Ib) wird sehr sorgsam mit 200 ccm physiologischer Flüssigkeit verrührt und durch das große Modell des Chamberland-Filters F filtriert und dann einem Kalbe in einer Dosis von 200 ccm injiziert; sie ruft keine lokalen oder allgemeinen Erscheinungen hervor und eine Kontrollimpfung zeigt, daß keine Immunität besteht. (Ergänzung des Versuches Ib.) (Cf. unten: Versuche mit Oedemflüssigkeit.) (Cf. Casagrandi.)

#### F. Immunisierung durch die Methode mit den Säckchen.

Um genauer festzustellen, welche Rolle bei der lokalen Affektion und bei dem Hervorrufen der aktiven Immunität die durch die Filtration eliminierbaren festen Körper spielen, verwandten wir die Methode mit den Kollodiumsäckchen oder vorteilhafter die Säckchen aus dem im Innern des Schilfes befindlichen Häutchen, da letztere fester sind.

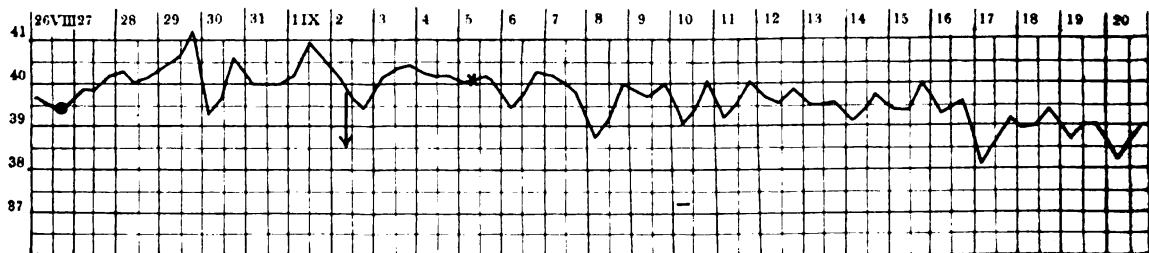
Wir bedienen uns auch der Cellulosesäckchen aus der Fabrik von Leune in Paris. In ihrer Dialysierbarkeit entsprechen sie genau den Schilfrohrsäckchen, wovon wir uns durch eine Reihe von Versuchen mit Fermenten, Eiweißstoffen u. s. w. haben überzeugen können.

Wir führten bei Kälbern in durch Abhebung der Haut gebildeten Taschen Säckchen mit höchst geringer Quantität von Vaccine ein (eine kleine Oese von Vaccine wurde in 5 ccm Bouillon verrührt und jedes Säckchen enthielt  $\frac{1}{8}$  bis  $\frac{1}{2}$  ccm dieser Suspension).

Die Wunde wurde dann durch zwei Knopfnähte verschlossen.

#### A. Versuche an vorher nicht immunisierten Tieren.

##### I. Kalb 42, Serie B.



Am 26. Aug. 1904 verleihte man diesem Kalbe zwei Rohrsäckchen ein, die kleine Quantitäten Brüsseler Vaccine (am 10. Aug. 1904 entnommen, nicht mit Glycerin versetzt und auf Eis aufbewahrt) in Bouillon suspendiert enthielten.

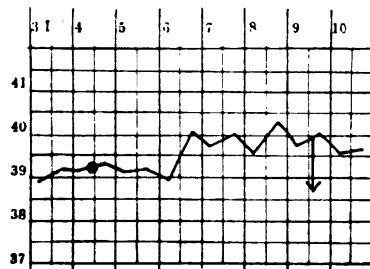
Am Ende des 2. Tages zeigt sich an der Stelle der subkutanen Taschen eine harte Verdickung, die Schwellung nimmt zu, erreicht die Größe eines Hühnereies und zeigt Fluktuationen. Am Abend des 4. Tages steigt die Körpertemperatur des Tieres auf 41,4°.

Am 7. Tage werden die Säckchen wieder herausgenommen. Nachdem man die Nähte entfernt hat, quillt beim Auseinanderziehen der Wundränder ein dicker, krümliger Eiter hervor.

Die am 10. Tage, d. h. 3 Tage nach der Entfernung der Säckchen, ausgeführte Kontrollimpfung bleibt negativ.

Wie man aus der Fieberkurve ersieht, bleibt die Temperatur des Tieres etwas erhöht bis nach der Entfernung der Vaccine; dieser Abfall entspricht der Heilung der durch die Einverleibung der Säckchen hervorgerufenen lokalen Verletzung.

II. Kalb 7, Serie B.



4. Jan. 1904. Dieses Tier erhält einerseits Schilfsäckchen, die mit frischer und alter, mit Glycerin versetzter Brüsseler Lymphe versehen sind, andererseits alte, mit Glycerin versetzte Schweizer Vaccine.

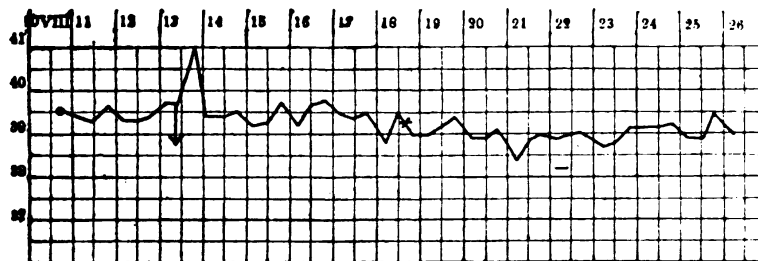
Vom 2. Tage ab wird eine lokale Reaktion sichtbar, die allmählich zunimmt; die Anschwellung erreicht die Größe eines kleinen Hühnereies bei der alten mit Glycerin versetzten Brüsseler und Schweizer Lymphe, sie hat mindestens das dreifache Volumen bei der frischen Lymphe.

Die Säckchen werden am 5. Tage entfernt. Beim Oeffnen der Wunde kommt eine geringe Quantität serös-eitriger Flüssigkeit aus den beiden ersten Hauttaschen hervor, an der dritten Tasche dagegen rein eitrige.

Die Körpertemperatur des Tieres stieg vom 3. Tage etwas an und fiel nach der Entfernung der Säckchen auf die normale Höhe.

Die am 8. Tage ausgeführte Kontrollimpfung blieb negativ.

III. Kalb 38, Serie B.



10. Aug. 1904. An zwei Stellen führt man 4 Schilfsäckchen ein, welche frische, nicht mit Glycerin versetzte Brüsseler Lymphe in äußerst geringer Menge enthalten.

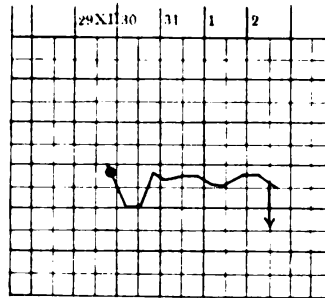
Ziemlich wenig ausgedehnte, lokale, eitrige Reaktion.

Die Körpertemperatur des Tieres steigt am 3. Tage, gleichzeitig werden 2 Säckchen entfernt. Die Temperatur fällt, aber man konstatiert am 6. Tage, daß die beiden letzten Säckchen, die man erst später hatte entfernen wollen, durch das Tier zerrissen worden sind (cf. oben).

Die Kontrollimpfung, die am 8. Tage ausgeführt wurde, blieb negativ.

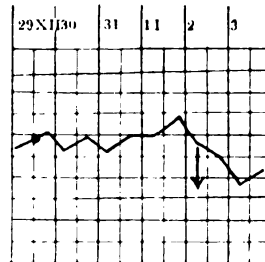
IV. Kalb 46, Serie B.

8. Okt. 1904. Auch hier wurden unter die Haut zwei Schilfsäckchen eingeführt, die Brüsseler und Schweizer mit Glycerin versetzte Lymphe enthielten; nach 3 Tagen wurden sie entfernt.



Die am 8. Tage ausgeführte Kontrollimpfung ergab, daß die Immunität erreicht war.

V. Kalb 8, Serie B.



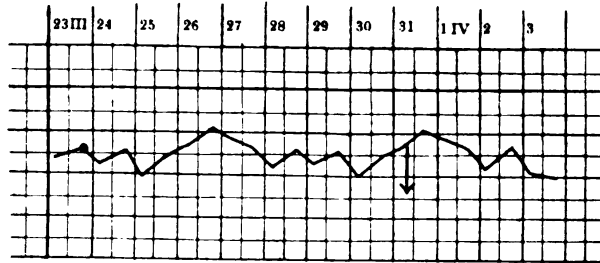
29. Dez. 1903. Derselbe Versuch wie vorher wird mit mit Glycerin versetzter Brüsseler und Schweizer Lymphe ausgeführt, die aber schon lange Zeit aufbewahrt ist. Die Säckchen wurden am 2. Jan. 1904 entfernt.

Die lokale Reaktion ist gering, ebenso auch die Temperatursteigerung am 3. Tage.

Die am 10. Tage vorgenommene Kontrollimpfung ergibt das Vorhandensein von Immunität.

B. Versuche an vorher vaccinierten Tieren.

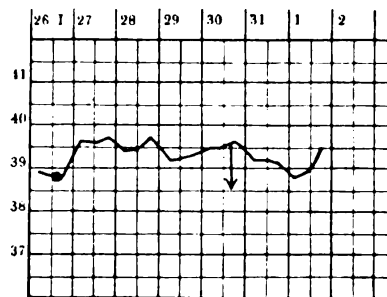
VI. Kalb 13, Serie A.



23. März 1904. Die Säckchen enthalten Brüssler mit Glycerin versetzte Lymphe. Im Gegensatz zu den Beobachtungen an vorher nicht geimpften Tieren ist hier die lokale Reaktion noch am 4. Tage sozusagen gleich Null; die Säckchen werden bis zum 8. Tage liegen gelassen, ohne jedoch eine bemerkbare Anschwellung in der Gegend hervorzurufen.

Die Temperatur des Tieres steigt am 3. und 4. Tage etwas an, ebenso wieder am 8. Tage.

VII. Kalb 48, Serie B.



26. Jan. 1905. Bei diesem Versuche bediente man sich der Cellulosesäckchen (Leune) und der Vaccine M und W, die mit Glycerin versetzt und 3 und 4 Monate alt war.

Die Säckchen wurden am 4. Tage entfernt, die lokale Reaktion ist sehr gering. Die Temperatur des Tieres zeigt nur sehr geringe Reaktion.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß bei dem Tiere die subkutane Einverleibung von Schilfsäckchen mit sehr geringen Quantitäten von Vaccine genügt, um in der gewöhnlichen Zeit Immunität hervorzurufen.

Diese Immunität wird also hervorgerufen durch Substanzen, die durch die Tätigkeit spezifischer Mikroorganismen erzeugt sind und die Eigentümlichkeit besitzen, auch ohne jeden Druck durch Cellulosemembranen zu diffundieren. Die kulturellen Resultate dieser Mikroorganismen, d. h. die Untersuchung des Inhalts dieser Säckchen werden wir im letzten Kapitel dieser Arbeit besprechen.

#### G. Immunisationsversuche mit Oedemflüssigkeit, die von den Mikroben befreit ist.

Die vorhergehenden Versuche zeigen die Wichtigkeit der durch Schilfmembranen diffundierbaren Stoffe zur Erzeugung der Immunität.

Wir sahen, daß diese Substanzen sich nicht in dem Filtrat der Vaccine wiederfinden, da dieses Filtrat keine Eruption hervorrufen und die Injektion desselben keine Immunität herbeiführt. Man könnte erwarten, daß man diese aktiven Substanzen im Augenblick der größten Wirksamkeit der Vaccineorganismen in der Oedemflüssigkeit wiederfinden müßte, welche sich nach einer scharfen oder subkutan ausgeführten Vaccination in der lokalen Schwellung ansammelt.

Eine ausgedehnte und tiefe Impfung mit ziemlich frischer Lymphe kann eine ziemlich große ödematöse Schwellung erzeugen. (Kalb 37, Serie B.)

Um eine noch reichlichere Oedemmenge zu erhalten, wurde eine Reihe von subkutanen Injektionen mit verdünnter Lymphe ausgeführt mittels zahlreicher kleiner, dicht aneinanderliegender Einstiche (Kalb 39, Serie B.)

Während der ersten 48 Stunden blieb die Temperatur des Kalbes normal (zwischen 38,9° und 39,2°). Die Oedemflüssigkeit wurde nach 48 Stunden entnommen, verrührt und von ihren Mikroben befreit durch Filtration oder durch langes Aufbewahren bei Gegenwart eines Antisepticum, Thymol z. B. Die Sterilität wurde durch Plattenkulturen festgestellt und durch Impfung in die Haut bei Rindern.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

## Notiz zur Entwicklung der *Taenia tenuicollis* Rud.

Von M. Braun, zoologisches Museum, Königsberg i. Pr.

Das Vorkommen von Tännien im Darm unserer Musteliden ist seit Goeze bekannt. Zur Zeit führen die Verzeichnisse fünf Arten an: 1) *Taenia intermedia* Rud., 2) *T. tenuicollis* Rud., 3) *T. crassicollis* Rud., 4) *T. brevicollis* Rud. und 5) *T. conocephala* Dies. Von den beiden letzteren Arten wissen wir sehr wenig, und es ist wohl möglich, daß eine oder beide, wenn einmal die Original Exemplare untersucht werden, als synonym zu den besser bekannten ersten drei Arten eingezogen werden. Von *T. intermedia* kennen wir wenig mehr als die Bewaffnung des Kopfes (Küchenmeister, Rud. Leuckart), während *T. tenuicollis* etwas ausführlicher durch Dujardin und R. Leuckart beschrieben worden ist. Letzterer war es auch, der von Küchenmeister in den „Gallengängen der Feldmaus“ gefundene und in der Literatur als „*Cysticercus innominatus hypudaei*“ gehende Cysticerken wegen der Identität der Haken als zu *Taenia tenuicollis* Rud. gehörig erkannte. Küchenmeister selbst berichtete später, daß derselbe *Cysticercus* auch bei *Talpa europaea* vorkommt.

Der Zufall führte mir im verflossenen Winter ein Hermelin (*Putorius ermineus* [L.]) aus der Umgebung von Tuchel (Westpreußen), und 2 Wiesel (*Putorius vulgaris* Briss.) aus der nächsten Umgebung Königsbergs zu. Bei der Untersuchung erwies sich ein Wiesel und das Hermelin mit Tännien behaftet; ich beschloß, den zweiten Fund — es handelte sich um *Taenia tenuicollis* Rud. — zu einem Fütterungsversuch an weißen Mäusen zu verwenden, nachdem gut ausgebildete Oncosphären in den letzten Gliedern aufgefunden waren. Drei weiße Mäuse, denen einige Stunden vor dem Versuche die Nahrung entzogen war, erhielten am 21. Nov. 1904 kleine, in Wasser eingeweichte Weißbrotstückchen, auf welche reife, im Uhrschälchen zerschnittene Proglottiden der erwähnten Tännie gestrichen waren. Die erste Maus wurde am 10. Januar 1905 getötet, ihre Leber enthielt sehr zahlreiche, zum Teil im Zerfall begriffene Cysticerken, deren Kopf einen nur erst aus Hakentuten bestehendem Hakenkranz besaß. Auch die zweite, am 28. Februar 1905 untersuchte Maus war infiziert; die ebenfalls nur in der Leber sitzenden Cysticerken waren klein, aber beinahe ausgewachsen, d. h. ihre Haken fast vollständig ausgebildet. Am 24. März 1905 wurde die dritte Maus getötet und ihre Leber gleichfalls mit Cysticerken besetzt gefunden, deren völlig ausgebildete Haken mit den vorliegenden Abbildungen der Haken von *Taenia tenuicollis* (R. Leuckart, Dujardin) genau übereinstimmten. Die Finnen selbst waren nur wenig gewachsen.

Die Absicht, nunmehr aus den Finnen durch Verfütterung an Musteliden wiederum die Tännie zu erziehen, konnte nicht ausgeführt werden.

Die Resultate der genaueren Untersuchung an *Taenia tenuicollis* und ihren in weißen Mäusen erzeugten Finnen werden an anderer Stelle veröffentlicht werden.

Königsberg i. Pr., 27. März 1905.



**Wichtigste Literatur.**

- Goeze, J. A. E., Versuch einer Naturgeschichte der Eingeweidewürmer tierischer Körper. p. 350. Blankenburg 1782.  
Rudolphi, C. A., Entozoorum s. vermium intestinalium historia naturalis. Vol. II. P. 2. p. 168. Amstelaedami 1809.  
— —, Entozoorum synopsis. p. 516 et 517. Berol. 1819.  
Dujardin, F., Histoire naturelle des helminthes. p. 558. Paris 1845.  
Leuckart, R., Die Blasenbandwürmer und ihre Entwicklung. p. 32 u. 69. Gießen 1856.  
Küchenmeister, Ueber Leptus autumnalis. (Amtl. Ber. üb. d. 32. Vers. Deutscher Naturforscher u. Aerzte in Wien [1856].) p. 254. 1858.

*Nachdruck verboten.*

## Der Mechanismus der natürlichen Immunität auf physiologischer Grundlage.

Von  
**Prof. R. Turró** und **A. Pi y Suñer,**  
Direktor des Laboratoriums der Acad. de ciencias Médicas de Cataluña. Professor an der medizinischen Fakultät zu Barcelona.

Aus dem Spanischen übertragen von Dr. Alfred Berliner, Berlin.

### I.

Die vorliegende Arbeit soll einige Experimente zur Lösung der Frage nach den physiologischen Vorgängen beim Zustandekommen der natürlichen Immunität bringen; zuvor halten wir es aber für erforderlich, im Einklang mit unseren früheren Publikationen unseren Standpunkt in der Frage nach dem wahren Ursprung der Alexine festzustellen.

Die Theorien aller Schulen über die natürliche Immunität sind in dem einen Punkte einig, daß der Organismus sich vor den Bakterien durch Verdauung derselben schützt. Mag nun dieser Vorgang im Leukocyten oder einem sonstigen Zellplasma oder aber im Innern des Blutes resp. in einer anderen bakteriziden Flüssigkeit sich abspielen, immer handelt es sich um chemische Prozesse, die ihrer zymotischen Natur nach auf einer Stufe stehen mit der Auflösung des Fibrins in Salzsäurelösung oder der Verdauung von Muskelbündeln im Trypsin.

Halten wir also daran fest, daß die Bakterienauflösung ein rein chemisches Phänomen ist, so drängt sich uns weiterhin die Frage auf, welcher Art die hierbei wirkenden Substanzen sind und wie sie die Bakterienverdauung bewerkstelligen. Die humoralpathologische Schule setzt dabei voraus, daß die besagten Stoffe im Serum enthalten sind; sobald sie aber einmal einer Vermehrung oder Verringerung fähig sind, können sie auch folgerichtigerweise nicht dem Serum entstammen und keinen integrierenden Bestandteil in seiner Zusammensetzung ausmachen, sie müssen vielmehr an anderen Orten sich bilden. Es ist weiterhin als unumstößlich anerkannt, daß ein in vitro oder post mortem gewonnenes Serum stärker bakterizid wirkt als unter physiologischen Verhältnissen (Metschnikoff, Roux, Lubarsch etc.).

Die phagocytäre Richtung gibt für das Phänomen folgende Erklärung: Es kommt zu einer Phagolyse innerhalb der polynukleären Leukocyten, derart, daß eine wirksame Substanz des Plasmas derselben sich im Serum auflöst und ihm auf diesem Wege bakteriolytische Eigenschaften mitteilt. Im Grunde genommen stellt daher die Verdauung des im Leukocyten

eingekapselten Bakteriums einen Vorgang dar, der in chemischer Beziehung identisch ist mit dem Prozeß der Bakterienverdauung durch das Serum *in vitro*. Nach dieser in der Tat annehmbaren und logischen Hypothese wäre also die lösliche Substanz, welche in der Zelle auf das Bakterium einwirkt, die gleiche wie die im salzhaltigen Medium gelöste, welche ja ebenfalls das Bakterium zerstört. Verschieden ist bei beiden Vorgängen nur der Ort, wo sich das Phänomen abspielt. Die Phagolyse stellt daher im Grunde genommen nichts anderes dar als die Art und Weise, in der eine Plasmasubstanz sich im Serum löslich macht, um dem letzteren bakteriolytische Eigenschaften mitzuteilen, die es vorher nicht oder nur in geringem Grade besaß.

Von dem Gedanken ausgehend, daß die bakterizide oder bakteriolytische Substanz nicht ursprünglich im Serum enthalten ist, sondern erst nach Abspaltung aus dem Plasma hineingelangt und sich im Serum als ihrem natürlichem Lösungsmittel auflöst, gelangten wir auf die Untersuchung über Herkunft oder Ursprung der Substanz. Zu Beginn unserer Arbeiten im Jahre 1898<sup>1)</sup> konnten wir uns bereits nicht verhehlen, daß der lediglich leukocytaire Ursprung der Alexine nicht bewiesen sei durch unumstößliche Tatsachen. Zwar hat die Phagocytenlehre nachgewiesen, daß der Leukocyt das Bakterium durch Einhüllung verdaut; bis zu einem gewissen Punkte ist auch der Beweis erbracht, daß die bakteriziden Eigenschaften des Serums *in vitro* aus einer Phagolyse hervorgehen; jedoch hat sie bisher niemals den Nachweis geführt, daß Schilddrüsen- und Muskelsaft oder irgend eine andere Gewebsflüssigkeit nicht ebenfalls bakteriolytisch wirken, und doch war dieser Nachweis absolut erforderlich, falls man den Alexinen nicht einen ausschließlich leukocytären Ursprung vindizieren wollte. Durch unsere Beweisführung können wir vielmehr zeigen, daß mehr oder weniger jedwedes Zellplasma dem der Leukocyten analoge Eigenschaften besitzt, wobei noch der Nachweis von Bedeutung wäre, wie diese Eigenschaften manifest werden.

Man stellt sich aus frischem Fleisch durch Auspressen Muskelsaft her oder den Saft der Thyreoidea aus zuvor zerkleinerten Drüsen und setzt ihm Milzbrandbacillen aus einer 24 Stunden alten Agarkultur zu: Nach 1—2 Tagen kann man dann beobachten, daß die Bacillenmassen sich auflösen und als amorphe Masse sich auf den Boden des Reagensglases senken. Stellt man das Experiment unter Luftabschluß an, so ist der Verdauungsprozeß noch wirksamer, und man kann täglich neue Abstriche der Bacillenkulturen zusetzen, bis zum halben Gewicht des betreffenden Saftes, ohne daß die zymotischen Eigenschaften sich erschöpfen. Besonders ist dies beim Thyreoideasaft der Fall. Das Phänomen ist so markant, daß, wer die bakteriolytischen Eigenschaften dieser Plasmamassen der Muskelbündel oder Drüsenzellen anzweifeln wollte, vielmehr den Gegenbeweis zu führen hätte, daß Alexine leukocytären Ursprungs im Spiele sind.

Milz, Nebennierenkapseln, sowie viele andere Gewebe liefern uns einen sofort gerinnenden Saft; zerreibt man diesen zu einem feinen Pulver und läßt es in einer 1-proz. Salzlösung aufquellen, so gehen in die Mazerationsflüssigkeit große Mengen eines an bakteriolytischen Eigenschaften reichen Plasmas über. Diese Flüssigkeit zeigt sich jedem ande-

1) Turró, R., Zur Bakterienverdauung. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. p. 173; 1902. No. 2.) — Ursprung und Beschaffenheit der Alexine. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 38.) — Beiträge zum Studium der natürlichen Immunität. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1904. No. 1.)

ren Serum weit überlegen, denn es verdaut z. B. eine Mazerationslösung einer Hammelmilzpulpa in weniger als 24 Stunden im Kolben gleiche Gewichtsteile einer eintägigen Milzbrandkultur, wobei sich die Masse der Bacillen in einen amorphen Haufen verwandelt.

Weit geringer als das der Hammelmilz erweist sich das Lösungsvermögen der Rinder-, Schweine- und Hundemilz, in dem Grade, daß unmittelbar nach Herstellung der Emulsion solche Mazerationen sich als schwach, ja als ganz unwirksam erweisen können. Außerdem ist das Alter der Tiere von Einfluß auf das Lösungsvermögen der Zellplasmen, dergestalt, daß die Milzen junger Hammel weitaus nicht das Lösungsvermögen besitzen, wie die erwachsener Tiere. Nichtsdestoweniger ersehen wir aus diesen Tatsachen klar und deutlich, daß die bakteriolytische Kraft im Plasma gelegen ist, denn wenn wir die Mazerationsflüssigkeit unter Luftabschluß aufheben, so wächst ihre Kraft mit der Zeit. Lymphdrüsen und Knochenmark scheinen anfänglich nicht stark bakteriolytisch zu wirken; verreibt man sie aber sorgfältigst, mischt sie mit Kochsalzlösung und hebt sie unter Luftabschluß auf, so beobachtet man, daß die Pulpa nach 14 Tagen bis 3 Wochen sich zu Boden gesenkt hat und eine geringe Menge Proteinsubstanz in Lösung gegangen ist; sie verleiht der leicht opalescent gefärbten Flüssigkeit eine ungeheure bakteriolytische Kraft.

Zu den nämlichen Beobachtungen gelangt man bei Untersuchung der Leber, der Nieren, der Nebennierenkapseln, der Lunge, des Bindegewebes, sowie der Nervensubstanz, sowohl beim Warm-, wie beim Kaltblütler. Jedoch nur derjenige wird die bakteriolytischen Eigenschaften der verschiedenen Organismen *in vitro* darstellen können, der zuvörderst für ihre Löslichkeit sorgt; wenn daher die Forscher ohne Ausnahme diese Fähigkeiten bisher nur für das Serum bestätigen konnten, so kann dies nicht wunder nehmen, da man bei den Gewebsplasmen die unerläßliche Grundbedingung der Erscheinung, nämlich die Löslichkeit, außer acht gelassen hatte.

Weder im Magen- noch im Pankreassaft konnten wir bisher bakterizide Kräfte nachweisen, dagegen konnten wir sie für den Nasenschleim, sowie für die Samenflüssigkeit des Hundes und des Pferdes feststellen, und zwar in viel höherem Grade als im Serum.

Die bisher mitgeteilten Experimente ergeben als unanfechtbare Tatsachen, daß 1) lösliche Zellplasmen auf die Bakterien in Form hydrolytischer Enzyme wirken, daß 2) ihre Wirksamkeit in direktem Verhältnis zu ihrer Löslichkeit steht<sup>1)</sup>. Sind diese Enzyme vollkommen in dem salzhaltigen Medium löslich, so zerstören sie die Bakterien auf einmal; das Protoplasma der letzteren wird alsdann immer zarter und durchsichtiger, bis es sich ganz auflöst. Diese Erscheinung sehen wir beim Blutserum und an älteren Mazerationen des Leber- und Drüsengewebes. Sind aber die Enzyme nur wenig löslich, so geht der Zerstörungsprozeß in Form einer Wasseraufnahme von außen gegen das Innere hin vor sich, es kommt zu einer fortschreitenden Kapselbildung, schließlich zu völliger Auflösung. Der Preßsaft von Schilddrüse und Muskelgewebe pflegt in frischem Zustande die gleiche Form der Verdauung darzubieten; am Milzbrandbacillus kommt es zu einer starken Kapselbildung mit schließlichem Verschwinden des Cytoplasmas unter Verlust der Tinktionsfähigkeit, schließlich gehen auch die Kapseln unter. Macht man einen Einschnitt

1) Turró, R., Zur Bakterienverdauung. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1902. No. 2.)

in eine frische Hammelmilz und bringt Milzbrandbacillen hinein, so beobachtet man alsbald eine starke Kapselbildung. Jedoch macht die weitere Wasseraufnahme keine Fortschritte, weil infolge Koagulation das Plasma in Untätigkeit verharret. Ein Zusatz von NaCl-Lösung genügt, um mit weiterer Wasseraufnahme auch die Kapselbildung wieder in Gang zu bringen. Augenscheinlich ist die mangelnde Diffusionskraft der Milzenzyme daran schuld, daß ihr Eindringen in die Bakterienmasse und die homogene Auflösung des Bakteriums ausbleibt, wie dies der Fall ist, wenn man das Milzplasma mit 4—5fachem Gewicht einer Salzlösung mazeriert.

Beide Arten von Verdauungsvorgängen treffen wir auch bei der Phagocytose an; oft läßt sich beobachten, daß die aufgenommenen Mikroben im Innern des Leukocytenplasmas aufgelöst werden, um endlich ganz zu verschwinden, aber nicht selten sehen wir, daß der schließlichen Auflösung eine fortschreitende Kapselbildung vorausgeht.

Es kann demnach keinem Zweifel unterliegen, daß die bakteriolytischen Eigenschaften, wie wir sie am Plasma festgestellt haben, physiologisch an den Zellen präformiert sich finden. Wenn wir zum Nachweis ihrer Existenz *in vitro* sie zuvor löslich gemacht haben, so haben wir damit nur denselben Weg eingeschlagen wie Spallanzini bei seinen künstlichen Verdauungsversuchen.

Wohlverstanden, haben wir es nicht mit einer Isolierung der Enzyme zu tun: Wir bringen nur das Plasma, indem wir es löslich machen, in die Lage, eine seiner Eigenschaften zu entfalten. Denn die Drüsenemulsion, die ursprünglich bei Berührung mit Bakterien unwirksam war, gibt nach ihrer Mazeration in Kochsalzlösung, 14 Tage bis 4 Wochen unter Luftabschluß gehalten, an das Lösungsmittel eine kleine Menge albuminoider Substanz ab, die noch hervorragende bakteriolytische Eigenschaften besitzt. In ganz gleicher Weise wird dem Serum durch die Phagolyse ein Plasma zugeführt, das nach Auflösung in dem Vehikel dessen bakterizide Energie steigert.

In den folgenden Zeilen werden wir nun experimentell den Nachweis führen, daß Kochsalzinjektionen in hohen Dosen unter physiologischen Bedingungen bei Hund und Kaninchen das Phänomen der Plasmolyse zur Folge haben, das, auf chemischer Grundlage basierend, die Widerstandskraft gegen eine gegebene Infektion beträchtlich erhöht. Daraus folgt dann unmittelbar, daß Löslichkeit des Plasmas sowohl *in vitro*, wie unter physiologischen Bedingungen in inniger Beziehung zur bakteriolytischen Energie steht.

Mit der Entdeckung der bakteriziden Eigenschaften des Serums mußte sich von selbst der Gedanke aufdrängen, daß in ihm eine chemisch wohlcharakterisierte Substanz, wie etwa das Glykogen, vorhanden sei, ad hoc dazu bestimmt, die Verteidigung des Organismus zu übernehmen, eine Substanz, die wir als Alexin bezeichnen. Aber die fundamentale Tatsache, daß sie einer Zu- und Abnahme fähig war, war schon für sich allein ein Beweis dafür, daß sie nicht im Serum entstanden sein konnte, sondern von außen her hineingelangt ist. Metschnikoff nimmt für die Alexine einen lediglich leukocytären Ursprung in Anspruch und hält ihre Gegenwart im Serum in gelöster oder aktiver Form für einen pathologischen Zustand, denn man trifft sie entweder *post mortem* an, oder aber im lebenden Tiere, in Fällen, wo Störungen oder Läsionen der Leukocyten vorauszusetzen sind. Wir werden im Verlauf der vorliegenden Arbeit den Nachweis führen, daß diese Hypothese des Forschers in allen Punkten unhaltbar ist, denn erstlich gehört das bakteriolytische

Enzym nicht bloß den Leukocyten, sondern allen Zellplasmen an, zweitens aber vermögen wir auf physiologischer Basis mittels unserer Kochsalzinjektionen eine Plasmolyse zu erzielen, die eine ganz bedeutende Steigerung der bakteriolytischen Enzyme in den betreffenden Flüssigkeiten zur Folge hat, so bedeutend, daß Kaninchen sich gegen eine tödliche Dosis Milzbrandvirus nunmehr refraktär verhalten.

Darin allerdings stimme ich mit Metschnikoff überein, daß das Serum keine spezifisch bakteriziden Substanzen enthält, d. h. einen integrierenden Bestandteil an seiner Zusammensetzung, worauf ja die humorale Theorie fußt. Das Serum wird eben stärker oder schwächer bakterizid angetroffen, wie alle Körpersäfte, je nachdem in ihm eine Lösung plasmatischer Substanz vorangegangen ist; im übrigen besitzt es ursprünglich keine bakteriziden Eigenschaften. Von hier ab ist unsere Auffassung über den Begriff der Alexine völlig verschieden von der der humoralen Theorie; wir verstehen unter Alexinen den Gehalt der löslichen Zellplasmen an bakteriolytischen Stoffen. Ursprünglich drückt also der Begriff „Alexine“ die Gesamtheit von Endoenzymen oder bakteriolytischen Diastasen im Innern der Zellen aus, die erst dann eine aktive Wirkung entfalten, wenn das Zellprotoplasma zur Lösung gelangt. Wir haben es also nicht mit einer chemischen Einheit zu tun, es existiert keine Substanz, die einzig und allein als bakteriolytisch zu bezeichnen wäre! Allerdings aber existiert in allen löslichen Zellplasmen eine gemeinsame Eigenschaft, nämlich die, Bakterien zu schädigen und aufzulösen, und auch diese fällt verschieden aus, je nach der Herkunft des Zellplasmas<sup>1)</sup>. Weiterhin geht die humorale Lehre von der Anschauung aus, daß die Alexine Substanzen darstellen, die im Serum enthalten sind, nicht aber zufällig ihm mitgeteilt sind: Dabei fußt man auf einer reinen Hypothese, obwohl aus der Tatsache, daß die Säftemasse bakterizide Eigenschaften besitzt, sich noch gar nicht herleiten läßt, daß sie auch eine Substanz enthält, von der diese Eigenschaften herkommen müssen.

Wir dürfen den Tatsachen keinen Zwang antun, und sollen uns in ihrer Deutung lediglich an die experimentellen Grundlagen halten. Dies unterlassen aber die Anhänger der humoralen Theorie, wenn sie ihre Lehre mit dem Nachweis der bakteriziden Eigenschaft des Serums bewiesen zu haben glauben, denn sie führen damit gar nicht den Nachweis, daß die Alexine im Serum präformiert sind. Es muß also ausdrücklich bemerkt werden, daß der Ausgangspunkt der humoralen Lehre eine reine Hypothese darstellt.

Die blindlings erfolgte Annahme aller dieser Voraussetzungen hat völlig transcendente Anschauungen zur Folge gehabt, die größten Verwirrungen angerichtet und eine Reihe neuer Hypothesen nach sich gezogen, die nun als bewiesene Wahrheiten gelten. Ihre Prüfung im einzelnen würde zu weit führen, da wir uns darauf beschränken wollen, unsere Anschauung über das Zustandekommen der natürlichen Immunität zu entwickeln. Vorausgesetzt ist dabei, daß die Alexine — d. h. das Gemisch bakteriolytischer Enzyme, die dem Plasma entstammen und in höherem oder geringerem Grade in den Säften löslich sind — lediglich im Serum sich finden. Strittig ist, ob die hämolytischen Eigenschaften eines Serums mit seinen bakteriolytischen identisch sind oder differieren. Die substantielle Darstellung der Alexine hat Wassermann dazu ge-

1) Turró, R., Origine et nature des alexines. (Journ. de physiol. et pathol. générale. 1903. No. 5.)

führt, ein Antialexin herzustellen, mit welchem er angibt, jedwede Quantität von Alexinen neutralisieren zu können. Bei Fragen dieser und ähnlicher Art geht man nie von der Voraussetzung aus, daß die Alexine eine Eigenschaft des Serums darstellen, die ihm erst mittels einer vorangegangenen Plasmolyse zugeführt wird. Wir haben aber auf der Suche nach dem Ursprung dieser Substanz nachweisen können, daß sie dem Zellplasma entstammt, und daher haben wir es mit einem Substanzenkomplex zu tun; an ihm muß die experimentelle Analyse hämolytische, bakteriolytische und andere noch unentdeckte Eigenschaften nachweisen. Ist dieses im Serum gelöste Plasma dem Zymogen der Bauchspeicheldrüse vergleichbar, das bei Gegenwart von Darmsaft die verschiedensten Enzyme tätig werden läßt? Und wäre dem so: Wie soll man sich darüber ins klare kommen, ob bakteriolytische und hämolytische Enzyme identisch sind? Wie kann man dann einen Komplex von Eigenschaften als Einheit auffassen, wie das für eine spezifische Substanz halten, was im Grunde genommen nur einen Komplex von Eigenschaften darstellt?

So hat die natürliche Immunität eine große Anzahl brennender Fragen der Wissenschaft aufgegeben, allen voran aber steht die eine Frage im Vordergrund: Wo ist der Ursprung dieser Alexine zu suchen, die wir als bakteriolytische Enzyme bezeichnen?

#### Die empirische Auffassung über die Widerstandskraft des Organismus.

In den vorstehenden Zeilen haben wir bereits kurz auf unsere früheren Arbeiten hingewiesen, woselbst wir nachweisen konnten, daß die bakteriolytischen Eigenschaften des Serums und der Leukocyten gleichzeitig mehr oder weniger stark in allen Zellplasmen anzutreffen sind, ihre Löslichkeit vorausgesetzt, während ohne diese absolut unerläßliche Vorbedingung die Zellplasmen unwirksam bleiben.

Schon früher, als noch lediglich die Schutzkräfte im Leukocyten und Serum bekannt waren, konnte man sich bereits ein deutliches Bild darüber machen, welchen Widerstand eine Infektion zu überwinden hat, wenn sie nur diese Elemente zerstören will. Sobald aber die experimentelle Forschung jetzt noch Schutzkräfte in der Nervenzelle, der Muskelfaser im Epithel und Bindegewebe nachweist dank dieser löslichen Enzyme, so drängt sich uns geradezu die Anschauung auf, daß diese „Schutztruppen“ des Organismus gegen eine Mikrobeninvasion weit kräftiger sind, als man nach den herrschenden Theorien annehmen müßte.

Schon die einfache empirische Beobachtung gibt uns darüber Aufschluß, daß dem so sein muß; denn weder Humoraltheorie, noch Phagocytenlehre erklären uns diese Reihe von Phänomenen zur Genüge, die sonst als wirkliche Wunder zu gelten hätten. In der Tat ist auch das Schleimhautepithel des Magendarmkanals in ständiger Berührung mit ungeheuren Mengen Bakterien, ohne daß eine Infektion erfolgt; der Respirationsapparat ähnelt ebenfalls einem ungeheuren Filter, das die Bakterien nicht durchläßt. Wenn nun aber von diesen ausgedehnten Epithelmassen nicht die Widerstandskraft einer belebten Materie gegenüber der Bakterienvermehrung ausgehen würde, wenn sie sich vielmehr wie leblose, träge Protoplasmaschichten verhalten würden, wie eine Gelatineröhre also, wie wäre es dann faßbar, daß eine Infektion ausbleibt, da sie doch ihrer ganzen Zusammensetzung nach eine Bakterienentwicklung begünstigen müßten?

Man spricht immer davon, daß die Integrität des Epithels eine un-

übersteigbare Schranke gegen die Mikrobeninvasion darstellt: Damit drücken wir demnach kein Faktum, sondern nur eine Phrase aus. Das physische Intaktsein des Epithels bedeutet für die Bakterien weder eine Mauer, noch eine Schranke, sobald sie im Plasma ihren Einzug halten können und sich in der feuchten Schutzhülle entwickeln. Diese Integrität ist bei dem Tier, das sich verblutet, noch vorhanden, wird aber unmittelbar darauf ein Raub der Fäulnis. Intra vitam kann es nicht dazu kommen, weil ja die Plasmasubstanzen lösliche Enzyme enthalten, die das sich einnistende Bakterium abtöten, indem sie es verdauen und auflösen. Durch ihre chemische oder zymotische Widerstandskraft verteidigt sich die Zelle, indem sie sich in einen schlechten Nährboden verwandelt, gegen die Fortpflanzung der Bakterien. Die Integrität der Epithelien bildet also in der Tat einen Schutzwall, aber nicht auf physischer Grundlage, wie die einer Mauer, sondern auf physiologischer.

Wir pflegen uns recht poetisch immer auszudrücken: „Die Kontinuitätstrennung bildet die Eingangspforte für eine Infektion“. Das ist eine ganz vage Behauptung, denn die Kontinuitätstrennung schädigt wohl die Lebensfähigkeit des Gewebes, aber erst durch die Gerinnung der Plasmamasse wird die bakteriolytische Kraft abgeschwächt resp. aufgehoben, und an diesem ungeschützten Punkte kann das Bakterium eindringen und sich vermehren: Durch das Trauma ist tatsächlich der Boden zur Aufnahme der Infektion gedüngt, denn es hat die physiologische Integrität gestört. Nur die Phagocyten, welche von anderwärts her herbeieilen, werden die ungeschützten Stellen von den Bakterien befreien können, die hier ihre Beute suchen; solange jedoch noch die physiologische Integrität gewahrt ist, genügt die Stelle der Läsion sich selbst zur Verteidigung. Wir sehen also, daß die „lebende Wunde“, d. h. ein Gewebe mit gestörter physischer, aber erhaltener physiologischer Integrität sich hinreichend schützen kann. Ein sprechender Beweis hierfür ist die Ausschabung des Uterus resp. die Auskratzung bei Lupus: die Kürette, die auf gesundes Gewebe trifft, überschwemmt dieses zwar mit Bakterien, aber sie gedeihen dort nicht so leicht, wie auf erkranktem oder nekrotischem Gewebe. Denn dort treffen sie mit dem Widerstand des lebenden Gewebes zusammen, mit der bakteriolytischen Wirksamkeit dieser Plasmamassen, die dem kürettierten Detritus fehlt.

Wir sind demnach berechtigt, die Vorstellung von der Fruchtbarkeit oder Unfruchtbarkeit eines Terrains für die verschiedenen Bakterien-species, wie sie Pasteur in der Kindheit der Bakteriologie annahm, für unzulässig zu erklären. Der seiner natürlichen Verteidigungsmittel beraubte Organismus stellt einen so ausgezeichneten Nährboden dar, daß er alle anderen künstlichen Medien übertrifft. Wenn das kontagiöse Agens relativ leicht einzelne Individuen erfaßt, andere verschont, wenn von einer Anzahl infizierter Individuen einige sich besser verteidigen als andere, so beruht dieses Phänomen nicht auf der größeren oder geringeren Fruchtbarkeit des Nährbodens, sondern auf der bakteriolytischen Energie seiner Zellplasmen, die sie in den Stand setzt, der Infektion sich zu widersetzen, oder sie befähigt, sich bis zu einem gewissen Grade allein zu verteidigen. Das „Terrain“ stellt also nicht etwa einen für die Entwicklung des Kontagiums mehr oder weniger günstigen Nährboden dar, sondern im Gegenteil, es bildet eine lebende Materie, deren physiologische Bedingungen durchgreifende Aenderungen erfahren müssen, damit das Kontagium festen Fuß fassen kann. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

## Ueber ein gastrotisches Serum, mit einem Studium des Chemismus des Magens und der von diesem Gastrotoxin veranlaßten histologischen Veränderungen.

[Aus dem Institute für Pathologie und Bakteriologie zu Bukarest  
(Direktor: Prof. Dr. V. Babes).]

Von

**A. Theohari,**  
ao. Professor der internen Pathologie  
an der Universität zu Jassy.

**A. Babes,**  
Professor der Chemie, Vorstand der  
chemischen Abteilung am Institute für  
Pathologie und Bakteriologie zu  
Bukarest.

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

### Intravenöse Einspritzungen von gastrotischem Serum in wiederholten kleinen Dosen.

Hund No. 26, 12 kg schwer.

6. Dez. 1902. Analyse des Magensaftes, ausgeführt an der aus dem Magen nach einem Probefrühstück entnommenen Flüssigkeit (Methode Hayem-Winter):

Gesamtsäure (A)	= 165	Gesamtchlor (T)	= 295
Salzsäure (H)	= 0	Fixes Chlor (F)	= 139
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 156		

An demselben Tage werden 5 ccm Serum [vom 28. Nov.<sup>1)</sup>, von der Ziege No. 2 stammend] in die Vene eingespritzt. Der Hund ist niedergeschlagen, Brechneigung und darauffolgende blutlose Darmentleerungen. Baldige Erholung.

8. Dez. Einspritzung von 4 ccm des gleichen Serums. Geringes Erbrechen.

12. Dez. Es werden 4 ccm desselben Serums eingespritzt. Keine anormalen Erscheinungen.

13. Dez. Einspritzung von 5 ccm desselben Serums. Keinerlei Erscheinungen. Das Tier frißt mit gutem Appetit. Sein Körpergewicht zeigt keinen Rückgang.

22. Dez. Intravenöse Einspritzung von 10 ccm Serum (vom 21. Dez., Ziege No. 2). Gleich darauf Erbrechen, Niedergeschlagenheit, das Tier liegt auf der Seite, hat tiefe und unregelmäßige Atemzüge. Nachmittags erbricht dasselbe rosig gefärbten Schleim. Schleimige Diarrhöe mit unansehnlichen Mengen reinen Blutes. Das Tier erholt sich. Nächsten Tages scheint dasselbe sich wohl zu fühlen und nimmt Nahrung zu sich.

25. Dez. Probefrühstück. Nach 1 Stunde wird die Flüssigkeit entnommen und nach der Methode Hayem-Winter analysiert mit folgenden sich ergebenden Werten:

Gesamtsäure (A)	= 142	Gesamtchlor (T)	= 278
Freie Salzsäure (H)	= 0	Fixes Chlor (F)	= 205
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 72		

27. Dez. Intravenöse Einspritzung von 10 ccm desselben Serums. Erbrechen, blutlose Diarrhöe.

29. Dez. Intravenöse Einspritzung von 10 ccm desselben Serums. Keine ungewöhnlichen Erscheinungen.

31. Dez. Neuerliche Analyse des Magensaftes nach vorangegangenen Probefrühstück:

Gesamtsäure (A)	= 146	Fixes Chlor (F)	= 220
Freie Salzsäure (H)	= 0	Koeffizient $\frac{A-H}{C}$ ( $\alpha$ )	= 2,02
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 72		
Gesamtchlor (T)	= 292		

Abscesse, die in der Halsgegend auftraten, zwangen uns, die Einspritzungen eine Zeitlang zu unterbrechen.

1) Wir wollen daran erinnern, daß das von der Ziege No. 2 stammende Serum, das an diesem Tage gesammelt war, in einer Dose von 4 ccm pro kg Tier ein blitzartiges Eintreten des Todes zur Folge hatte; 1 ccm pro kg veranlaßt profuse Hämorrhagien und nach einigen Stunden den Tod (s. die Versuche mit den Hunden No. 9 und No. 10).



18. Jan. 1903. In die Jugularis werden 20 ccm Serum (vom 16. Jan., Ziege No. 2) eingespritzt. Gleich darauf Erbrechen, große Niedergeschlagenheit. Später sind die erbrochenen Massen rosig gefärbt. Schließlich diarrhoische Darmentleerungen, die reines Blut enthalten. Gegend Abend hat sich das Tier erholt.

24. Jan. Intravenöse Einspritzung von 20 ccm Serum (vom 23. Jan., Ziege No. 2). Erbrechen, tiefe Niedergeschlagenheit. Nach Eintritt einer erheblichen Darmblutung verendet das Tier etwa 4 Stunden nach der Einspritzung.

Die Sektion konnte erst einige Stunden nach dem Tode des Tieres gemacht werden, so daß auf die histologische Untersuchung, die wenig Bedeutung beanspruchen konnte, verzichtet wurde.

Makroskopisch sieht man ein wenig mit Blut gemischten Schleim im Magen und große Blutmassen im Dünndarm. Die Magen- und Darmschleimhaut ist dunkelrot. Kein sonstiger Befund in den übrigen inneren Organen.

Hund No. 27, 16 kg 500 g schwer.

1. Jan. 1903. Probefrühstück und Analyse der Magenflüssigkeit, die den Versuchen vorangehen sollte:

Freie Salzsäure (H) = 0 Gesamtchlor (T) = 354

Organisch gebundenes Chlor (C) = 164 Fixes Chlor (F) = 190

An demselben Tage intravenöse Einspritzung von 5 ccm Serum (vom 31. Dez., Ziege No. 2). Das Tier hatte bloß Erbrechen.

2. Jan. Einspritzung von 10 ccm desselben Serums. Einiges Aufstoßen.

3. Jan. Einspritzung von 18 ccm des gleichen Serums. Das Tier zeigt keinerlei anormale Erscheinung.

18. Jan. Intravenöse Einspritzung von 38 ccm Serum (16. Jan., Ziege No. 3). Verspätet auftretendes Erbrechen und Niedergeschlagenheit.

25. Jan. Einspritzung von 20 ccm Serum (23. Jan., Ziege No. 3). Mißstimmung, Erbrechen, feste Darmentleerung mit Blutspuren. Da die auftretenden Schwellungen die Jugularvenen überschichten, mußten die Einspritzungen unterbrochen werden.

8. Febr. Intravenöse Einspritzung von 15 ccm Serum [Mischung vom 6. Febr. 1)]. Das Tier ist sehr niedergeschlagen, erholt sich aber bald. Blutlose Diarrhöe. Erst spät tritt Erbrechen auf.

13. Febr. Einspritzung von 10 ccm desselben Serums. Keinerlei Erscheinungen.

15. Febr. Intravenöse Einspritzung von 15 ccm desselben Gemisches. Bald nach der Einspritzung ist das Tier etwas aufgeregt. Kein Erbrechen, keine Niedergeschlagenheit. Erst spät schwarze Darmentleerung mit etwas alteriertem Blut.

20. Febr. Einspritzung in die Jugularis von 16 ccm des gleichen Gemisches. Keine sofortigen oder später auftretenden Erscheinungen.

Neuerliche Schwellung des Unterhautbindegewebes der Halsgegend, so daß die Einspritzungen wieder unterbrochen werden mußten.

8. März. Intravenöse Einspritzung von 20 ccm des gleichen Serungemisches (vom 27. Febr.). Erbrechen, Niedergeschlagenheit, feste Darmentleerungen. Nach etwa 2 Stunden geringe Darmblutung. Das Tier hat sich bald erholt.

14. März. Intravenöse Einspritzung von 19 ccm Serum (Mischung vom 13. März). Nichts zu bemerken.

16. März. Einspritzung von 20 ccm desselben Serums. Keinerlei Erscheinung.

21. März. Einspritzung von 37—38 ccm desselben Serungemisches. Etwa 10 Minuten nach der Einspritzung bleibt das Tier liegen. Darauf folgt schleimig-galliges Erbrechen und eine feste, schwarz gefärbte Darmentleerung. Nach 2 Stunden Diarrhöe mit reichlichem Schleim- und Blutgehalt. Am nächsten Tage ist das Tier vollkommen wieder hergestellt.

2. April. Intravenöse Einspritzung von 15 ccm Serum (Mischung vom 1. April, erste Flasche). Erbrechen, geringe Niedergeschlagenheit, diarrhoische Darmentleerungen mit sehr geringen Blutmengen.

3. April. Intravenöse Jugularis-Einspritzung von 28 ccm Serum (Mischung vom 1. April, zweite Flasche). Das etwa 10 Minuten lang stark aufgeregte Tier hat dann Erbrechen und wird mißgestimmt. Nach einigen Stunden ziemlich reichliche Darmblutung. Bis zum Abend hatte sich das Tier erholt.

11. April. Intravenöse Einspritzung von 30 ccm des gleichen Serungemisches. Die in der Folge beobachteten Erscheinungen sind nichts weiter als einiges Erbrechen; später eine feste, schwarz gefärbte Darmentleerung.

13. April. Analyse des Magensaftes nach vorangegangener Probefrühstück. Das Günzburger Reagens (Phloroglucin-Vanillin) zeigt, daß freie Salzsäure nicht vorhanden ist.

Die Dosierung der Chlorure gibt nach der Methode Hayem-Winter folgende Werte:

Freie Salzsäure (H) = 0 Gesamtchlor (T) = 256

Organisch gebundenes Chlor (C) = 31 Fixes Chlor (F) = 219

24. April. Das abgemagerte Tier hat das frühere Körpergewicht wieder erlangt und hat gute Freßlust. Der Magensaft wird von neuem untersucht, um festzustellen, ob das am 13. April gefundene chemische Verhalten andauernder Natur ist. Die Methode Hayem-Winter ergab folgende Werte:

Gesamtsäure (A)	= 139	Gesamtchlor (T)	= 294
Freie Salzsäure (H)	= 0	Fixes Chlor (F)	= 167
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 124		

Wir entschließen uns, an diesem Tiere keine weiteren Versuche zu machen, da dasselbe eine verhältnismäßig hohe Immunitätsstufe dem Gastrototoxin gegenüber erlangt hat, ohne daß dessen Magenchemismus dauernd gestört wurde.

Hund No. 28, 10 kg 500 g schwer.

3. Jan. 1903. Die nach vorangegangenen Probefrühstück vor jedem Versuch gemachte Analyse nach Hayem-Winterscher Methode ergab:

1) Das Serum der 2 Ziegen, von der Blutentnahme vom 6. Febr. stammend, veranlaßt, wenn in die Venen injiziert, den Tod des Hundes in der Dosis von weniger als 1 ccm pro kg Körpergewicht (s. die Versuche mit den Hunden No. 13, 14, 15 und 16).

Freie Salzsäure (H)	= 0	Gesamtchlor (T)	= 305
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 176	Fixes Chlor (F)	= 129

An demselben Tage werden in die Jugularis 70 ccm Serum (vom 31. Dez., Ziege No. 3) eingespritzt. Das Tier hat einiges später auftretende Erbrechen mit bald verstrichener Niedergeschlagenheit. In den folgenden Tagen ist anscheinend nichts Anormales zu beobachten. Kleiner Absceß mit Schwellung am Halse in der Einstichgegend.

18. Jan. Intravenöse Einspritzung von 20 ccm Serum (vom 16. Jan., Ziege No. 2). Große Niedergeschlagenheit, Erbrechen, rosig gefärbte Schleimmassen; später reichliche Darmblutung. Bis zum nächsten Tage hat sich das Tier wieder erholt.

24. Jan. Intravenöse Einspritzung von 20 ccm Serum (vom 23. Jan., Ziege No. 2). In der Folge erbricht der Hund Nahrungs- und gallige Massen. Starke Mißstimmung Später blutige Durchfälle.

30. Jan. Das Tier nimmt nur wenig Nahrung zu sich, ist abgemagert (Körpergewicht beträgt jetzt 9 kg 250 g).

Probefrühstück. Die nach 1 Stunde entnommene Flüssigkeit wird nach der Methode Hayem-Winter analysiert und folgende Werte erzielt:

Gesamtsäure (A)	= 146	Fixes Chlor (F)	= 236
Freie Salzsäure (H)	= 0		
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 49	Koeffizient $\frac{A-H}{C}$ ( $\alpha$ )	= 3,16
Gesamtchlor (T)	= 285		

5. Febr. Das Tier ist sehr geschwächt und kann sich nicht mehr aufrecht erhalten. Da befürchtet wurde, daß es die Nacht nicht überleben werde, beschlossen wir, um nicht der histologischen Untersuchung verlustig zu werden, dasselbe an demselben Tage zu opfern; es geschah dies 6 Stunden nach der genossenen Nahrung.

Bei der Sektion finden wir im Magen schlecht verdaute Nahrungsreste. Die Magenschleimhaut ist blaß, blutleer. Makroskopisch ist nichts zu bemerken.

Die histologische Untersuchung gibt folgende Resultate: Bei schwacher Vergrößerung hat man auf den ersten Blick den Eindruck, daß Randzellen in den Schnitten nicht vorhanden sind. An anderen Stellen scheinen die Randzellen große, unregelmäßig kreisförmige Räume zu umgeben, deren Wand von einer dünnen Membran gebildet wird. Erst mit der Immersionslinse wird man sich darüber klar, daß dies Aussehen (Fig. 16 u. Fig. 17) auf die von Grund auf stattgehabte Umwandlung der Hauptzellen zurückzuführen ist.

Diese letzteren erscheinen in 2facher Gestalt: Die eine ist von kleinen, cylindrischen Hauptzellen gebildet, deren Höhe nur um ein Geringes diejenige des Kernes übersteigt. Die schwache Schicht der den Kern umgebenden Zellkörper scheint mittels Hämatoein einförmig dunkelblau gefärbt. Bei genauerer Untersuchung unterscheidet man trotzdem ein breitesmaschiges, lebhaft blau gefärbtes Netz. Diese in regelmäßiger Reihe auf einziger Schicht angeordneten Zellen umgeben ein ansehnliches Drüsenlumen, das zerfallene Zellen und eine große Anzahl von mittels saurem Fuchsin lebhaft gefärbten Spirillen (Fig. 16) enthält.

Andere Acini zeigen ein noch beträchtlicheres Lumen in cystischer Form. Die Wand ist von Hauptzellen gebildet, die nur noch eine dünne Membran darstellen; die entstellten, abgeplatteten Kerne sind durch ihre dicken Paranukleingranulationen, die durch saures Fuchsin lebhaft rot gefärbt sind, noch zu erkennen.

Die Randzellen zeigen keine wichtigen Aenderungen ihrer feinen Struktur. Die meisten dieser Zellen zeigen einen hellen Zentralraum mit peripherischer Anhäufung von Granulationen. Der Kern zeigt keine sichtbare Veränderung. Allein wenn auch die Randzellen keine bedeutenden Aenderungen ihrer feinen Struktur aufweisen, so ist doch deren Topographie in den Drüenschläuchen ganz und gar eine andere geworden,

und zwar infolge der tiefgreifenden Umwandlung, die die Hauptzellen durchgemacht haben. In der Tat glaubt man, wie wir dies bereits bemerkt haben, bei schwacher Vergrößerung, daß in Schnitten nur eine einzige Zellart — Randzellen — vorhanden sei. Mit Immersion aber sieht man in manchen Acini, daß die Randzellen, die das Drüsenlumen direkt zu umgeben scheinen, überall von einer farblosen Membran getrennt sind mit Interstitien — diese Membran ist das Ueberbleibsel der Hauptzellen. In anderen Drüsen sind die Randzellen von dem stark vergrößerten Drüsenlumen durch eine Reihe niedriger Hauptzellen mit stark gefärbtem Cytoplasma getrennt, so wie dies bereits oben beschrieben worden ist. Dort aber, wo der Schnitt des drüsigen Blind-sackes eine cystische Gestalt mit von einer dünnen, mit Kernen besäten Membran an-nimmt, scheinen die Randzellen ganz verschwunden zu sein. An manchen Stellen sieht man sie als acidophile, abgeplattete Lamellen (mittels saurem Fuchsin gefärbte Körnchen).

Wir wollen es noch einmal wiederholen, die Veränderungen befinden sich an den Hauptzellen. Die Randzellen haben eine ganz und gar veränderte Topographie. In-folge der Verringerung des Volumens und des Schwundes der Hauptzellen scheinen die Randzellen gegeneinander gerichtet und auf den ersten Blick allein vorhanden zu sein. Die fixen Bindegewebszellen, die zwischen den Drüsen gelegen sind, befinden sich in Wucherung; man sieht, daß das die Drüsen trennende Gewebe ebenso wie die eigentliche Membran verdickt sind. In der Tiefe der Schleimhaut, in der Richtung zur Submucosa sieht man ebenfalls Haufen von mononukleären Leukocyten, allerdings in geringerer Anzahl.

Hund No. 29, 14 kg schwer.

20. Febr. 1903. Nach einem Probefrühstück vorgenommene Analyse der Magen-flüssigkeit (nach der Methode Hayem - Winter) ergab folgende Werte:

Freie Salzsäure (H)	= 0	Gesamtchlor (T)	= 298
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 123	Fixes Chlor (F)	= 175

An demselben Tage intravenöse Einspritzung von 3 ccm Serum (Mischung vom 6. Febr.). Das ein wenig niedergeschlagene Tier hat sich rasch erholt. Später mittels alterierten Blutes schwarz gefärbte Darmentleerung.

22. Febr. In die Jugularis werden 6 ccm der gleichen Mischung eingespritzt, worauf nur Erbrechen der am Morgen genossenen Nahrung erfolgt.

28. Febr. Einspritzung von 5 ccm Serum (Mischung vom 27. Febr.) in die Jugularis. In der Folge schleimiges Erbrechen und starke Niedergeschlagenheit. Später reichlicher schwarzer Durchfall.

6. März. 7 ccm Serum werden in die Jugularis eingespritzt (Mischung vom 27. Febr.). Erbrechen der morgens genommenen Nahrung.

7. März. Intravenöse Einspritzung von 14 ccm des gleichen Serums. Gleich darauf wiederholtes Erbrechen und starke Niedergeschlagenheit. Später bekommt das Tier schwarze Darmentleerungen, die dann schleimigen, mit roten Blut vermischten Platz machen. Rasche Erholung.

14. März. In die Vene werden 14 ccm Serum (Mischung vom 13. März) einge-spritzt. Kein Erbrechen.

16. März. Intravenöse Einspritzung von 19 ccm Serum (wie früher). Das Tier hat nur erbrochen.

21. März. Intravenöse Einspritzung von 23 ccm des gleichen Serums. Während der Einspritzung, noch bevor die letzten Kubikcentimeter Serum in die Vene einge-spritzt wurden, starkes Auftreten von Würgeerscheinungen. Das losgelöste Tier bekommt reichliches Erbrechen. Starke Niedergeschlagenheit. Halbflüssige Darmentleerung. Nach einigen Stunden schleimig-blutige Darmentleerung, dann reines Blut in großen Mengen. Am nächsten Tage bleibt das Tier liegen und frißt nicht. Am Abend hat es sich wieder erholt.

29. März. Probefrühstück. Da die Magenflüssigkeit sehr reichhaltig ist, werden zwei Proben entnommen, die eine nach 40, die andere nach 55 Minuten. Die Chlorur-dosierung wird nach der Hayem - Winterschen Methode vorgenommen.

Erste Probe (nach 40 Minuten):

Gesamtsäure (A)	= 84	Gesamtchlor (T)	= 352
Freie Salzsäure (H)	= 19	Fixes Chlor (F)	= 146
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 98		

Zweite Probe (nach 55 Minuten):

Gesamtsäure (A)	= 117	Gesamtchlor (T)	= 423
Freie Salzsäure (H)	= 80	Fixes Chlor (F)	= 182
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 101		

30. März. Das Tier ist abgemagert (dasselbe wiegt nur noch 12 kg) und scheint sehr geschwächt zu sein. Um gute, einwandfrei gehärtete Präparate zu haben, wird das Tier etwa 8 Stunden, nachdem es Nahrung zu sich genommen hatte, geopfert.

Bei der Sektion zeigt die Magenschleimhaut normales Aussehen, so daß makroskopisch nichts zu bemerken ist. Die Schleimhaut des Dünndarms ist verdickt und zeigt geschlossene, hervorspringende Follikel. Erscheint genau so wie die Schleimhaut des Dickdarms. An den anderen Organen nichts bemerkenswertes.

Die histologische Untersuchung liefert folgende Resultate: Die Haupt- und Randzellen scheinen bei schwacher Vergrößerung normal, aber etwas verdickt; die eine Zellart ist der anderen an Zahl nicht überlegen. Man sieht keine Verdickung der zwischen-drüsigen Räume, ausgenommen an der Schleimhautoberfläche, wo ein bischen bindegewebige Reaktion um manche erweiterte Kapillaren sich nachweisen läßt.

Mittels Immersion sieht man Hauptzellen mit kaum sichtbaren Basalfäden. Die Zellbasis ist von feinen, mittels saurem Fuchsin gefärbten Körnchenkettchen eingenommen. Das cytoplasmatische Reticulum, das sich auf die ganze Zelle (einschließlich der Basis) ausdehnt, zeigt einen trüb-maschigen Inhalt. Die Kerne sehen normal aus. Das von Entfärbung mittels saurem Violett gefolgte Safranin zeigt, daß die Hauptzellen große Mengen grober Pepsinogengranulationen beherbergen. Die Randzellen zeigen das Vorhandensein eines deutlich ausgesprochenen, hellen Zentralraumes; die acidophilen Granulationen des Zellkörpers sind gut gefärbt und an der Peripherie angehäuft. Die Kerne erscheinen mit ihrer normalen Struktur. Gegen die Oberfläche der Schleimhaut findet man eine geringe Anzahl von Randzellen mit homogenem Kern und undeutlicher wahrnehmbaren, verwischten cytoplasmatischen Granulationen. Einige dieser letzteren Zellen zeigen ein gefenstertes Aussehen — es ist dies den spirillenhaltigen Vakuolen zuzuschreiben.

Die Untersuchung der Darmschleimhaut liefert den Beweis von dem Vorhandensein einer subakuten Enteritis, mit zahlreichen mono- und polynukleären Leukocyten in der Dicke der Schleimhaut, mit erweiterten Kapillaren, deren Innenwand verdickt ist.

Hund No. 30, 15 kg 500 g schwer.

21. Febr. 1903. Den Versuchen vorangehend erfolgt die Feststellung des chemischen Typus der Magensekretion. Es wird also nach Verabreichung eines Probefrühstücks die nach einer Stunde entnommene Flüssigkeit nach der Methode Hayem-Winter untersucht, wodurch folgende Werte erzielt werden:

Gesamtsäure (A)	= 146	Gesamtchlor (T)	= 322
Freie Salzsäure (H)	= 0	Fixes Chlor (F)	= 168
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 153		

An demselben Tage wurden in die Vene 3 ccm Serum (Mischung vom 6. Febr.) eingespritzt. Als Folge verzeichneten wir nur Erbrechen.

22. Febr. Einspritzung von 6—7 ccm desselben Serums. Das Tier erbricht und ist etwas niedergeschlagen.

28. Febr. In die Jugularis werden 5 ccm Serum (Mischung vom 27. Febr.) eingespritzt. Große Niedergeschlagenheit, heftiges Erbrechen. Später stellt sich Durchfall ein; die entleerten Massen sind reichlich mit alteriertem Blut (schwarz) vermischt. Infolge der sich einstellenden Gewebsschwellung, die die Jugularvenen umhüllt, sind wir gezwungen, die folgenden Einspritzungen hinauszuschieben.

6. März. Einspritzung von 8 ccm desselben Serums. Außer einmaligem Erbrechen sind keine anderen anormalen Erscheinungen zu verzeichnen.

7. März. Intravenöse Einspritzung von 15 ccm desselben Serums, worauf wiederholtes Erbrechen eintritt. Später stellen sich diarrhoische schwarze Darmentleerungen ein, die dann schleimig-blutig werden.

14. März. Intravenöse Einspritzung von 15 ccm Serum (Mischung vom 13. März). Erbrechen. Feste Darmentleerung.

16. März. Einspritzung von 25 ccm Serum, die von geringer Niedergeschlagenheit und Erbrechen gefolgt ist.

21. März. Intravenöse Einspritzung von 30 ccm desselben Serums. Das Tier ist sehr niedergeschlagen. Wiederholtes Erbrechen. Später reichliche den ganzen Tag anhaltende Darmblutung. Am nächsten Tage hat sich das Tier erholt und frißt. In der Halsgegend bildet sich ein kleiner Absceß.

3. April. In die Jugularis werden 10 ccm Serum (Mischung vom 1. April, 1. Flasche, weniger giftig als die Flasche No. 2, die mehr Serum enthielt, von der Ziege No. 2) eingespritzt. Gleich darauf erfolgt Erbrechen, nachher rußige Darmentleerung und darauf ein wenig reines Blut.

11. April. Intravenöse Einspritzung von 15 ccm desselben Serums, die von Erbrechen, Niedergeschlagenheit und später von reichlichen Darmblutungen gefolgt ist.

24. April. Probefrühstück. Der nach einer Stunde entnommene Magensaft wird nach der Methode Hayem-Winter untersucht, wodurch folgende Werte erzielt werden:

Freie Salzsäure (H)	= 0	Gesamtchlor (T)	= 320
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 58	Fixes Chlor (F)	= 262

Das G ün z b u r g s c h e Reagens (Phloroglucin-Vanillin) zeigt ebenso wie die H a y e m - W i n t e r s c h e Methode die Abwesenheit der freien Salzsäure.

9. Mai. Eine neuerlich vorgenommene Analyse soll den Beweis liefern, ob die festgestellte erhebliche Verminderung des organisch gebundenen Chlors fortdauernd ist. Die nach Hayem-Winter gemachte Analyse ergibt folgende Zahlen:

Freie Salzsäure (H)	= 0	Gesamtchlor (T)	= 299
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 62	Fixes Chlor (F)	= 287

Negative Reaktion mittels Phloroglucin-Vanillin.

11. Mai. Das Tier wird 8—9 Stunden, nachdem es Nahrung zu sich genommen, geopfert.

Bei der Sektion findet man den fast vollkommen entleerten Magen mit normal aussehender Schleimhaut.

Die Schleimhaut des Dünn- und Dickdarms ist verdickt, an manchen Stellen mit dunkleren Auflagen und geschlossen hervorragenden Follikeln. Keinerlei Befunde an den anderen Organen.

Die histologische Untersuchung gab folgende Resultate: Die Topographie der Zellen in den Drüsenschläuchen ist nicht verändert. Zwischen den Schläuchen ist das Bindegewebe etwas verdickt, insbesondere an der Oberfläche der Schleimhaut. An dieser letzteren Stelle finden sich auch einige Gruppen mononukleärer Leukocyten.

Die meisten Randzellen haben ein normales Aussehen. Eine gewisse Anzahl der Zellen, namentlich diejenigen am Drüsenhals, zeigen ein homogenes Aussehen des Kernes und des Protoplasmas, die mittels saurem Fuchsin stark gefärbt sind, so daß die Einzelheiten der Struktur nicht mehr erkannt werden.

Die Hauptzellen sind fast alle auf ein Reticulum reduziert. Nur eine geringe Anzahl von Zellen zeigen Basalfäden und Kettchen acidophiler Granulationen. Die mittels safraninsäurem Violett gefärbten Schnitte zeigen das Vorhandensein von Pepsinogen-Granulationen, allein nur in jenen wenigen Zellen, die Basalfäden haben, die übrigen Hauptzellen enthalten keine ähnlichen Granulationen. Die Darmschleimhaut zeigt das Vorhandensein einer subakuten Enteritis, sowohl im Dünn- wie Dickdarm.

Hund No. 31, 10 kg 500 g schwer.

4. April 1903. Vor der Einspritzung Probefrühstück und Analyse des Mageninhaltes nach der Methode Hayem-Winter mit folgendem Resultat:

Freie Salzsäure (H)	= 0	Gesamtchlor (T)	= 306
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 168	Fixes Chlor (F)	= 138

An demselben Tage intravenöse Einspritzung von 3 ccm Serum (vom 1. April, Mischung, 1. Flasche), worauf Erbrechen erfolgt.

8. April. Intravenöse Einspritzung von 6 ccm desselben Serums, ohne wesentliche Folgen.

11. April. Einspritzung von 8 ccm Serum (Mischung vom 1. April, 2. Flasche). In der Folge wiederholtes Erbrechen, große Niedergeschlagenheit und später diarrhoische und hämorrhagische Darmentleerungen.

12. April. Intravenöse Einspritzung von 10 ccm desselben Serums. Einige Male Erbrechen, etwas Niedergeschlagenheit, später schwarzgefärbte Darmentleerungen.

18. April. Intravenöse Einspritzung von 10 ccm desselben Serums, worauf noch geringere Erscheinungen als das vorige Mal eintreten. In den folgenden Tagen Bildung eines kleinen Abscesses.

26. April. Einspritzung von 13 ccm desselben Serums. In der Folge wiederholtes Erbrechen, starke Niedergeschlagenheit, später große Darmblutung. Das Tier verendete im Laufe der Nacht.

Hund No. 32, 11 kg 500 g schwer.

1. Mai 1903. Analyse des Mageninhaltes eine Stunde nach vorangegangenem Probefrühstück. Die Hayem-Wintersche Methode liefert folgende Werte:

Freie Salzsäure (H)	= 0	Gesamtchlor (T)	= 322
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 146	Fixes Chlor (F)	= 175

Die Phloroglucin-Vanillin-Reaktion zeigt ebenfalls die Abwesenheit der freien Salzsäure.

An demselben Tage werden in die Jugularis 2 ccm Serum (Mischung vom 1. April, 2. Flasche) eingespritzt. In der Folge ist das Tier niedergeschlagen und erbricht mehrere Male.

3. Mai. Einspritzung von 5 ccm desselben Serums. Das sehr niedergeschlagene Tier scheint schwer leidend zu sein und hat wiederholtes Erbrechen. Später reichliche Darmblutung.

8. Mai. Intravenöse Einspritzung von 7 ccm des gleichen Serums, worauf Erbrechen sich einstellt. Das stark niedergeschlagene Tier kann sich nicht auf den Beinen halten und fällt auf die Seite. Später stellen sich Darmentleerungen ein, die Blutspuren enthalten.

10. Mai. Einspritzung von 9 ccm des gleichen Gemisches. Es folgen Erbrechen, etwas Niedergeschlagenheit, keine Spur von Darmblutung.

13. Mai. Intravenöse Einspritzung von 12 ccm desselben Serums. Das sehr niedergeschlagene Tier erbricht und fällt dann auf die Seite. Profuse Darmblutungen. Das Tier verendet im Laufe der Nacht.

Hund No. 33, 14 kg 500 g schwer.

24. Juni 1903. Vorangehend eine Analyse des Mageninhaltes nach dem eine Stunde vorangegangenen Probefrühstück. Die Hayem-Wintersche Methode liefert folgende Werte:

Gesamtsäure (A)	= 152	Gesamtchlor (T) = 301
Freie Salzsäure (H)	= 0	Fixes Chlor (F) = 160
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 141	

Das G ü n z b u r g s c h e Reagens zeigt ebenfalls, daß freie Salzsäure nicht vorhanden ist.

26. Juni. Intravenöse Einspritzung von 7½ ccm Serum (vom 25. Juni, Ziege No. 2). In der Folge Erbrechen und feste Darmentleerung. Nach einigen Augenblicken fällt das Tier auf die Seite, ist sehr niedergeschlagen und scheint schwer leidend zu sein. Zuckende Bewegungen an den Extremitäten. Keine spätere Blutung.

27. Juni. Einspritzung von 10 ccm desselben Serums, worauf ein wenig Niedergeschlagenheit, später geringe Darmblutung.

28. Juni. Intravenöse Einspritzung von 12 ccm desselben Serums, mit einigen gleich auftretenden Brechanfällen. Dann folgt rasch (10 Minuten nach der Einspritzung) ein immer stärker werdender schleimiger Durchfall, der nach ¼ Stunde mit Blut vermischt ist. Das Tier hat dann immer größere Blutverluste. In den folgenden Tagen Fortbestand der schleimig-blutigen Durchfälle. Das Tier frißt nicht und ist sehr geschwächt.

1. Juli. Analyse des schleimhaltigen Magensaftes nach Probefrühstück. Die Hayem-Wintersche Methode liefert folgende Werte:

Gesamtsäure (A)	= 58	Gesamtchlor (T) = 270
Freie Salzsäure (H)	= 0	Fixes Chlor (F) = 211
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 59	

Das G ü n z b u r g s c h e Reagens zeigt gleichfalls die Abwesenheit der freien Salzsäure. Da das Tier sehr geschwächt ist, wird es an demselben Tage geopfert.

Bei der Sektion findet man, daß die Magenschleimhaut im ganzen anämisch ist, mit Abhebung hyperämischer Beläge.

Sowohl der Dünn- wie der Dickdarm zeigen das Vorhandensein einer starken Enteritis, beträchtliche Hyperämie, mattes Aussehen, kongestive Flecken, hervorspringende (gewölbte), geschlossene Follikel. Diese letztere Eigentümlichkeit ist namentlich am Dickdarm deutlich wahrzunehmen.

Die histologische Untersuchung lieferte folgende Resultate: Die Topographie der Haupt- und Randzellen in den Drüsen erscheint normal.

Die Randzellen haben fast alle ihre gewöhnliche Struktur. An der Oberfläche der Schleimhaut, in der Gegend des Drüsenhalses, ist aber eine gewisse Anzahl alterierter Zellen vorhanden. Ihr Zellkörper ist mittels Fuchsin einförmig gefärbt; die normalen Granulationen sind viel deutlicher; der homogene Kern ist viel stärker gefärbt. Manche Zellen zeigen große Vakuolen, die ihnen ein gefenstertes Aussehen verleihen. Die alterierten Randzellen sind äußerst gering im Verhältnis zu denjenigen, die ihre normale Struktur bewahrt haben.

Die Hauptzellen zeigen das Vorhandensein von Basalfäden, Kettchen acidophiler Granulationen und Profermentgranulationen (safraninsaures Violett). Eine geringe Anzahl von Hauptzellen zeigen einen von einem hellmaschigen Reticulum ganz eingenommenen Zellkörper. Der Kern der Hauptzellen erscheint normal. Die Darmschleimhaut zeigt die Veränderungen einer subakuten Enteritis, wie wir sie bereits bei den vorigen Fällen beschrieben haben.

Hund No. 34, 14 kg schwer.

26. Juni 1903. Analyse des Mageninhaltes, eine Stunde nach dem Probefrühstück:

Gesamtsäure (A)	= 161	Gesamtchlor (T) = 287
Freie Salzsäure (H)	= 0	Fixes Chlor (F) = 159
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 128	

Sowohl die Hayem-Wintersche Methode wie das G ü n z b u r g s c h e Reagens zeigen die Abwesenheit der freien Salzsäure.

27. Juni. Intravenöse Einspritzung von 7 ccm Serum (vom 25. Juni, Ziege No. 2). Das Tier fällt auf die Seite, ist niedergeschlagen und scheint schwer zu leiden; es erbricht ein wenig, erholt sich aber sehr rasch.

28. Juni. Einspritzung von 10 ccm desselben Serums. In der Folge bietet das Tier die bekannten Erscheinungen und diarrhoische, etwas bluthaltige Darmentleerungen.

30. Juni. Einspritzung von 12 ccm desselben Serums. Das Tier hat ein wenig Erbrechen und etwas später Darmentleerungen mit Blutspuren.

1. Juli. Neuerliche Einspritzung von 12 ccm desselben Serums. Keine wesentlichen Erscheinungen.

2. Juli. Einspritzung von 12 ccm desselben Serums. Keine wesentlichen Folgen.

4. Juli. Intravenöse Einspritzung von 15 ccm desselben Serums. In der Folge diarrhoische Darmentleerungen. Später gehen durch den Darm blutgefärbte Schleimmassen ab.

7. Juli. Einspritzung einer gleichen Serummenge. Keine wichtigen Folgeerscheinungen.

16. Juli. Probefrühstück. Analyse des Mageninhaltes nach einer Stunde (Methode Hayem - Winter):

Gesamtsäure (A)	= 241	Gesamtchlor (T) = 383
Freie Salzsäure (H)	= 7	Fixes Chlor (F) = 168
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 208	

Das Günzburgsche Reagens gibt nach Erhitzung die charakteristische Farbe der freien Salzsäure, deren Menge mittels der 10-normaligen Kochsalzsäure bei Anwesenheit von Phloroglucin-Vanillin (Minzsche Methode) bestimmt wurde und erhält die Zahl 97 (Milligramme auf 100 ccm Magensaft).

Infolge eines Zufalles konnte die histologische Untersuchung der Magenschleimhaut dieses Tieres nicht vorgenommen werden.

Hund No. 35, 19 kg 500 g schwer.

3. Juli 1903. Den Versuchen geht die Analyse des Magensaftes nach der Hayem-Winterschen Methode voran, die folgende Werte liefert:

Gesamtsäure (A)	= 153	Gesamtchlor (T) = 316
Freie Salzsäure (H)	= 0	Fixes Chlor (F) = 174
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 142	

Die Phloroglucin-Vanillin-Reaktion ist negativ.

4. Juli. Intravenöse Einspritzung von 10 ccm Serum (vom 25. Juni, Ziege No. 2). Das Tier schwankt, fällt auf die Seite, erholt sich aber rasch.

7. Juli. Einspritzung von 15 ccm desselben Serums. Das Tier ist in der Folge sehr mißgestimmt, erbricht und hat später bluthaltige Darmentleerungen.

8. Juli. In die Jugularis werden 18 ccm Serum (derselben Herkunft) eingespritzt. Keine wichtigen Folgeerscheinungen.

9. Juli. Einspritzung von 18 ccm desselben Serums. Verspätet auftretende Blutspuren in den Darmentleerungen.

10. Juli. In die Jugularis werden 20 ccm Serum (der gleichen Herkunft) eingespritzt. Verspätet eintretende Blutfärbung der Darmentleerungen.

11. Juli. Wiederholung der Einspritzung mit gleicher Serumdosis. Keine bemerkenswerten Erscheinungen.

12. Juli. Einspritzung von 25 ccm des gleichen Serums. Das Tier erbricht, schwankt, bleibt dann liegen. Baldige Erholung.

18. Juli. Analyse des Mageninhaltes nach Hayem - Winter:

Gesamtsäure (A)	= 135	Gesamtchlor (T) = 328
Freie Salzsäure (H)	= 0	Fixes Chlor (F) = 207
Organisch gebundenes Chlor (C)	= 207	

Die Phloroglucin-Vanillin-Reaktion blieb negativ.

Die Analyse ergibt keinen merklichen Wechsel des Magenchemismus. Weitere Versuche werden an diesem Tiere nicht mehr vorgenommen.

Wir machten Versuche an zahlreichen anderen Hunden. Es ist unnötig, dieselben hier ausführlich zu schildern. Diese neuen Bemühungen, chronische Magenläsionen zu erzielen, waren fruchtlos, sei es, weil die Tiere zu rasch infolge der Serumeinverleibung verendeten, sei es, daß man infolge von Zufällen dieselben wegwarf.

Dies sind die Tatsachen, die wir auf Grund unserer Versuche mit dem spezifischen Serum gegen die Magenschleimhaut des Hundes beobachten konnten. Nun wollen wir dieselben aneinanderreihen und versuchen, die Schlüsse zu ziehen, die sich aus ihnen ergeben.

Die subkutane Einspritzung dieses Serums beim Hunde bedingt keine wesentlichen Erscheinungen (Hund No. 1 und 2), selbst wenn 6 ccm Serum pro kg Tier einverleibt werden. Was nun die wiederholten sub-

kutanen Einspritzungen betrifft, so wollen wir die erhaltenen Resultate in jenem Abschnitte anführen, in welchem wir über unsere Versuche, subakute und chronische Magenläsionen hervorzurufen, berichten werden.

Ganz anders ist das Verhalten, wenn das gastrotoxische Serum dem Hunde in die Venen eingespritzt wird.

Wir begannen, um uns der Wirkung am Hunde zu versichern, mit der Einspritzung normalen Ziegenserums, das in den Blutkreislauf gebracht wurde, wobei festgestellt wurde, daß eine Gabe von 4 und 5 ccm pro kg Tier weder sofortige noch später auftretende Erscheinungen veranlaßte (Hunde No. 6 und 7).

Wenn aber im Gegenteil in die Jugularvene des Hundes 4 ccm gastrotoxischen Serums pro kg Tier eingespritzt werden (Hunde No. 8 und 9), so tritt der Tod in 10—15 Minuten blitzartig ein. Zu bestimmter Zeit, als das Serum stark wirkend geworden war, trat der Tod ebenso rasch bei 1 ccm und noch weniger pro kg ein (Hunde No. 18 und 20). Der Hund bot folgende Erscheinungen: Aufgeregtheit gleich nach der Einspritzung; nach 2—3 Minuten ist derselbe nicht mehr im stande, aufrecht stehen; er taumelt und fällt auf die Seite, befindet sich in subkomatösem, bald aber in komatösem Zustand, mit tiefer, unregelmäßiger Atmung. In diesem Zustand verendet das Tier 10—15 Minuten nach der intravenösen Einspritzung. Bei der Sektion findet sich die Schleimhaut des Magens und des Dünndarmes bläulichrot, eine Färbung, die sich bis in die Gegend der Ileocökalclappe fortsetzt; die Schleimhaut des Dickdarmes bietet nichts dergleichen. Sämtliche übrigen inneren Organe haben ein normales Aussehen. Das Blut ist nicht lackig. Einige Tiere verendeten rasch nach der Einspritzung einer großen Menge Serums und fanden sich dann an der Magenschleimhaut histologische Veränderungen. Die Kapillaren sind erweitert und mit roten Blutkörperchen vollgestopft, namentlich an der Oberfläche der Magenschleimhaut (Hunde No. 8 und 9). In einem Falle fehlten die Basalfäden an den Hauptzellen; die ganze Zelle ist von einem Netzwerk eingenommen, ohne daß in demselben pepsinogene Granulationen vorhanden waren. Im zweiten Falle ist der Basalteil nur angedeutet, so daß nur einige Profermentgranulationen übrig geblieben sind. Die Kerne sind wohl erhalten. Die Randzellen haben fast überall ein normales Aussehen. Trotzdem sieht man, daß sie an der Oberfläche der Schleimhaut getrübt sind — es ist dies die Folge der Auflösung ihrer cytoplasmischen Granulationen. Auf diesem Zellgrund, hellrosig in einigen Elementen, dunkelrot in den anderen, lösen sich einige schlecht gefärbte Granulationen ab. Die Kerne einiger dieser Randzellen mit modifiziertem Cytoplasma zeigen ein homogenes Aussehen (Fig. 8). Dieselben sind durchweg zusammengeschrumpft und in ihren Umrissen verändert. Schließlich fanden sich auch Spirillen in einigen Randzellen.

Die intravenöse Einspritzung schwächerer Dosen gastrischen Cytolysins ( $\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$  ccm pro kg Tier) erzeugten deutliche klinische Erscheinungen von seiten des Verdauungsapparates. Sobald die Einspritzung gemacht wird, erbricht das Tier die Nahrung, während die Kotentleerung normal erscheint. Nach einigen Minuten kann das Tier sich nicht mehr auf den Füßen halten, so daß es auf der Seite liegen bleibt. Manche Tiere wimmern, während alle schwerleidend erscheinen. Unter der Bauchwand sieht man die Darmschlingen sich abzeichnen, verschwinden und von neuem erscheinen; es sind dies gesteigerte peristaltische Bewegungen.

Später tritt schleimiges Erbrechen von manchmal rosig gefärbten



Massen auf, das aber bald stillsteht. Die Kotentleerungen werden immer flüssiger. Der noch immer niedergeschlagene, auf der Seite liegende Hund beginnt allmählich sich wieder zu erholen, und zwar etwa  $\frac{1}{2}$  bis 1 Stunde nach der Einspritzung; einige können sich dann auf den Füßen halten.

Etwa 2—3 Stunden nach der Einspritzung ist das Tier wieder niedergeschlagen. Die diarrhoischen Stühle sind mit Blut vermischt, die später ganz und gar blutig sind, in größerer oder geringerer Menge. Dies war das Verhalten der Hunde No. 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 und 19. Die mehr oder weniger starken Darmblutungen sind mehrmals von neuem aufgetreten. Schließlich starben die Tiere in Hypothermie 3—23 Stunden nach der Einspritzung, höchst wahrscheinlich infolge der Darmblutung.

Bei der Sektion fand man die Schleimhaut der großen Sackgasse des Magens stark gerötet. Der Magen enthielt manchmal mittels des extravasierten Blutes rosig gefärbten Schleim. In einem Falle (Hund No. 17), wo der Tod des Tieres nach 23 Stunden eingetreten war, zeigte der Magen extravasirtes Blut unter der Schleimhaut — wirkliche submuköse Hämatome. Die manchmal rosige Pylorusmucosa zeigt lange nicht die kongestive Färbung der großen Sackgasse. Der Darm enthält eine große Menge Blutes, die ihn ganz ausfüllt. Nachdem die Oberfläche des Darmes abgewaschen war, konnte eine intensive Kongestion der ganzen Schleimhaut des Dünndarms festgestellt werden, die tief rot erscheint.

Die histologische Untersuchung der Schleimhaut der großen Sackgasse des Magens zeigt das Vorhandensein einer sehr starken Kongestion. Die Kapillaren sind in der ganzen Dicke der Mucosa erweitert und mit roten Blutkörperchen ausgefüllt. Sowohl auf Längs- wie auf Querschnitten sieht man die Drüsen von einer Zone roter Blutkörperchen umgeben, und zwar finden sich dieselben in den Kapillaren oder sie sind durch einen Wandriß ausgetreten.

Die Untersuchung der feineren Histologie der Drüsenzellen zeigt, daß hier eine tiefgreifende Veränderung der Randzellen vorhanden ist, während die Hauptzellen in ihrer Morphologie nur wenig oder gar nicht gelitten haben. Die Randzellen zeigen schwankende Veränderungsstufen: Die einen sind in anscheinend glasige Blocks umgewandelt, ohne deutlich sichtbare Körnung; diese Blocks sind mittels saurem Fuchsin tiefrot gefärbt, die anderen zeigen stark verwischte, zum Teil aufgelöste Granulationen, die sich mehr oder weniger auf einem hellrosigen oder dunkler roten Grund abheben.

Die Kerne der Randzellen sind in einer bestimmten Zahl dieser Elemente wohl erhalten, in anderen Zellen haben sie ein homogenes Aussehen mit unregelmäßigen Umrissen; die Kerne erscheinen geschrumpft. Sie färben sich lebhaft mittels Farbstoff und scheint ihre Färbung ein Zwischending zu sein zwischen derjenigen, die durch Fuchsin und jener, die mittels Hämatein erzielt wird.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Beziehungen der Immunkörper zur präzipitinogenen<sup>1)</sup> Substanz des Blutserums (Bakterienagglutinine).

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien (Vorstand:  
Prof. R. Paltauf).]

Von Privatdoz. Dr. **B. Kraus** und Dr. **E. Příbram**.

Beim Studium der Frage nach der Entstehung der Antiantitoxine und Antiagglutinine haben zuerst Kraus und Eisenberg (1) sich damit beschäftigt, zu ermitteln, ob durch Serumpräzipitine in den artgleichen Seris Immunsbstanzen wie Antitoxin, Agglutinin mitgefällt werden dürften.

In letzter Zeit haben Dehne und Hamburger (2) diese Frage wieder aufgenommen und sie zum Gegenstand weiterer Untersuchungen gemacht. Diese Autoren konnten im Gegensatze zu den von uns erhobenen Befunden zeigen, daß Serumpräzipitin (Antipferdeserum) im stande ist, mit der Fällung des Präzipitinogens im antitoxischen Pferdeserum Tetanusantitoxin nicht nur *in vitro*, sondern auch *in vivo* unwirksam zu machen<sup>2)</sup>.

Die Methode, welcher sich Dehne und Hamburger bedient haben, war von derjenigen, welche wir angewendet hatten, abweichend. Zur Zeit, als nämlich unsere Untersuchungen gemacht wurden, war die Tatsache der spezifischen Hemmung der Präzipitation durch konzentriertes Serum (Präzipitinogen) noch nicht gekannt. Diese Fehlerquelle, die man *a priori* als Ursache unserer Befunde ansehen dürfte, haben Dehne und Hamburger vermeiden können, und sind deshalb bei der gleichen Fragestellung zu richtigeren Resultaten gelangt.

Die Sicherstellung der von Dehne und Hamburger erhobenen Tatsachen, deren Bestätigung und Verallgemeinerung auf andere Immunsbstanzen, machte es wünschenswert, unsere früheren Untersuchungen mit der verbesserten Methode einer Nachprüfung zu unterziehen.

Wenn auch bis jetzt die Natur der Immunkörper unbekannt geblieben ist, besteht doch allgemein die Auffassung, daß Antitoxine, Agglutinine und andere Immunsbstanzen mit gewissen Eiweißkörpern (Globuline) des Blutserums in Beziehung zu bringen sind. Das Präzipitinogen (präzipitierbare Substanz) des Blutserums, ebenfalls in seiner Natur unbekannt, ist bisher eiweißfrei nicht dargestellt worden, so daß man dasselbe auch mit Eiweißkörpern in Verbindung zu bringen geneigt ist.

Ob diese Körper an ein und denselben Eiweißkörper geknüpft sind, ob sie zueinander in irgendwelcher Beziehung stehen dürften und welcher Art diese wäre, ließ sich bisher mittels chemischer Methoden nicht ermitteln. Wie bereits einleitend erwähnt wurde, haben Kraus und Eisenberg auf biologischem Wege die Beziehung zwischen Immunkörper und Präzipitinogen des Serums aufzudecken versucht. Erst Dehne und Hamburger haben feststellen können, daß Präzipitinogen des Pferde-

1) Als präzipitinogene Substanz bezeichnen wir die präzipitierbare Substanz der Autoren. Näheres über die Nomenklatur findet sich in der Zusammenstellung von Kraus im Handbuch von Kolle und Wassermann.

2) In der Arbeit „Zur Frage der passiven Immunisierung“ von Kraus und Joachim findet sich die Bemerkung, daß ein geringer Teil des Antitoxins mit den Niederschlägen mitgerissen wird.

serums als normaler Bestandteil desselben und das durch Immunisierung entstandene Antitoxin (Tetanus) eng aneinander geknüpft sind.

Daß heterogene Antigene wie Agglutinin und Toxin trotz Verschiedenheit in Beziehung zueinander stehen können, indem beiden eine gleichbindende Gruppe für das Antiricin zukommt, hat Jacoby am Ricin zeigen können. Auch Antikörper können sich ähnlich verhalten, wie aus Versuchen von Ehrlich und Marshall an Ambozeptoren hervorgeht.

Der Zusammenhang zwischen Präzipitinogen und Antitoxin konnte dadurch ermittelt werden, daß es gelungen ist, mit einem durch normales Pferdeserum gewonnenen Präzipitin in einem bestimmt verdünnten Pferdeimmunserum, dessen Antitoxingehalt gekannt war, das Antitoxin unwirksam zu machen. Wie die weitere Analyse ergab, wurde das Antitoxin nicht bloß mechanisch mitgefällt, sondern wurde mit dem Ausfällen des Präzipitinogens in eine nicht reaktionsfähige Form umgewandelt. Dehne und Hamburger meinen, daß die Aenderung des Aggregatzustandes des Präzipitinogens das Uebergehen in eine unlösliche Verbindung die Unwirksamkeit des Antitoxins ausmacht. Wenn auch, wie wir noch sehen werden, diese Vorstellung nicht die richtige sein dürfte, kann man jedenfalls auf Grund der vorliegenden Versuche sagen, daß Präzipitin im stande ist, Antitoxin unwirksam zu machen.

Die Untersuchungen von Dehne und Hamburger wurden bloß mit antitoxischem Serum von einem Pferd (Mylight) ausgeführt und die Möglichkeit wäre denkbar, daß dieses merkwürdige Verhalten des Antitoxins und Präzipitinogens ein zufälliges sei. Es war zuerst zu zeigen, daß Immunsera verschiedener Tiere sich in dieser Richtung gleich verhalten.

#### I.

Die orientierenden Versuche wurden zunächst mit Serum von Pferden, die mit Tetanustoxin immunisiert waren, ausgeführt. Die Versuchsanordnung war dieselbe, wie sie bereits von Kraus und Eisenberg zur Anwendung gelangt ist, indem das Immunserum mit dem Präzipitin versetzt wurde, und nach 12—24 Stunden die über dem entstandenen Niederschlag stehende Flüssigkeit auf ihren Antitoxingehalt geprüft wurde. Die Immunsera wurden aber nicht nur konzentriert verwendet, sondern mußten, um die spezifische Hemmung der Niederschlagsbildung aususchalten, in Verdünnungen in Anwendung gebracht werden.

Bereits der erste Versuch spricht deutlich dafür, daß die negativen Resultate unserer früheren Versuche an der ungenügenden Methodik damals gescheitert sind (s. Tab. p. 74).

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Tetanusantitoxin, so wie es Dehne und Hamburger angeben, durch Präzipitin unwirksam gemacht werden kann.

Wichtig ist, um diesen Nachweis zu erbringen, daß das antitoxische Serum verdünnt zur Anwendung gelangt. In den Proben, in welchen konzentriertes Serum mit Präzipitin verwendet wurde, sind bei den angeführten Auswertungen keine Verluste an Antitoxin zu verzeichnen. —

Die Mitfällung eines Immunkörpers durch Präzipitin schien sich am exaktesten bei denjenigen Immunsbstanzen ermitteln zu lassen, deren Nachweis ohne Tierkörper in vitro möglich ist. Aus diesem Grunde werden die weiteren Versuche mit Bakterienagglutinin ausgeführt, da ja deren Nachweis auf das genaueste durchführbar ist.

Im folgenden soll erst ermittelt werden, ob das für Antitoxine fest-

## 1. Versuch mit Präzipitin 32 und Tetanusantitoxin vom Pferde „Mylight“.

Menge des Präzipitins <sup>1)</sup> ccm	Menge des Immuns- serums ccm	Verdün- nung des Immuns- serums	Nieder- schlag	Geprüfter Wert des Serums nach der Präzipitation	Resultat
0,3	1,5	konzent.	kein Nieder- schlag	0,001 0,0001 0,000001	} kein Tetanus
0,3	1,5	1 : 10	$\frac{1}{10}$	0,0001 0,000001	
0,3	1,5	1 : 100	$\frac{1}{100}$	0,0001 0,000001 0,0000001	
0,3	1,5	1 : 500	$\frac{1}{500}$	0,0001 0,000001	kein Tetanus Tetanus +
0,3	1,5	1 : 1000	$\frac{1}{1000}$	0,0001	Tetanus +
0,3	1,5	1 : 4000	$\frac{1}{4000}$	0,0001	Tetanus +

## 2. Versuch mit Präzipitin 11 und Tetanusantitoxin vom Pferde „Drusus“.

Menge des Präzi- pitins <sup>2)</sup> ccm	Menge des Im- muns- serums ccm	Verdün- nung des Immuns- serums	Nieder- schlag	Geprüfter Wert des Serums nach der Präzipitation	Resultat
0,3	1,5	1 : 100	$\frac{1}{100}$	0,001 0,0001 0,000001	} kein Tetanus
0,3	1,5	1 : 500	$\frac{1}{500}$	0,001 0,0001 0,000001	
0,3	1,5	1 : 1000	$\frac{1}{1000}$	0,0001 0,000001	} Tetanus +
0,3	1,5	1 : 4000	$\frac{1}{4000}$	0,0001 0,000001	

gestellte Verhalten auch für Agglutinine zutrifft. Es werden einige Sera von verschiedenen Pferden herangezogen, um die Konstanz der Erscheinung zu ermitteln. Im weiteren wird der Mechanismus dieser merkwürdigen Erscheinung der Neutralisation der Antikörper durch ein Serumpräzipitin einer Analyse unterzogen. Es sollte die Frage gelöst werden, die von vorneherein sich aufdrängt, ob das Unwirksammachen der Antitoxine durch eine mechanische Mitfällung, Mitreißen der Antitoxine mit dem Präzipitat zu erklären sein dürfte. Wissen wir doch, daß Niederschläge verschiedener Art anorganische und organische feinst suspendierte Partikel, Bakterien, Enzyme, Eiweißkörper mitreißen. Es wäre zunächst auch hier an die Möglichkeit einer mechanischen Fällung zu denken.

1) Das Präzipitin, welches in diesem und den folgenden Versuchen verwendet wurde, stammt von Kaninchen, die mit normalem Pferdeserum vorbehandelt wurden. Der Wert des Serums ist vorher genau bestimmt. Das antitoxische Serum ist auf eine letale Dosis für Mäuse ausgewertet. Wert des Präzipitins: 0,3 S. + 1,0 Pferdeserum, 1 : 10 000 Niederschlag. Wert des Antitoxins: 0,0000001 ccm.

2) Wert des Präzipitins: 0,3 + 1,0 Pferdeserum 1 : 1000 Niederschlag. Wert des Antitoxins: 0,000005.

Weitere Versuche mußten dann in der Richtung angestellt werden, das Unwirksamwerden des Antitoxins in direkte Beziehung zum Präzipitinogen zu bringen. Die Versuche sollen zunächst zeigen, daß das Präzipitinogen des Serums und der Antikörper eng zusammenhängen, die Art der Verbindung soll untersucht werden, und die Frage entschieden, ob die Fällung des Präzipitinogens durch das Präzipitin oder schon die Bindung desselben allein ausreichend ist, das Unwirksamwerden der Antikörper zu erklären.

Folgende Versuche sind mit Seren von Pferden ausgeführt, die mit Typhusbacillen, Cholera vibriolen durch längere Zeit immunisiert worden sind, und deren Serum hohe Agglutininwerte besaß. Die Anordnung der Versuche war die gleiche wie die mit Antitoxin. Das agglutinierende Pferdeserum, dessen Agglutiningehalt genau bestimmt war, ist mit Pferdepräzipitin versetzt worden, und nach 24 Stunden, nachdem der Niederschlag abzentrifugiert, wurde die Flüssigkeit auf ihren Agglutiningehalt ausgewertet (s. Tab. p. 76).

Im allgemeinen zeigt es sich, daß Agglutinin sowie Antitoxin durch Serumpräzipitin außer Funktion gesetzt werden kann. Um dieses Verhalten deutlich zum Ausdruck zu bringen, ist es notwendig, entweder große Mengen des Präzipitins zu nehmen, oder bei kleinen Mengen Präzipitin starke Verdünnungen des agglutinierenden Serums [Präzipitinogen<sup>1)</sup>] anzuwenden. Wir sehen beispielsweise im 3. Versuch, daß 0,2 ccm Präzipitin nicht im stande ist, bei einer 500fachen Verdünnung Agglutinin unwirksam zu machen, was durch Zusatz von 1 ccm gelingt. Die Verluste des Agglutinins stehen in einem direkten Verhältnis zur gefällten oder gebundenen Menge des Präzipitinogens. Daß die Verluste des Agglutinins mit der Menge der Niederschläge in keinem Zusammenhang stehen, daß demnach die Verluste durch ein Mitfällen des Agglutinins mechanisch nicht zu erklären sind, zeigt Versuch 1 und 2. Im 1. Versuch finden wir bei einer Niederschlagsmenge  $\frac{7}{8}$  den gesamten Agglutiningehalt, und im 3. Versuch bei  $\frac{1}{8}$  Niederschlag sehr große Verluste. Ein gleiches Verhalten wie das agglutinierende Typhusserum wiesen auch Sera von Pferden auf, die mit Cholera vibriolen immunisiert waren. Auch das agglutinierende Cholera-serum wird unwirksam, wenn es mit Pferdepräzipitin vorbehandelt wurde, wie aus folgendem Versuch hervorgeht (s. Tab. p. 77).

In diesen Versuchen wurde dasselbe Präzipitin verwendet, wie in den früheren mit Typhusserum, und die Resultate sind gleich, insofern, als

1) An einem Beispiele läßt sich zeigen, warum der Verlust nur bei hohen Verdünnungen in Erscheinung tritt, während bei konzentrierten Lösungen derselbe nicht nachweisbar ist.

In dem Beispiele auf p. 76 1. Vers. ist die Wertigkeit des Gigantserums gegen Formalinbakterien etwa 1:32 000. In einer Verdünnung 1:50 sind also etwa 600 Agglutinin-Einheiten (A.E.) vorhanden. Nach der Präzipitation erhält man bei 16 000fachen Verdünnung des Serums (also 320facher der Ausgangsverdünnung) keine Agglutination mehr. Der sichere Verlust an A.E. beträgt also die Hälfte der in der 50fachen Verdünnung vorhandenen Menge, also  $\frac{1}{2}$  A.E. = 300 A.E.

Nehmen wir nun den gleichen Verlust in einer Verdünnung des Serums 1:10 an (Zeile 1), so würden in dieser Verdünnung statt 3200 A.E. nunmehr etwa 2900 A.E. vorhanden sein. Diese Konzentration kann bis auf das 2900fache (im Versuche 2500fache) verdünnt werden, ohne daß die Agglutination unterbleibt, da eine A.E. noch agglutinierend wirkt. Im obigen Falle (50fache Verdünnung) hingegen verschwinden von den 600 vorhandenen 300 Einheiten, bleiben also nur 300 übrig. Hier muß bereits eine Verdünnung auf das  $\frac{1}{2}$  = 320fache den genannten Verlust in Erscheinung treten lassen, da keine ganze A.E. mehr vorhanden ist.

## 1. Versuch mit Präzipitin 29 und Agglutinin vom Pferde „Gigant“.

Menge des Präzipitins <sup>1)</sup> ccm	Menge des Immuns- serums ccm	Verdün- nung des Immuns- serums	Nieder- schlag	Geprüfter Wert des Serums nach der Präzipitation	Resultat
1,0	1,0	1:10	$\frac{7}{8}$	1:120—1:25 000	Agglutination
1,0	1,0	1:50	$\frac{4}{5}$	1:200—1:4000 1:8000 1:16 000	Agglutination partielle Agglut. keine Agglut.
0,5	1,0	1:500	$\frac{4}{5}$	1:400—1:4000 1:8000 1:16 000	Agglutination partielle Agglut. keine Agglut.

2. Versuch mit Präzipitin 11<sup>2)</sup> und Agglutination vom Pferde „Gigant“.

Menge des Präzi- pitins ccm	Menge des Im- muns- serums ccm	Verdün- nung des Immuns- serums	Nieder- schlag	Geprüfter Wert des Serums nach der Präzipitation	Resultat
0,3	1,0	1:50	Nieder- schlag	1:200—1:4000	Agglutination
0,3	1,0	1:100	Nieder- schlag	1:200—1:1000 1:4000	Agglutination keine Agglut.
0,3	1,0	1:500	$\frac{4}{5}$	1:4000—1:30 000	keine Agglut.
0,3	1,0	1:1000	$\frac{5}{8}$	1:4000—1:30 000	keine Agglut.

3. Versuch mit Präzipitin 132<sup>3)</sup> und Agglutinin vom Pferde „Gigant“.

Menge des Präzi- pitins <sup>1)</sup> ccm	Menge des Im- muns- serums ccm	Verdün- nung des Immuns- serums	Nieder- schlag	Geprüfter Wert des Serums nach der Präzipitation	Resultat
0,2	1,0	1:100	Nieder- schlag	1:2000—1:14 000	Agglutination
0,2	1,0	1:500	„	1:2000—1:14 000	Agglutination
0,2	1,0	1:1000	„	1:4000—1:14 000	keine Agglut.
0,2	2,0	1:500	„	1:400—1:30 000	Agglutination
0,2	2,0	1:1000	„	1:4000 1:6000—8000 1:12 000—1:30 000	Agglutination partielle Agglut. keine Agglut.
0,5	1,0	1:100	„	1:4000 1:8000 1:12 000—30 000	Agglutination partielle Agglut. keine Agglut.
0,5	1,0	1:500	„	1:4000—30 000	keine Agglut.

1) Wert des Präzipitins: 0,3 S. + 1,0 S., 1:1000 spärlicher Niederschlag. Wert des Pferdeserums: Auf lebende Bakterien 1:15 000, auf Formalinbakterien 1:30 000. In fast allen Versuchen wurden Formalinbakterien benutzt, um gleichmäßige Resultate zu bekommen.

2) Wert des Präzipitins: 0,03 + 1,0 S., 1:1000 Niederschlag.

3) Wert des Präzipitins: 0,3 + 1,0 S., 1:10 000 Niederschlag.

Die Auswertung erfolgt auf lebende Bakterien, die m. dem Serum nicht so hoch agglutinieren wie Formalinbakterien

Formalinbakt.

Versuch mit Präzipitin 11 und Agglutinin von Pferden „Diana“, „Edith“<sup>1)</sup>.

Menge des Präzipitins ccm	Menge des Immunsersums ccm	Verdünnung des Immunsersums	Niederschlag	Geprüfter Wert des Serums nach der Präzipitation	Resultat
0,3	1,0 Diana	1:1000	$\frac{1}{10}$	1:4000—1:8000	keine Agglut.
0,3	1,0 Edith	1:500	$\frac{1}{10}$	1:4000—1:8000	keine Agglut.
0,3	1,0 „	1:1000	$\frac{1}{10}$	1:4000—1:8000	keine Agglut.

auch Choleraagglutinin durch Serumpräzipitin unwirksam gemacht werden kann. Diese eben angeführten Verhältnisse sind aber nicht immer konstant. Der folgende Versuch mit Serum „Edgar“ zeigt gleich ein abweichendes Verhalten.

Es ließ sich nachweisen, daß Präzipitin, welches im Serum „Gigant“ große Verluste an Agglutinin zur Folge hat, nicht im stande war, im Serum „Edgar“ Agglutinin unwirksam zu machen. Dieser Versuch wurde mit einem zweiten Präzipitin wiederholt, und auch hier konnte im Gegensatz zum Serum „Gigant“ kein Verlust erzielt werden. Es zeigt sich weiter, ebenso wie in den früheren Versuchen, daß die Verluste an Agglutinin nicht mit den Niederschlägen in Beziehung zu bringen sind. Trotzdem hier Niederschlagsmengen  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{40}$  beobachtet werden konnten, war der Agglutiningehalt des Serums konstant geblieben. Daß die Verluste an Agglutinin nicht durch die Fällung des Präzipitinogens allein zu erklären sind, zeigt der Versuch mit Präzipitin 163. Nachdem durch Serumpräzipitinzusatz kein Agglutininverlust nachweisbar war, wurde noch einmal Präzipitin zugesetzt. Der Niederschlag, der  $\frac{1}{80}$  betrug, wurde nach abermaligem Zusatz von Präzipitin nicht größer, und doch trat Agglutininverlust wie im Serum „Gigant“ auf.

## Versuch mit Präzipitin 29, 11, 163 und Serum vom Pferde „Edgar“, „Gigant“.

Menge des Präzipitins ccm	Menge des Immunsersums ccm	Verdünnung des Immunsersums	Niederschlag	Geprüfter Wert des Serums nach der Präzipitation	Resultat	Kontrollversuch mit Serum „Gigant“
0,3 S. 29	1,0	1:1000	$\frac{1}{10}$	1:4000—1:30000	Agglutinat.	1:4000—1:30000 keine Agglut.
0,5 S. 11	1,0	1:1000	$\frac{1}{10}$	1:4000—1:30000	Agglutinat.	1:4000—1:30000 keine Agglut.
0,5 S. 11	1,0	1:1000	$\frac{1}{10}$	1:4000—1:30000	Agglutinat.	
0,5 S. 163	1,0	1:1000	$\frac{1}{80}$	1:4000—1:30000	Agglutinat.	1:4000—1:30000 keine Agglutinat.
0,5 S. 163	—	—	$\frac{1}{80}$	1:4000—1:30000	keine Aggl.	

Daß ein und dasselbe Präzipitin in gleichen Mengen angewandt und auf gleiche Verdünnungen des Agglutinins trotz Bildung von Niederschlägen in dem Serum „Gigant“ Agglutininverlust bedingt, an Serum „Edgar“ aber nicht, läßt die Vermutung plausibel erscheinen, daß im Serum das Präzipitinogen, an das der Immunkörper gebunden

1) Wert des Pferdeserums Edith und Diana 1:8000.

ist, nicht einheitlich sein dürfte. Der nächste Versuch scheint auch in diesem Sinne zu sprechen. Das ebenfalls durch normales Pferdeserum gewonnene Präzipitin von Kaninchen 124 vermag Agglutinin im Serum „Edgar“ ebenso wie im Serum „Gigant“ unwirksam zu machen.

Menge des Präzipitins ccm	Menge des Immunserrums ccm	Verdünnung des Immunserrums	Niederschlag	Geprüfter Wert des Serums nach der Präzipitation	Resultat	Kontrollversuch mit Serum „Gigant“
0,5 S. 124	1,0	1:100	$\frac{1}{2}$	1:400—1:12 000 1:12 800	Agglutinat. part. Aggl.	1:400—6000 Agglutination 1:12 000 keine Agglutination
0,3	1,0	1:500	$\frac{1}{2}$	1:4000—1:32 000	keine Aggl.	1:4000—1:12 000 keine Agglutinat.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen konform allen anderen, daß auch im Serum „Edgar“ das Agglutinin durch Serumpräzipitin unwirksam gemacht werden kann. Daß nicht jedes Präzipitin diese Wirkung auszuüben vermag, ist jedenfalls sehr merkwürdig. In weiteren daraufhin gerichteten Versuchen konnte dieses Verhalten noch bei zwei anderen Seren von Pferden nachgewiesen werden. Das Serum „Zoroaster“ und „Elsa“ von Pferden, die mit Typhusbacillen verhielt sich ganz so, wie Serum „Edgar“. Obwohl Präzipitin 29 im Serum „Gigant“ das Agglutinin unwirksam machen konnte, waren in diesen Seren bei einer Niederschlagsmenge  $\frac{1}{2}$  gar keine Verluste zu verzeichnen. Wurde aber das Präzipitin 124 zum Versuche verwendet, dann waren die Verluste ganz typisch nachzuweisen.

Menge des Präzipitins ccm	Menge des Immunserrums ccm	Verdünnung des Immunserrums	Niederschlag	Geprüfter Wert des Serums nach der Präzipitation	Resultat
0,5 S. 29	1,0 Zooaster	1:1000	$\frac{1}{8}$	1:4000—16 000	Agglutination
0,5 S. 29	1,0 Elsa	1:1000	$\frac{1}{8}$	1:4000—1:30 000	Agglutination
0,3 S. 124	1,0 Zooaster	1:1000	$\frac{1}{4}$	1:4000—1:16 000	keine Aggl.
0,3 S. 124	1,0 Elsa	1:1000	$\frac{1}{4}$	1:4000—1:30 000	keine Aggl.

## II.

Schon aus den angeführten Versuchen konnte man den Schluß ziehen, daß die Ursache des Verlustes der Immunkörper nicht in einer Mitfällung, also mechanisch zu erklären sei. Weitere Versuche könnten direkte Beweise für diese Annahme erbringen.

### 1. Versuch.

1,0 Eiklarpräzipitin 10 + 2,0 Gigantser. 1:1000 + 1,0 Eiklar 1:10—1:100; davon nach Abzentrifugieren des Niederschlages agglutiniert die obere Flüssigkeit in Verdünnungen 1:4000—1:30 000 Typhusbakterien.

### 2. Versuch.

0,3 Pferdepräzipitin 11 + 1,0 Gigantser. 1:1000 + 1 Edgarser. 1:1000; nach Abzentrifugieren des Niederschlages  $\frac{1}{6}$  agglutiniert die obere Flüssigkeit in Verdünnungen 1:4000—1:30 000 Typhusbakterien.

### 3. Versuch.

0,3 Pferdepräzipitin 11 + 1,0 Gigantser. 1:1000 + 1 Ziegenser. agglutiniert B. dys. Flexner 1:10—1:50—1:100; nach Abzentrifugieren des Niederschlages  $\frac{1}{6}$  agglutiniert die obere Flüssigkeit in Verdünnungen 1:50—1:300 Bac. dysent. Flexner ebenso wie das Ziegenserum.



Es läßt sich aus allen 3 Versuchen ableiten, daß die Niederschläge die Verluste des Immunkörpers nicht erklären können. Aus dem ersten Versuch geht zunächst hervor, daß ein Niederschlag überhaupt nicht im stande ist, etwas von dem Immunkörper mitzureißen, daß demnach der Fällung durch homologes Präzipitin etwas Spezifisches anhaften muß. Der zweite Versuch lehrt dies noch viel deutlicher. Das Serum „Gigant“, vermischt mit Serum „Edgar“, verliert die Agglutinine, wogegen das Serum „Edgar“ keinen Verlust aufzuweisen hat. Dieser Versuch spricht außerdem noch für die aufgestellte Behauptung, daß die Immunkörper nicht an identische Präzipitinogene gebunden sein dürften.

Die Möglichkeit wäre nach all dem Angeführten zu erörtern, ob überhaupt der Immunkörper (Antitoxin, Agglutinin) an das Präzipitinogen gebunden ist, und nicht etwa ein anderer Gegenkörper als das Präzipitin die Unwirksamkeit ausmacht. Nachdem das Präzipitin durch normales Pferdeserum gewonnen ist, kann der Gegenkörper kein Antiagglutinin sein. Außerdem haben Kraus und Eisenberg, Kraus und Joachim zeigen können, daß Antiantitoxine und Antiantiagglutinine nicht gebildet werden. Dehne und Hamburger konnten nachweisen, daß der Immunkörper im Niederschlag nachzuweisen ist, daß demnach die Ursache der Verluste doch in der engen Verknüpfung des Immunkörpers mit dem Präzipitinogen zu suchen sei.

Die Beweisführung, deren sich Dehne und Hamburger bedienen, findet sich auch zum Teil in unseren Versuchen wiedergegeben. Es wurde zunächst der Versuch gemacht, nachzuweisen, ob der Immunkörper durch Aufschwemmung des Niederschlages in Kochsalzlösung nicht wiederzugewinnen wäre. Aus dem Früheren läßt sich a priori sagen, daß dieser Versuch negativ ausfallen muß, da ja sonst das mechanische Mitreißen der Immunkörper zu Recht bestehen müßte.

a) 0,1 Ser. 132 + 2,0 Gigantser. 1:1000, Niederschlag  $\frac{1}{80}$ ; die obere Flüssigkeit agglutiniert in Verdünnungen 1:4000—1:30 000 Typhusbakterien nicht. Der Niederschlag wird aufgeschwemmt und auf Agglutination in Verdünnungen 1:4000—1:30 000 geprüft. Die Aufschwemmung agglutiniert nicht.

b) 0,1 Ser. 132 + 2,0 Gigantser. 1:1000, Niederschlag  $\frac{1}{80}$ ; der Niederschlag wird in 2 ccm normalen Pferdeserum gelöst bei 50° und die Lösung geprüft in Verdünnungen 1:4000—1:30 000, agglutiniert.

c) 0,3 Ser. 11 + 1,0 Gigantser. 1:500; der Niederschlag wird in 2 ccm normalen Pferdeserum bei 55° gelöst und die Lösung geprüft in Verdünnungen 1:4000—1:30 000, agglutiniert.

Man kann ersehen, daß der Niederschlag das Agglutinin nicht in mechanischer Form bindet, da ja bei der Aufschwemmung das Agglutinin in Lösung übergehen müßte. Es ist demnach das Agglutinin in einer anderen, organischen Verbindung mit dem Präzipitinogen zu denken, wofür der Versuch b und c zu sprechen scheinen. Wird nämlich der Niederschlag durch Ueberschuß eines homologen normalen Pferdeserums gelöst, so kann man den gesamten Agglutiningehalt wiedergewinnen. Mit dem Freiwerden des Präzipitinogens ist auch das daran geknüpfte Agglutinin wieder restituiert und wirksam. Die früheren Versuche, wonach weder die Menge der Niederschläge noch der Niederschlag selbst die Ursache der Verluste sind, und das eben Angeführte sprechen in dem Sinne, daß die Bindung des Präzipitinogens an das Präzipitin allein schon genügt, das Unwirksamwerden des Immunkörpers zu erklären. Die Präzipitation, sowie die Agglutination haben wir

uns, wie ja bekannt, aus zwei Phasen entstehend zu erklären, aus der Bindung der beiden Körper und der zweiten sekundären Phase der Ausflockung. Nicht die Ausflockung des Präzipitinogens, dessen Uebergang in einen anderen Aggregatzustand, wie Dehne und Hamburger meinen, sondern die spezifische Bindung muß für die Verluste der Immunkörper verantwortlich gemacht werden. Der folgende Versuch bringt einen Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung.

#### 1. Versuch.

0,5 Präzipitin 11 erhitzt auf 65° durch 1 Stunde + 1,0 Gigantser. 1:1000 Spur Niederschlag; davon Verdünnungen 1:4000—1:30000 gaben keine Agglutination.

#### 2. Versuch.

a) 0,5 Präzipitin 11 + 1,5 dest. Wasser auf 70° durch  $\frac{1}{2}$  Stunde + 1,0 Gigantser. 1:1000 kein Niederschlag; davon 1:5000—1:30000 keine Agglutination.  
b) 0,3 Präzipitin 11 + 1,5 dest. Wasser auf 70° durch  $\frac{1}{2}$  Stunde + 1,0 Gigantser. 1:1000 kein Niederschlag; davon 1:5000—1:30000 keine Agglutination.

#### Kontrolle.

0,3 Präzipitin 11 + 1,0 Gigantser. 1:1000, Niederschlag  $\frac{1}{8}$ ; davon 1:4000—1:30000 keine Agglutination.

$\left. \begin{array}{l} 0,5 \\ 0,3 \end{array} \right\}$  Präzipitin 11 + 1,5 dest. Wasser + 1,0 Gigantser. 1:1000 Niederschlag.

In diesem Versuche wurde erhitztes Präzipitin, dem bekanntlich durch Erwärmung die Fähigkeit, Niederschläge zu erzeugen, verloren geht, nicht aber die spezifische Eigenschaft der Bindung zur Entscheidung der gestellten Frage herangezogen. Ohne daß nach Zusatz des erwärmten Präzipitins Niederschläge entstanden waren, ist der Verlust an Agglutinin ebenso groß wie der, bei welchem nicht erwärmtes Präzipitin angewendet wurde.

Man muß demnach daraus schließen, daß die Bindung des Präzipitinogens allein schon genügt, um das Agglutinin unwirksam zu machen. Dieser Versuch deckt sich vollkommen mit den Resultaten der vorangehenden Versuche, und spricht zu Gunsten der Auffassung, daß Immunkörper an das Präzipitinogen des Blutserums gebunden sein dürften.

Es wäre noch die Frage zu erledigen, wie wir uns die Verknüpfung des Agglutinins mit dem Präzipitinogen vorzustellen haben. Einleitend wurde bereits auf Analogieen hingewiesen. Jacoby, Ehrlich und Marshall haben zeigen können, daß mehrere Antigene und Antikörper miteinander verbunden sein können, und zwar in der Weise, daß ihnen eine gemeinschaftliche bindende Gruppe zukommen soll. Es wäre nach den vorliegenden Versuchen auch hier die Vorstellung gerechtfertigt gewesen, daß Immunkörper und Präzipitinogen eine gemeinschaftliche bindende Gruppe haben, und auch der folgende Versuch konnte in diesem Sinne verwertet werden.

#### 1. Versuch.

1,0 Gigantser. 1:500 + 2,0 Formalinbakterien, nach der Agglutination zentrifugiert, die Flüssigkeit + 0,5 Präzipitin 132; kein Niederschlag.

#### Kontrolle.

1,0 Gigantser. + 2 Kochsalzlösung, dazu 0,5 Präzipitin 132; Niederschlag.

#### 2. Versuch.

1,0 Edgarser. 1:500 + 2,0 Formalinbakterien, nach der Agglutination zentrifugiert, die Flüssigkeit + 0,3 Ser. 124; kein Niederschlag.

1,0 Gigants. + 2,0 Formalinbakterien, nach der Agglutination zentrifugiert, die Flüssigkeit + 0,3 Ser. 124; kein Niederschlag.

Durch Absättigung mit Typhusbakterien läßt sich, wie aus den vorangehenden Versuchen hervorgeht, das Präzipitinogen ausschalten, so daß nach Zusatz von wirksamem Präzipitin kein Niederschlag entsteht. Nach dem Ausfall dieses Versuches hatte die Vorstellung einer gemeinsamen bindenden Gruppe für den Immunkörper und Präzipitinogen wohl nichts Befremdendes. Die Spezifität der Körper sowohl der Antigene (Präzipitinogen des Serums, Agglutinogen der Bakterien) als auch die Spezifität der Antikörper (Serumpräzipitin, Bakterienagglutinin) machen es aber von vornherein unwahrscheinlich, Präzipitin und Bakterienagglutinogen an ein und derselben Gruppe angreifen sollten, und sich mit dieser verbinden sollten. Es muß demnach die Gruppierung eine andere sein. Tatsache ist, daß die heterogenen Körper wie Agglutinin, Antitoxin und Präzipitinogen miteinander verknüpft sind, jedoch nicht in der Weise, daß ihnen eine gemeinschaftliche bindende Gruppe zukommt. Wie wir uns diese Beziehung vorstellen sollen, darüber Bestimmtes auszusagen, fehlt uns jeder Anhaltspunkt. Man kann mit Sicherheit behaupten, daß die Konfiguration der Körper zueinander eine andere sein muß, wie die des Toxins und Agglutinins des Ricins im Sinne Jacobys.

Die Feststellung der Tatsache der engen Verbindung der Immunkörper mit Präzipitinogenen des Serums bringt eine Reihe weiterer Fragen theoretischer und praktischer Natur zur Diskussion. Zunächst muß auf Grund festgestellter Tatsachen angenommen werden, daß dieses Verhalten nicht ein allgemeines sein kann.

Die Absättigungsversuche von Malkoff, Castellani lassen vorderhand diese Annahme berechtigt erscheinen. Allerdings ist nach dem Vorangehenden die Möglichkeit noch zuzugeben, daß die Antikörper an verschiedene Präzipitinogene geknüpft sind, daher die Ausfällung des einen Körpers nicht die des anderen bedingen müsse.

In theoretischer Beziehung läßt sich weiter aus den Versuchen annehmen, daß das Schicksal der Immunkörper bei passiv immunisierten Organismen direkt mit dem Schicksal des Präzipitinogens zusammenhängen dürfte. Hamburger, v. Pirquet vertreten diese Anschauung, wenn sie auch bisher keinen direkten Beweis hierfür zu erbringen vermochten. Versuche, die einer von uns in Fortsetzung früherer Arbeiten (Kraus und Joachim) mit Schiffmann durchführt, scheinen dafür zu sprechen, daß das Verschwinden des Präzipitinogens aus dem Blut und aus den Organen Hand in Hand geht mit dem Verschwinden der Immunkörper und dem Auftreten von Präzipitin. Diese Frage, die mit der Bildungsstätte der Präzipitine zusammenhängt, wird anderorts ausführlich behandelt werden.

Eine weitere Konsequenz der mitgeteilten Versuche ist von praktischer Wichtigkeit in Bezug auf passive Immunisierung. Wenn die vitro-Versuche, in welchen es gelingt, durch Serumpräzipitin Immunkörper unwirksam zu machen, auch für den lebenden Organismus Geltung haben, was aus den Versuchen von Dehne und Hamburger hervorzugehen scheint, so würde eine wiederholte passive Immunisierung, i. e. Injektionen der gleichen Serumart gar keinen Effekt haben können. Bei den zum zweiten Male injizierten Organismen, die nach der ersten Seruminjektion Präzipitin gebildet haben, werden die nachträglich injizierten Immunkörper desselben Serums durch die Bindung des Präzipitinogens unwirksam werden. Die wiederholte präventive Immunisierung müßte danach wertlos sein, und bei eventueller nachträglicher Erkrankung, die eine

kurative Seruminjektion erfordert, direkt nachteilig sein. Gerade die letztere Möglichkeit gibt uns Veranlassung, einzelne diesbezüglich angestellte Versuche mitzuteilen.

#### 1. Versuch.

Kan. 121 bekam am 16. Juni peritoneal 1 ccm Pferdeserum und hatte am 30. Juni im Blutserum Präzipitin; am 5. Juli wurde 0,02 Diphtherietoxin (200fach) und getrennt 0,2<sup>1)</sup> Diphtherieserum subkutan injiziert. Das Tier bleibt am Leben.

#### 2. Versuch.

Kan. 124 bekam am 16. Juni peritoneal 3 ccm Pferdeserum und hatte am 30. Juni im Serum Präzipitin; am 5. Juli wurde 0,2 Toxin und getrennt 2,0 Diphtherieserum injiziert. Bleibt am Leben.

#### 3. Versuch.

Kan. 122 bekam am 16. Juni peritoneal 5 ccm Pferdeserum und hatte am 30. Juni im Serum Präzipitin; am 5. Juli 0,02 Toxin und getrennt 0,25 Diphtherieserum. Bleibt am Leben.

#### Kontrolle.

Kan. 112 subkutan 0,02 Diphtherietoxin. Tod in 2 Tagen.

#### 4. Versuch.

Kan. 125 bekam 10 ccm Pferdeserum und hatte am 30. Juni Präzipitin im Serum; am 6. Juli wurde 0,25 Diphtherieserum und am 7. Juli 0,02 Toxin injiziert. Bleibt am Leben.

#### 5. Versuch.

Kan. 109 bekam am 16. Juni 10 ccm Pferdeserum und hatte am 30. Juni Präzipitin im Serum; am 6. Juli 2,0 Diphtherieserum und am 8. Juli 0,2 Toxin. Bleibt am Leben.

Daß es bei den Versuchen in vitro auf das Verhältnis zwischen Präzipitin und Präzipitinogen ankommt, wenn nachweisbare Verluste an Immunkörpern verzeichnet werden sollen, wurde erwähnt. Die eben angeführten Versuche werden dafür sprechen, daß ebenso wie in vitro auch im Organismus die Unwirksamkeit der Immunkörper nur bei Anwendung eines stark verdünnten Serums deutlich sich nachweisen läßt. Wenn, wie es bei kurativer Anwendung des Serums in der Praxis geschieht, konzentriertes Serum und Mengen von 4—5 ccm zur Anwendung gelangen, dürfte das bei vorher präventiv behandelten Organismen gebildete Präzipitin nicht im stande sein, die Wirksamkeit des Immunkörpers durch Bindung des Präzipitinogens illusorisch zu machen. Unsere Versuche und die von Hamburger und Dehne mit Tetanusantitoxin ausgeführten, in welchen stark verdünntes Antitoxin verwendet wurde, geben Anhaltspunkte für die Richtigkeit dieser Annahme.

#### Literatur.

- 1) Kraus und Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902.
- 2) Dehne und Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1904.
- 3) Kraus und Joachim, Wien. klin. Wochenschr. 1903.

1) Diese Menge Antitoxin übersteigt allerdings die neutralisierende Dosis, entspricht aber den Verhältnissen in der Praxis bei kurativer Anwendung des Serums.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Verbindungen der Immunkörper.

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

Von Dr. **Karl Landsteiner** und Dr. **Mathias Reich**.

Eine Reihe von Untersuchungen der letzten Zeit hatte die Ermittlung der quantitativen Beziehungen bei den Reaktionen der Immunkörper (Agglutinine, Lysine, Toxine, Präzipitine) und die Deutung der gefundenen Resultate zum Gegenstand. Bei der Diskussion über dieses Thema wurden teils die Verhältnisse bei der Bindung von Toxin und Antitoxin, teils die Reaktionen zwischen Agglutinin und agglutinierbarem Substrat zum Ausgangspunkt genommen. Während nun die Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin wegen ihrer nahen Beziehung zu praktischen Fragen hervorragende Wichtigkeit besitzt, bieten andererseits die Untersuchungen der Agglutinin- und Lysinreaktion, die dieser Mitteilung zu Grunde liegen, Vorteile, was die Leichtigkeit und Ueberschaubarkeit der Experimente anlangt.

Bei der Lysinreaktion konnte Bordet<sup>1)</sup> schon vor längerer Zeit den wichtigen Umstand feststellen, daß ein und dieselbe Menge Lysin verschieden große Mengen von Zellen je nach der Art des Zusatzes zu zerstören vermag. Am Prozeß der Agglutininbindung haben dann Eisenberg und Volk<sup>2)</sup> die verschiedenen Quantitäten von Agglutinin, die sich unter variierten Bedingungen mit einer bestimmten Menge von agglutinierbarem Material vereinigen können, in einer Anzahl von Fällen messend bestimmt. Sie fanden im Gegensatz zu Nolf, daß der agglutinierbaren Substanz (Bakterien) keine konstante Kapazität für Agglutinin zukommt, sondern daß die Bakterien viel größere Mengen, als die im Minimum zum Zustandekommen der Agglutination nötige, aufnehmen können. Es fand sich, daß mit steigendem Agglutininzusatz auch die absorbierte Menge zunimmt; doch wächst die Konzentration des absorbierten Agglutinins in geringerem Maße als die Agglutininkonzentration der überstehenden Lösung.

Eisenberg<sup>3)</sup> deutete in allgemeiner Weise auf eine Beziehung der gefundenen Regel zu den Erscheinungen des chemischen Gleichgewichtes hin.

Wir selbst<sup>4)</sup> haben darauf aufmerksam gemacht, daß hinsichtlich der quantitativen Verhältnisse der Bindung die Agglutininabsorption beträchtliche Aehnlichkeit mit einer großen Gruppe lange bekannter Erscheinungen besitzt. Als solche bezeichnen wir die Färbungen, die schon Bordet zum Vergleich herangezogen hatte, dann aber besonders die Adsorptionsvorgänge bei anorganischen Kolloiden<sup>5) 6)</sup>.

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. p. 155.

3) Extr. du Bull. de l'Acad. des sciences. de Cracovie. 1902, 1903. Centralbl. f. Bakt. etc. 1903.

4) Landsteiner u. Jagič, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 18; 1904. No. 27. Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 3.

5) Wenn wir dort Adsorptionsverbindungen und feste Lösungen nicht scharf trennten, so geschah dies, weil wahrscheinlich eine Anzahl von Adsorptionsverbindungen öfters den festen Lösungen zugerechnet worden sind oder von ihnen nicht leicht unterschieden werden können. Vgl. van 'tHoff, Vorlesungen. Bd. II. 1903. p. 70; ferner Bodländer, Neues Jahrb. f. Mineral. Beilagebd. XII. 1899.

6) Auf die den Immunkörpern und den Kolloiden gemeinsamen Eigentümlichkeiten,

Diese Ansicht, daß die Immunkörperreaktionen mit den Adsorptionserscheinungen nahe Verwandtschaft besitzen, wurde nachher von Zangger<sup>1)</sup> und Biltz<sup>2)</sup> vertreten und von Nernst<sup>3)</sup> und Bredig<sup>4)</sup> befürwortet.

Die vorgeschlagene Analogisierung hatte zunächst den Vorteil, zu Versuchen zu veranlassen, in denen sich die Möglichkeit herausstellte, mit Hilfe anorganischer Kolloide ganz ähnliche (Agglutinin- und Lysin-) Reaktionen zu erzielen, wie mit tierischen und pflanzlichen Kolloidgiften [Landsteiner und Jagič<sup>5)</sup>, Biltz<sup>6)</sup>, Gengou<sup>7)</sup>, Henri<sup>7)</sup>], sie wies ferner darauf hin, die beim Studium der Kolloide gemachten Erfahrungen für die Chemie der Immunkörper zu verwerten. Biltz, der zahlreiche Versuche über die gegenseitige Ausfällung anorganischer Kolloide<sup>8)</sup> anstellte, neigt dazu, die Absorptionsreaktionen von den chemischen ganz abzutrennen und sie als Aeüßerungen einer besonderen, Zustandsenergie genannten Verwandtschaft anzusehen. Wir meinten, daß die Reaktionen der Immunkörper von chemischen, wahrscheinlich der Salzbildung ähnlichen Vorgängen nicht zu trennen seien. Es ließ sich dafür hauptsächlich anführen, daß die Proteine ihrer amphoterer Natur zufolge chemisch reagieren können, daß auch auf dem verwandten Gebiete der Färbungen Salzbildungen<sup>9)</sup> wahrscheinlich eine wichtige Rolle spielen, daß die Ladung von anorganischen Kolloiden von ihrer chemischen (sauerer oder basischer) Natur abhängt, daß Agglutination durch saure und basische anorganische Kolloide hervorgerufen wird und daß die organischen Agglutininverbindungen durch Säuren und Basen spaltbar sind.

Wir sprachen ferner die Meinung aus, daß wegen des Mangels einer scharfen Abgrenzung zwischen sogenannten chemischen und physikalischen Prozessen die Diskussion über die Zurechnung der fraglichen Reaktionen zu dem einen oder anderen Gebiete der Zweckmäßigkeit entbehre.

Diese Ansicht finden wir bei Arrhenius<sup>10)</sup> in einer Abhandlung über Agglutinine wieder. Die Agglutininabsorption selbst betrachtet Arrhenius in dieser und anderen Mitteilungen<sup>11)</sup> als einen Verteilungsvorgang; er zieht dabei den Kolloidcharakter der Stoffe nicht besonders in Betracht.

Während wir nur auf die Uebereinstimmung der Agglutininabsorption

---

durch Temperaturerhöhung und die Wirkung von Salzen stark beeinflußt zu werden, hatte schon vorher Zangger (Antrittsvorl. Zürich 1902) verwiesen.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. p. 428. Korrespondenzbl. f. Schweizer Aerzte. 1904.

2) Nachr. d. k. Ges. d. Wiss. zu Göttingen. 1904. Heft 2. Ber. d. d. chem. Ges. 1904. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. XLVIII. 1904. Behrings Beitr. Heft 10.

3) Zeitschr. f. Elektrochem. 1904. No. 22.

4) Zeitschr. f. Elektrochem. 1904. No. 35.

5) l. c.

6) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1904.

7) Soc. de biol. 1904.

8) B. und wir beobachteten dabei Fällungsoptima wie bei den Immunkörperreaktionen (vgl. Halban und Landsteiner, Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 12.)

9) Dafür finden sich neue Anhaltspunkte in den interessanten Arbeiten von Suida (Monatsh. f. Chemie. 1904. p. 1107 u. 1905). Suida fand, daß von Silikatpulvern nur solche mit sauren Eigenschaften basische Farbstoffe kräftig zu adsorbieren vermögen. Er fand ferner, daß durch Inaktivierung der sauren Atomgruppen der Schafwolle deren Vermögen, basische Farbstoffe zu binden, aufgehoben wird, während gleichzeitig ihre Aufnahmefähigkeit für saure Farben zunimmt. Durch Verseifung der erzeugten Verbindungen der Wolle konnte ihr ursprüngliches Verhalten wiederhergestellt werden.

10) Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. XLVI. p. 415.

11) Festschrift für Boltzmann. Leipzig (Barth) 1904. — Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XX.

mit der Verteilungsformel für die Adsorption von van Bemmelen hiniwiesen, die nichts weiter ausdrückt, als daß das Verhältnis der beiden Konzentrationen mit der Konzentration und der Temperatur sich ändert, hat Arrhenius aus den Versuchsreihen von Eisenberg und Volk eine Formel<sup>1)</sup> berechnet, als deren einfachste Interpretation er die Annahme vorschlägt, daß das Agglutinin zwischen den beiden Phasen — Flüssigkeit und Bakterien — wie ein gelöster Körper zwischen zwei Lösungsmitteln verteilt ist und in der Flüssigkeit ein anderthalbmal so großes Molekulargewicht besitzt, als in den Bakterien. In den Bakterien gehe möglicherweise eine chemische Verbindung zwischen dem Agglutinin und einem Teile der Bakteriensubstanz vor sich.

Zu einer möglichst vollständigen Kenntnis des Prozesses der Agglutination ist es nun offenbar nötig, nicht nur wie Eisenberg und Volk die Agglutininabsorption, sondern auch die Spaltung der Agglutininverbindungen quantitativ zu untersuchen. Zwar haben wir selbst die Möglichkeit der Umkehrung des Agglutinationsvorganges an Hämagglutininen qualitativ festgestellt, und auch nachgewiesen, daß die Spaltung der Agglutininverbindungen bei erhöhter Temperatur in ausgiebigem Maße vor sich gehen kann, da wir in dieser Weise gereinigte konzentrierte Agglutininlösungen herstellten, doch war damit die Frage nicht erledigt, ob die fraglichen Vorgänge wirklich vollständig umkehrbar sind. Wir glaubten vielmehr schon damals zu bemerken, daß die Spaltung in gewissen Fällen (agglutinierte Bakterien, Präzipitinverbindungen) eine sehr unvollkommene sei und haben auf diesen Punkt seither aufmerksam gemacht<sup>2)</sup>. Wir bemerkten auch, daß bei mehrmaliger Aufnahme und Abspaltung von Serumagglutinin die Stromata der Blutkörperchen in eine klebrige gummiartige Masse verwandelt werden<sup>3)</sup>.

Unsere jetzt ausgeführten Versuche waren so eingerichtet, daß wir die wirksame Substanz — Agglutinin oder Lysin — eventuell in variierten Mengen den empfindlichen Zellen zufügten und die bei verschiedenen Temperaturen absorbierte Quantität durch Auswertung der überstehenden Lösung im Vergleich zur ursprünglichen bestimmten (cf. Eisenberg und Volk). Es wurde nun der Bodensatz entweder sofort oder nach vorhergehendem Waschen mit NaCl-Lösung auf der Zentrifuge mit 1-proz. NaCl-Lösung bei verschiedenen Temperaturen digeriert, bis der Prozeß nicht mehr merklich fortschritt, und die an die Lösung abgegebene Menge der wirksamen Stoffe bestimmt. Auch bei der Bestimmung der Absorption wurde darauf geachtet, daß Gleichgewicht eingetreten war.

#### I. Normales Pferdeserum + Kaninchenblut.

In mehreren Proben wurden je 4 ccm 1 Stunde lang auf 60° erhitztes Pferdeserum mit 1 ccm durch Waschen mit 1-proz. Kochsalzlösung serumfrei gemachten, auf das ursprüngliche Volumen gebrachten Blutes versetzt. Einige dieser Proben wurden im Eiskasten (6—8°) 2—3 Stunden lang, andere bei 45° durch eine Stunde unter zeitweiligem Umschütteln digeriert. Nach diesen Zeiten nehmen, wie Versuche zeigten, die absorbierten Mengen nicht mehr zu. Der Agglutinationswert des Serums und der Abgüsse wurde so bestimmt, daß 0,8 ccm der zu unter-

1)  $A = \text{Konst. } B^{2/3}$ , wenn A die Konzentration des Agglutinins in den Bakterienleibern, B die Konzentration des Agglutinins in der Flüssigkeit bedeutet.

2) Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 1186, 1592.

3) Vgl. Elfstrand, Görbersd. Veröff. Stuttgart (Enke) 1898.

suchenden Flüssigkeit, sowie einer Reihe von Verdünnungen derselben 0,2 ccm einer 5-proz. (auf das ursprüngliche Volumen bezogen) serumfreien Blutkörperchenaufschwemmung hinzugefügt wurde. Die Reihe der Verdünnungen war gewöhnlich 1, 2, 4, 8 u. s. w.; öfters wurden auch noch einige Zwischenstufen verwendet. Die Zahl, die den höchsten bei dieser Anordnung noch wirksamen Verdünnungsgrad angibt, und zwar bei mikroskopischer Beobachtung nach mehreren Stunden, ist der im folgenden angeführte Agglutinationswert. Wir bezeichnen sie der leichteren Verständigung halber (cf. Eisenberg und Volk) als die Zahl der in dem verwendeten Volumen der Flüssigkeiten enthaltenen Agglutinationseinheiten (A.-E.). Das Verhältnis von in der Lösung vorhandenem zum absorbierten Agglutinin ist als B/A bezeichnet.

In den beschriebenen Versuchen besaß das Serum den Agglutinationswert 32. In der Kälte wurden 20 A.-E. von den 32 absorbiert, bei 45° betrug die absorbierte Menge 8 A.-E. Wurde zur Agglutination bei konstanter Blutmenge eine Verdünnung des Serums vom 1:4, im angegebenen Volumen also 8 A.-E. enthaltend, verwendet, so wurden bei 8° 6 A.-E., bei 45° 2 A.-E. absorbiert.

Der scharf abzentrifugierte, agglutinierte Bodensatz von im Eiskasten gehaltenen Proben 20 (bei  $\frac{1}{1}$  Serum) resp. 6 A.-E. (bei  $\frac{1}{4}$  Serum) enthaltend, wurde nun mit 1-proz. NaCl-Lösung auf das ursprüngliche Volumen gebracht und ein Teil der Proben 2—3 Stunden bei 8°, ein Teil 15 Minuten bei 45° unter mehrmaligem Umschütteln digeriert. Der Wirkungsgrad der bei entsprechender Temperatur abzentrifugierten Lösungen betrug nachher bei den kalt gehaltenen Proben 2 A.-E. ( $\frac{1}{1}$  Serum) und 0 ( $\frac{1}{4}$  Serum), bei dem warm gehaltenen 12 A.-E. ( $\frac{1}{1}$  Serum) und 4 A.-E. ( $\frac{1}{4}$  Serum).

Die geringe Menge der dem Bodensatz anhaftenden Flüssigkeit ist bei der Berechnung nicht in Betracht gezogen, da die Berücksichtigung dieses Umstandes keine irgendwie erhebliche Aenderung des Resultates bewirken kann. Die gegebenen Zahlen führen zu den folgenden Werten für B/A Abs. bei der Absorption und B/A Sp. bei der Spaltung und zwar bei 8° und 45°.

B/A, Abs. 8° 0,6	}	Serum $\frac{1}{1}$	B/A, Abs. 8° 0,3	}	Serum $\frac{1}{4}$
B/A, Abs. 45° 3,0			B/A, Abs. 45° 3,0		
B/A, Sp. 8° 0,1			B/A, Sp. 8° 0		
B/A, Sp. 45° 1,5			B/A, Sp. 45° 2,0		

Für  $\frac{1}{8}$  Serum und unveränderte Blutmenge ergab sich B/A Abs. 8° = 0. Bei einem anderen noch als Beispiel anzuführenden Versuch aus einer Reihe analog angeordneter ergaben sich folgende Zahlen:

Agglutinationswert des Serums = 24.

B/A, Abs. 8° 0,2	}	Serum $\frac{1}{1}$	B/A, Abs. 8° 0	}	Serum $\frac{1}{4}$
B/A, Abs. 45° 2,0			B/A, Abs. 45° 2,0		
B/A, Sp. 8° 0,05			B/A, Sp. 8° 0		
B/A, Sp. 45° 1,5			B/A, Sp. 45° 0,5		

Bei der Beurteilung der Resultate ist zu bedenken, daß die Methode keineswegs genaue und besonders gut übereinstimmende Zahlen liefern kann, da die zur Titration angewendeten Verdünnungsgrade in großen Sprüngen aufeinander folgen und selbst dann die Ablesung noch immer nicht mit voller Sicherheit erfolgen kann. Es dürfen daher nur grobe und bei vielen Versuchen in gleichem Sinne erfolgende Ausschläge berücksichtigt werden. Immerhin ließ sich einwandfrei erkennen, daß das Verhältnis B/A Abs. mit steigendem Agglutiningehalt der Lösungen zunimmt (cf. Eisenberg und Volk) und daß bei höherer Temperatur



erheblich weniger Agglutinin absorbiert wird, als bei niedriger Temperatur. Kühlt man eine in der Wärme in Gleichgewicht stehende Probe ab, so wird sofort wieder Agglutinin aus der Lösung absorbiert.

Das Verhältnis B/A war in den bei niedriger Temperatur ausgeführten Versuchen bei der Spaltung beträchtlich kleiner als bei der Absorption, und diese Differenz ist größer als die entsprechende bei der Absorption und Spaltung in der Wärme. Bei der schon betonten Ungenauigkeit der Ablesung möchten wir aber dieses Resultat noch nicht als unbedingt sicher hinstellen. Bei den in der Wärme vorgenommenen Versuchen war B/A Abs. und B/A Sp. nicht sehr verschieden, ja in einigen Fällen selbst gleich, so daß wir, in Uebereinstimmung mit dem früher von uns Mitgeteilten, die Reversibilität in diesem Falle, wenn nicht als eine vollkommene, so doch mindestens als eine sehr weitgehende bezeichnen müssen.

Ob viel Agglutinin enthaltende Verbindungen relativ mehr abspalten, wie es den Verhältnissen der Absorption entsprechen würde und wie wir auf Grund eines früher angestellten Versuches<sup>1)</sup> annahmen, konnte in dieser Versuchsreihe nicht mit genügender Sicherheit festgestellt werden.

## II. Kaninchenserum + Kaninchenblut.

4 ccm Serum + 1 ccm defibrinierten, gewaschenen, auf das ursprüngliche Volumen gebrachten Blutes desselben Tieres. Zweistündige Digestion bei 0°. Titration durch Zusatz von 0,2 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung zu 0,8 ccm der zu prüfenden Lösung. (Die Mischung wird einige Stunden bei 0° gehalten und bei 0° abgelesen!) Serum = 64 A.-E. absorbierte Menge 40 A.-E.

Zur Spaltung wird der 40 A.-E. enthaltende Bodensatz mit 4 ccm eiskalter Kochsalzlösung zusammengebracht und unter mehrmaligem Schütteln einige Stunden bei 0° gehalten. Es ergibt sich keine merkliche Abspaltung von Agglutinin. Der Bodensatz einer zweiten Probe wird ebenso bei 35° behandelt. Der anhaftende Serumrest kann der Messung des Bodensatzvolumens höchstens 5 A.-E. enthalten haben, schätzungsweise 2 A.-E. Die abgegossene Lösung enthielt — A.-E.

Die Quotienten betragen für unverdünntes Serum diesen Angaben zufolge

$$B/A, \text{ Abs. } 0^\circ = 0,6$$

$$B/A, \text{ Sp. } 0^\circ = 0$$

$$B/A, \text{ Sp. } 35^\circ = 0,7$$

$$\text{Es ergab sich ferner } B/A, \text{ Abs. } 20^\circ = 1,0$$

In diesem Falle der Autoagglutination ändert sich das Gleichgewicht, wie wir schon früher angaben, in hohem Grade mit der Temperatur, so daß nur bei ziemlich niedriger Temperatur die Agglutinationswirkung deutlich wahrnehmbar ist.

Bei 35° bleibt in unserem Versuche B/A Sp. deutlich hinter B/A Abs. zurück, wie ein Vergleich mit dem Quotienten der Absorption bei 20° zeigt. Sicher ist aber dieses Zurückbleiben bei 0° noch ausgeprägter, da hier eine Spaltung der Verbindung sich überhaupt nicht nachweisen läßt, während die Absorption durchaus keine vollständige ist.

## III. Ricin + Kaninchenblut.

4 ccm einer Ricinlösung + 1 ccm gewöhnliches auf das ursprüngliche Volumen gebrachtes gewaschenes Kaninchenblut. 2-stündige

1) Münch. med. Wochenschr. 1903.

Digestion. Titration durch Auswertung der Agglutinationswirkung des Ricins wie sub I.

Die Absorption bei verschiedenen Konzentrationen ergibt sich aus den folgenden Zahlen (Temperatur = 20°). (Bei 45° ist der Verlauf der Absorptionskurve ein ähnlicher.)

Verdünnung	B/A, Abs.	Verdünnung	B/A, Abs.
$\frac{1}{1}$	1,0	$\frac{1}{50}$	0,006
$\frac{1}{2}$	0,33	$\frac{1}{100}$	0,001
$\frac{1}{5}$	0,18	$\frac{1}{500}$	0,0002
$\frac{1}{10}$	0,04	$\frac{1}{500}$	0,0
$\frac{1}{20}$	0,02	$\frac{1}{1000}$	0,0

Der Einfluß der Temperatur auf die Absorption und Spaltung, sowie das Verhältnis dieser beiden Prozesse geht aus den folgenden Werten hervor. Sie wurden wie sub I und II erhalten. Die agglutinierten Bodensätze wurden zur Entfernung der anhaftenden Ricinlösung gewaschen, die Prüfung der Waschwässer ergab, daß kein für die Berechnung maßgebender Anteil an gebundenem Ricin durch die Waschung entfernt worden sein konnte.

Dauer der Absorption und Spaltung bei 20° 2 Stunden bzw. 4—5 Stunden, der Absorption und Spaltung bei 45° je 1 Stunde.

Es ergab sich für die  $\frac{1}{1000}$  Verdünnung der Ricinlösung (= ca. 60 A.-E.):

B/A, Abs. 20°	0	B/A, Abs. 45°	0,06
B/A, Sp. 20°	0	B/A, Sp. 45°	0,03

Für die  $\frac{1}{100}$  Ricinlösung (= ca. 600 A.-E.):

B/A, Abs. 20°	0,004	B/A, Abs. 45°	0,03
B/A, Sp. 20°	0	B/A, Sp. 45°	0,02

Auch hier wird also die Absorption durch Temperaturerhöhung erheblich beeinträchtigt, die Spaltung begünstigt. B/A, Sp. bleibt wieder gegen B/A, Abs. zurück, und zwar bei höheren Agglutinationskonzentrationen mehr als bei niedrigen.

Es fand sich nämlich für den Gehalt der Lösungen an Agglutinin (= Ricin) nach eingetretenem Spaltungsgleichgewicht in einem Versuch

	Spaltungstemperatur	
	20°	45°
für $\frac{1}{1000}$ Lösung	0	2
„ $\frac{1}{100}$ „	0	8
„ $\frac{1}{10}$ „	32	1128
„ $\frac{1}{1}$ „	512	2048

Würde nun die Abspaltung in demselben Maße mit steigender Konzentration zunehmen, wie die Absorption abnimmt, so müßte bei der  $\frac{1}{1}$ -Lösung mit Rücksicht auf die zu Anfang dieses Abschnittes angeführte Absorptionstabelle der Agglutiningehalt der Spaltungsflüssigkeit mehr als das 1000fache desjenigen Wertes betragen, der sich ergibt, wenn der Prozeß mit  $\frac{1}{1000}$  Lösung ausgeführt wird. Tatsächlich fand sich aber der erste Wert nahezu gleich dem 1000fachen des zweiten.

Das Verhalten ist also so, wie wenn bei höheren Konzentrationen mehr von der wirksamen Substanz in einen unlöslichen Zustand überginge.

Zur vollständigeren Kenntnis der Spaltbarkeit diene der folgende Versuch. Es werden zu 2 ccm serumfreien Kaninchenblut 8 ccm  $\frac{1}{2}$ -Ricinlösung zugefügt und die Mischung 2 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten. Der agglutinierte Rückstand wird mehrere Male hintereinander jedesmal ca. 5 Minuten mit 8 ccm 1-proz. NaCl-Lösung unter Umschütteln bei Zimmertemperatur digeriert. Nach dieser Zeit nimmt der Wirkungs-

wert der aufgegossenen Lösungen, wie Versuche zeigen, nicht mehr zu. Die Agglutinauswertungen werden mit dem 4. Aufguß begonnen, der keine erheblichen Mengen der am Bodensatz zurückgebliebenen Ricinlösung enthalten konnte.

Die Werte der Abgüsse werden durch folgende Zahlen wiedergegeben:

1. Abg. = 128 A.-E.	15. Abg. = 16 A.-E.
5. „ = 64 „	20. „ = 8 „
10. „ = 64 „	

Ein ebenso angestellter Versuch, bei dem die Abspaltung bei 45° vorgenommen wird, ergibt:

1. Abg. = 1024 A.-E.	15. Abg. = 64 A.-E.
5. „ = 1024 „	20. „ = 16 „
10. „ = 256 „	

Es zeigt sich demnach, daß an öfters neu aufgegoßene Kochsalzlösung immer wieder, allerdings in langsam abnehmender Menge, Agglutinin abgegeben wird, so wie wenn schwer lösliche Substanzen allmählich in Lösung gingen, derart, daß die relativ leichter löslichen Anteile zuerst ausgewaschen würden.

#### IV. Hämagglutination durch Kieselsäure.

4 ccm 1-proz. NaCl enthaltende Kieselsäurelösungen verschiedener Konzentration wurden mit 1 ccm gewaschenem, auf das ursprüngliche Volumen gebrachten Kaninchenblutes zusammengebracht. Bei 1-proz. Kieselsäurelösung scheidet sich in den Proben flockige Kieselsäure ab, so daß die Flüssigkeit nahezu gerinnt, bei niederen Konzentrationen ist hingegen die Ausscheidung von Kieselsäure nicht ohne weiteres wahrzunehmen. Kurze Zeit nach Eintritt der Reaktion läßt sich in den durch dichtes Filtrierpapier filtrierten Abgüssen durch die Agglutinationsprobe noch Kieselsäure nachweisen. So enthielten bei einer ca.  $\frac{1}{10}$ -proz. Kieselsäurelösung, die nach der mehrfach angeführten Maßmethode ausgewertet 820 A.-E. ergab, die Abgüsse nach 20 Minuten noch 32 A.-E., nach einer Stunde 4 A.-E. Die Abgüsse einer  $\frac{1}{100}$ -proz. Kieselsäurelösung (82 A.-E. enthaltend) ergaben nach 20 Minuten 2 A.-E., nach 1 Stunde 0. Die Abnahme des Wirkungswertes hängt mit einer in salzhaltigen Lösungen der Kieselsäure rasch vor sich gehenden Koagulation zusammen, die durch die Anwesenheit von Eiweißkörpern befördert wird. Ähnliche Prozesse dürften auch in organischen Agglutininlösungen, nur mit viel geringerer Geschwindigkeit, vor sich gehen, so daß hier während der gewöhnlichen Versuchsdauer für die verwendeten Methoden sich ein Ruhezustand einstellt. Ueber die mangelnde Spaltbarkeit der Kieselsäureverbindungen wurde schon früher berichtet<sup>1)</sup>.

#### V. Bakterienagglutination durch Kaninchenimmenserum.

Die Kulturmasse von 3 Agarröhrchen eines choleraähnlichen Vibrio wird in 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und von der Emulsion werden 0,1 ccm zu 0,4 ccm des Serum bzw. dessen Verdünnungen gebracht. Die Versuche waren eingerichtet wie die sub I beschrieben.

Dauer der Absorption bei 7—8° 2 Stunden, bei 55° 1 Stunde. Dauer der Spaltungsversuche bei 7—8° 2 Stunden, bei 55°  $\frac{1}{2}$  Stunde. Die Bodensätze wurden zur Entfernung anhaftender Serumreste mehrmals rasch mit NaCl-Lösung auf der Zentrifuge gewaschen, wobei kein

1) l. c.

beträchtlicher Verlust eintritt. Zur Titration wurde die Aufschwemmung einer Agarröhrchenkultur in 5 ccm NaCl-Lösung verwendet. 1 Teil dieser Emulsion wurde 4 Teilen der zu prüfenden Lösungen zugefügt. Als Grenze wurde nach 24 Stunden mit Lupenbesichtigung eben wahrnehmbare Agglutination angenommen. Das Serum ergab 512 A.-E.

Es fand sich:

B/A, Abs. 8°	0,33	B/A, Abs. 55°	1,0
B/A, Sp. 8°	0,005	B/A, Sp. 55°	0,01

Die Reversibilität der Agglutininabsorption ist in diesem Falle eine sehr unvollkommene. Auch hier zeigt sich bei von 8° zu 55° steigender Temperatur eine ganz unverkennbare Verminderung der absorbierten Agglutininmenge<sup>1)</sup>.

#### VI. Hämolyse und Agglutination von Schweineblut durch Ziegenimmenserum.

Es wurde das Serum einer mit Schweineblut immunisierten Ziege verwendet, das  $\frac{1}{2}$  Stunde auf 55° erhitzt wurde und dann nicht mehr hämolytisch wirkte. Versuche (auch die Quantitäten) wie sub I. Dauer der Absorption bei 8° 1 Stunde, bei 45°  $\frac{1}{2}$  Stunde. Dauer des Spaltungsversuches bei 8° 16 Stunden, bei 45°  $\frac{1}{2}$  Stunde. Bei der wie sub I vorgenommenen Titration mit 5-proz. gewaschener Schweineblutaufschwemmung ergab sich der niedrige Agglutinationswert des Serums von 32 A.-E.

Es fand sich:

B/A, Abs. 8°	0,33	B/A, Abs. 45°	1,0
B/A, Sp. 8°	0,1	B/A, Sp. 45°	0,5

Die Ergebnisse gleichen denen des sub I besprochenen Falles.

Zur Untersuchung der Absorption und Abspaltung des Hämolsins und zwar des hitzebeständigen Anteiles, wurde ebenso vorgegangen, wie bei dem oben erwähnten Versuch über Agglutination, nur waren die Mengenverhältnisse geändert und es wurden die Lösungen und ihre Verdünnungen durch Zusatz von frischem Schweineserum reaktiviert und auf ihr hämolytisches Vermögen gegenüber Schweineblut geprüft.

Die untersuchten Lösungen waren:

- 1) Inaktives Immenserum.
- 2) Abguß von 0,5 ccm inaktivem Immenserum + 0,1 ccm auf das ursprüngliche Volumen gebrachten, serumfreien Schweineblutes nach 1-stündiger Digestion bei 0°.

1) Die Resultate von Weil (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI, XXXVII) und Sadler (Berl. klin. Wochenschr. 1905), die eine verstärkte Agglutination von Bakterien bei erhöhter Temperatur fanden, kommen für die hier erörterte Frage nicht in Betracht, da W. und S. quantitative Absorptionsversuche nicht gemacht haben. Daß die Agglutinationsreaktion durch Wärme beschleunigt wird, ist nicht merkwürdig, da ein anderes Verhalten bei chemischen Reaktionen nicht bekannt ist. (Die Reaktionsbeschleunigung kann an Immunkörperreaktionen bequem bei der Hämolyse beobachtet werden. 2 ccm Hühnerserum löste 0,4 ccm 5-proz. gewaschenes Kaninchenblut bei 0° in 24 Stunden, bei 10° in 50 Minuten, bei 20° in 7 Minuten, bei 30° in 4 Minuten, bei 40° in 2 Minuten, bei 50° in 1 Minute, bei 55° in 30 Sekunden, bei 60° trat keine Lösung ein. Bei dieser Temperatur wird das Hämolsin offenbar zerstört.) Die Angabe von W., daß es „fast unmöglich“ sei, die Agglutininverbindung zu spalten, trifft nicht zu. Die von uns sicher beobachtete Begünstigung der Spaltung in der Wärme (wir verwendeten Temperaturen bis zu 55°) beruht nicht etwa auf einer Veränderung der Bakterien, die Weil bei etwas höheren Temperaturen findet, denn in einer erwärmten, Agglutinin und Bakterien enthaltenden Probe wird beim Abkühlen Agglutinin absorbiert. Diese Erscheinung ist vielmehr auf eine durch Temperaturerhöhung gesteigerte Reversibilität der Agglutininverbindung zurückzuführen.

- 3) Die gleiche Mischung nach  $\frac{1}{2}$ -stündiger Digestion bei  $45^{\circ}$ .  
 4) 0,5 ccm 1-proz. NaCl-Lösung mit dem gewaschenen Bodensatz der Probe 2 16 Stunden bei  $0^{\circ}$  digeriert.  
 5) Eine gleiche Mischung  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $45^{\circ}$  digeriert.

Die angeführten Zeiten reichen, wie Versuche zeigten, zur Herstellung des Gleichgewichts aus. Von diesen Lösungen und ihren Verdünnungen wurde 1 Teil mit 2 Teilen aktivem Schweineserum vermischt und 8 Teile der Mischungen mit 2 Teilen 5-proz. gewaschener Blutaufschwemmung zusammengebracht.

Nach 1-stündigem Aufenthalt im Brutofen und mehrstündigem Aufbewahren im Eiskasten zeigte sich folgender hämolytische Effekt:

Verdünnung	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{32}$
Lösung 1	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	$\emptyset$
" 2	"	"	"	fast komplett	$\emptyset$	$\emptyset$
" 3	"	"	"	" "	Spur	$\emptyset$
" 4	Spur	min. Spur	"	" "	"	"
" 5	deutlich	Spur	"	" "	"	"
3. Waschlösung	Spur	"	"	" "	"	"
4. "	$\emptyset$	"	"	" "	"	"

Aus diesem Versuch ergibt sich nicht deutlich eine Beeinflussung der Absorption oder Abspaltung des Hämolysins durch die angewendeten Temperaturänderungen. Die Reversibilität des Prozesses ist, da der Verlust an aktivem Stoff durch das Waschen sehr gering ist, keineswegs vollkommen.

Was den Einfluß der Temperatur auf die untersuchten Reaktionen anlangt, so lassen alle oben mitgeteilten Versuche über Agglutination erkennen, daß, wie wir schon früher angaben, die Agglutininabsorption (innerhalb eines gewissen Temperaturintervalles) mit steigender Temperatur abnimmt, die Spaltung der Agglutininverbindungen hingegen durch Temperaturerhöhung begünstigt wird. Der Grad der Beeinflussung ist ein verschiedener; am deutlichsten war die Abhängigkeit von der Temperatur bei den Hämagglutininen und unter diesen beim Isoagglutinin. Hier ist schon bei Zimmertemperatur die Agglutininverbindung leicht dissoziierbar.

Bei dem einen hier untersuchten Lysin war eine Dissoziationssteigerung oder verminderte Absorption durch Temperaturerhöhung nicht mit Deutlichkeit zu beobachten.

In einem schon untersuchten Falle<sup>1)</sup>, nämlich bei dem eigentümlichen Hämolysin der paroxysmalen Hämoglobinurie, wurde dagegen nachgewiesen, daß nur bei ziemlich niedriger Temperatur das lösende Gift reichlich gebunden wird und in Wirksamkeit tritt. Da Sachs<sup>2)</sup> eine Angabe macht, aus der hervorzugehen scheint, daß Temperaturerhöhung die Absorption von lytischen Immunkörpern auch begünstigen kann, so wäre offenbar die genaue Untersuchung einer Anzahl solcher Reaktionen zu wünschen.

Die zweite zu erörternde Frage ist die des Verhältnisses von Absorptions- und Spaltungsgleichgewicht bei einer und derselben Temperatur. Es erwies sich die Spaltbarkeit der Agglutininverbindungen als recht verschieden, sie war ausgiebiger bei den Hämagglutininen als den Bakterienagglutininen, doch zeigte sich als Regel, daß, wenn man einer-

1) Donath und Landsteiner, Ueber paroxysmale Hämoglobinurie. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 36.)

2) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 36.

seits von den unverbundenen Komponenten ausgeht und sie reagieren läßt, andererseits die schon gebildeten Verbindungen der Spaltung überläßt, nicht ein und derselbe, sondern zwei verschiedene Endzustände erreicht werden. Man hat demnach zwei Kurven zu verzeichnen, eine Absorptions- und eine Spaltungskurve, die sich nicht decken, wie es bei dem Gleichgewichtszustand eines vollkommen reversibeln Prozesses zutreffen würde, wenn sie auch, wie bei den Hämagglutininen des Serums, einander nahe kommen können. Das Verhalten ist so, als ob sich der Spaltung ein von Fall zu Fall verschiedener Widerstand entgegenzusetzen würde.

Derartige Verhältnisse wurden bei Kolloiden öfters beobachtet. So sind nach van Bemmelen<sup>1)</sup> die Kurven der Hydratation und Dehydratation von Gelen verschieden<sup>2)</sup> (cf. Pauli, Bredig)<sup>3)</sup>.

Das erhaltene Resultat<sup>4)</sup>, nämlich die oft recht unvollständige Umkehrbarkeit der besprochenen Prozesse, spricht gegen die Nützlichkeit des Vorschlages von Arrhenius, die Agglutininverbindung mit der Verteilung eines Körpers zwischen zwei Lösungsmitteln zu vergleichen. Namentlich ist die von Arrhenius berechnete Bindung der Bakterienagglutinine keineswegs vollständig reversibel und so können die Zahlen von Eisenberg und Volk nicht ohne weiteres auf den sogenannten Verteilungssatz bezogen werden, demzufolge es gleichgültig sein müßte, in welches der beiden Lösungsmittel die aufzulösende Substanz zuerst gebracht wird (cf. Neisser, l. c.). Nichtsdestoweniger wäre das Bestehen einer so einfachen Gesetzmäßigkeit, wie sie Arrhenius annimmt, von großer Bedeutung, wenn sie durch neue Untersuchungen sichergestellt werden könnte. Solchen Untersuchungen ist allerdings die von Neisser<sup>5)</sup> betonte und auch von uns empfundene Schwierigkeit genauer Messungen hinderlich.

Eine empfehlenswertere Hilfsvorstellung scheint uns nach dem Angeführten die von uns vorgeschlagene Analogisierung der Immunkörperverbindungen mit den Absorptionsverbindungen der anorganischen Kolloide zu sein. Durch diese Analogisierung lassen sich außer den quantitativen Verhältnissen bei der Verteilung der Agglutinine und Lysine eine Reihe von Eigentümlichkeiten der Immunkörper mit bekannten Tatsachen in Zusammenhang bringen.

Dies gilt auch für die Frage der Umkehrbarkeit der Immunkörperreaktionen, die in letzter Zeit namentlich für die Toxin-Antitoxinverbindungen diskutiert wurde<sup>6)</sup>, hier aber immerhin schwieriger zu entscheiden ist als bei den Agglutinin- und Lysinverbindungen. Auch bei den schon längere Zeit bekannten Fällungsreaktionen der anorganischen Kolloide und der Eiweißkörper<sup>7)</sup> lassen sich alle möglichen Abstufungen der Reversibilität auffinden.

Die Ursache der Irreversibilität der Immunkörperreaktionen hat Nernst in einem Unlöslichwerden der Substanz gesucht, das der Ab-

1) Zeitschr. f. anorg. Chem. Bd. XIII.

2) Pauli (Ergebnisse der Physiologie. 1904) faßt derartige Vorgänge als heterodrome Gegenprozesse zusammen, da bei ihnen die Rückkehr zu einem früheren Zustande nicht auf dem schon zurückgelegten Wege erreicht wird.

3) Anorganische Fermente. p. 18. Leipzig (Engelmann) 1901.

4) Zwei den unserigen analoge Versuche finden sich schon bei Neisser (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI. 1904. p. 671).

5) l. c.

6) Vergl. die zusammenfassende Darstellung von Michaelis. Berlin (Borntraeger) 1905. Die Bindungsgesetze von Toxin und Antitoxin (enthält die Literatur).

7) Vergl. van Bemmelen, Pauli.

sorption folge; wir haben in ähnlicher Weise auf einen Zusammenhang mit der Koagulation hingewiesen, die bei Kolloiden langsamer oder schneller fortschreitend zumeist zu beobachten ist und offenbar auch die Erscheinungen der Inaktivierung hervorruft. Aehnliche Ansichten äußert Biltz<sup>1)</sup>. Aus unseren Versuchen am Ricin dürfte sich ergeben, daß die Substanzen nicht nur in einem löslichen und unlöslichen Zustande vorhanden sind, vielmehr in einer Reihe von Zuständen mit abgestufter Löslichkeit.

Es lag nahe, diese Beziehungen zu den Absorptionserscheinungen auch für das Studium der Verbindungen zwischen Toxinen und Antitoxinen heranzuziehen. Man kann so zu der Annahme gelangen, daß es sich in diesen Fällen um die Bildung je nach der Menge der reagierenden Komponenten variabler kolloid gelöster Komplexe handle, eine Annahme, die mit den Ansichten von Bordet<sup>2)</sup>, Grassberger<sup>3)</sup> und Schattenfroh in einem wichtigen Punkte übereinstimmt. Für diese Auffassung sind Biltz<sup>4)</sup> und Pauli<sup>5)</sup> mit Nachdruck eingetreten.

Wenn nun auch experimentelle Beweise für das Bestehen solcher variabler Komplexe in kolloidaler Lösung noch nicht erbracht wurden — die bisher angeführten Beispiele betreffen Fällungen oder Adsorptionen — so ist doch besonders mit Rücksicht auf den kontinuierlichen Zusammenhang zwischen kolloidalen Lösungen und Suspensionen ihr Vorkommen zu erwarten oder doch möglich. Daraus ergibt sich, daß auch bei einfach gedachten Toxinen Abweichungen von geradlinigen Absättigungskurven aus diesem Grunde zustandekommen können (vgl. Kyes)<sup>6)</sup>. Demnach ist diese Möglichkeit bei der Beurteilung der Toxinabsättigung nicht außer acht zu lassen, unbeschadet dessen, daß die Annahme einer komplizierten Zusammensetzung der wirklich vorhandenen Toxine von vornherein wahrscheinlich ist und durch viele Untersuchungen der Ehrlichschen Schule gestützt wird.

Was die Reversibilität der Toxin-Antitoxinverbindung anlangt, so ist sie nach Untersuchungen von Danysz, Dungern, Morgenroth, Sachs (cf. Michaelis, l. c.) gewiß keine vollkommene. Diese mangelhafte Reversibilität ist mit unseren hier mitgeteilten Erfahrungen und den Kenntnissen über die Adsorptionsverbindungen der Kolloide gut in Einklang zu bringen. Nichtsdestoweniger wäre in Analogie mit den von uns untersuchten Prozessen mindestens das Vorhandensein geringer Mengen von freiem Toxin in den Toxin-Antitoxingemischen doch wahrscheinlich (cf. Pauli l. c., Michaelis). In diesem Sinne ist wohl ein Versuch von Madsen<sup>7)</sup> zu verwerten, der aus einem Ricin-Antiricinalgemisch mit Hilfe von Blutkörperchen Ricin entfernen konnte. Der Versuch gibt allerdings keine Auskunft über die in dem Gemisch schon vorhandene freie Toxinmenge. Es geht aus dem Gesagten hervor, daß für die Diskussion der Toxinabsättigungskurve eine Anzahl verschiedener Umstände zu berücksichtigen ist.

- 1) Zeitschr. f. Elektrochemie. 1904. No. 22.
- 2) Annal. de l'Inst. Pasteur. 1903.
- 3) Leipzig und Wien (Deuticke) 1904.
- 4) l. c.
- 5) Wien (M. Perles) 1905.
- 6) Berl. klin. Wochenschr. 1904.
- 7) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere Versuche über Exsudatzellen und deren Beeinflussung durch Bakterien.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen und dem I. anatomischen  
Institute zu Wien.]

Von **Konrad Helly**, Assistenten am I. anatomischen Institute.

In einer längeren Arbeit, betitelt „Zur Morphologie der Exsudatzellen und zur Spezifität der weißen Blutkörperchen“ (Zieglers Beitr. Bd. XXXVII) habe ich vor kurzem die Ergebnisse niedergelegt, welche sich unter dem Einflusse von dem Organismus einverleibten Infektionserregern an den weißen Blutkörperchen zu Tage fördern ließen. Als Versuchsobjekt hatte hauptsächlich das Kaninchen gedient. Es hatte sich dabei herausgestellt, daß die Veränderungen an den weißen Blutkörperchen (Eiterkörperchen und Exsudatzellen) teils funktioneller, teils degenerativer Natur sind; erstere sind im wesentlichen durch das Auftreten phagocytärer Tätigkeit gekennzeichnet, letztere zeigen eine gewisse Mannigfaltigkeit: nebst Vakuolisierung des Zellprotoplasmas und Kernzerfall durch Karyorrhesis und Pyknose kommt es entweder zu Vergrößerung oder zu Verkleinerung der Zellen. Gleichzeitig macht sich in den feingekörnten (amphophilen) Leukocyten Granulaschwund bemerkbar, sowie eine Entartung der Granula in Bezug auf Größe und färberisches Verhalten. Die grobgranulierten (eosinophilen) Leukocyten zeigen hingegen nur eine geringe Beteiligung an sämtlichen Vorgängen.

Amphophile Leukocyten und Lymphocyten unterscheiden sich nicht nur durch die Art ihrer Tätigkeit (Mikrophagen und Makrophagen) voneinander, sondern auch in der Art der degenerativen Veränderungen. Aus diesen Unterschieden, sowie aus einigen wesentlichen morphologischen und histogenetischen Merkmalen wurde ferner eine spezifische Verschiedenheit der Lymphocyten einerseits, der Leukocyten andererseits erschlossen, wobei letztere wieder scharf zu trennen sind in grob- und feingranulierte. Ferner ergab sich die völlige Artgleichheit der Exsudatzellen mit den im strömenden Blute nachweisbaren Formen weißer Blutkörperchen, mithin ihre hämatogene Abkunft, sowie einige für das vorliegende Thema nicht in Betracht kommende Dinge, die ich übergehe.

Als eines der interessantesten Ergebnisse, welches auch den Anstoß für die weiteren noch zu beschreibenden Untersuchungen bot, darf man aber wohl die Tatsache betrachten, daß verschiedene Bakterien an den Exsudatzellen auch verschiedene morphologische Veränderungen hervorriefen. Diese Unterschiede erstreckten sich nicht minder auf die Zellkerne, wie auf das Protoplasma und die Granulationen, ohne jedoch so vollständig durchgreifender Art zu sein, daß sie etwa im Sinne einer Cytodiagnose unzweideutig verwertbar gewesen wären. Es lag nun nahe, die Frage aufzuwerfen, ob diese Veränderungen und ihre Unterschiede spezifischen Wirkungen der Bakterientoxine zuzuschreiben wären, oder ob sie als Folge von schädlichen Wirkungen zu betrachten wären, die etwa von den Stoffwechsel- und Zerfallsprodukten ausgingen, welche in den Exsudaten zur Entwicklung kämen. Im ersteren Falle lägen biologische, im letzteren mechanische Wirkungen vor.

Für die in Streptokokkenexsudaten auftretenden Veränderungen lagen wohl schon Versuche vor (Denys, v. d. Velde, Bail, Neisser und



Wechsberg), welche zeigten, daß es möglich ist, durch Immunisierungsverfahren die sonst im vitalen Präparate durch Zusatz von Staphylotoxineintretenden Leukocytenveränderungen hintanzuhalten. Ich beschloß nun, diese Versuche zu wiederholen, die Methodik jedoch insofern zu ändern, als die Reaktionen nicht außerhalb des Tierkörpers vorgenommen werden sollten. Es sollte vielmehr im einzelnen Falle ein aseptisches Exsudat erzeugt werden, dessen Zellen zugleich im lebenden Tiere der Wirkung bakterienfreier Filtrate von Bouillonkulturen auszusetzen wären. Diesen Zweck dachte ich am besten dadurch zu erreichen, daß ich sterilisiertes Aleuronat in dem Filtrat zur Aufschwemmung brachte und dann intrapleural injizierte. Aleuronat wirkt bekanntlich sehr gut als Exsudaterreger, und durch seine innige Durchtränkung mit dem Filtrate sollte einer zu raschen Resorption desselben vorgebeugt und seine längere Einwirkung auf die Exsudatzellen gewährleistet werden.

Außer Staphylokokkenfiltraten kamen noch solche von Diphtheriekulturen und von Friedländerschen Pneumoniebacillen zur Verwendung. Diese Auswahl wurde deshalb getroffen, weil sich in den Versuchen der oben angeführten Arbeit sehr charakteristische Unterschiede in dem durch Injektion der betreffenden Bakterien selbst erzeugten Exsudate ergeben hatten. In den Hauptmerkmalen betraf diese nach Staphylokokkenwirkung entstehende sogenannte „blasige Degeneration“ der Leukocyten unter meist gegenständiger Anordnung von Zellkern und Granula und Schwund derselben, nach Diphtheriewirkung vor allem ausgeprägte Verdichtung der Leukocyten und ihren einzelnen Bestandteilen, zuweilen auch Blähung, ferner Schwund und Freiwerden der Granula, nach Pneumoniebacillenwirkung namentlich Auftreten kreisrunder Vakuolen im Leukocytenprotoplasma. Immunisierungsversuche wurden nur gegenüber den beiden erstgenannten Bakterien vorgenommen. Als Tiermaterial dienten wieder Kaninchen mit 18—24-stündiger Versuchsdauer, und auch im übrigen hielt sich die Technik der histologischen Bearbeitung in den schon bei der früheren Untersuchung eingeschlagenen Bahnen, so daß ich diesbezüglich nichts hinzuzufügen habe. Die verwendeten Filtrate stammten zumeist von 8-tägigen Bouillonkulturen.

Bevor ich an die eigentlichen Versuche ging, überzeugte ich mich davon, daß die Injektion eines sterilen Aleuronatbreies (in Bouillon) an den Exsudatzellen im allgemeinen keine wesentlichen Schädigungen hervorrief. Bloß vereinzelt fanden sich Leukocyten, in welchen der Kern pyknotisch verdichtet war, ohne daß damit eine stärkere Schädigung des Zellprotoplasmas oder der Granula verknüpft gewesen wäre. Dieser Umstand deutet darauf hin, daß es sich hierbei um den Beginn von Nekroseerscheinungen handeln dürfte, wie sie übrigens von verschiedenen Seiten nach Einheilung blander Fremdkörper an den hinzugewanderten Leukocyten beschrieben wurden. Injektionen nicht sterilisierten Aleuronates zeigten schon ein mehr geschädigtes Leukocytenbild, indem sich atypische Granulaanordnung und auch Schwund derselben hinzugesellten. Es ist wohl kaum nötig zu bemerken, daß ich mich von der vollständigen Sterilisierung des Aleuronates durch aërobe und anaërobe Züchtungsversuche überzeugte.

Ein wesentlich geändertes Bild ergab sich nach Injektion eines Staphylokokkenfiltrates. Die Leukocyten waren nun zu weitaus überwiegendem Teile mehr minder schwer geschädigt und zwar vollkommen in der für die Staphylokokkenwirkung charakteristischen Weise. Ich nehme daher von einer ins einzelne gehenden Beschreibung der histo-

logischen Präparate Abstand, beschränke mich vielmehr auf den Hinweis auf meine diesbezüglichen Abbildungen in der genannten Arbeit. Wurden nun Kaninchen längere Zeit hindurch mit subkutanen Injektionen von Staphylokokkenfiltrat vorbehandelt und einer intrapleuralen Injektion eines solchen Filtrataleuronatgemenges ausgesetzt, wobei durch die Injektion eines Kontrolltieres die Tödlichkeit der angewendeten Dosis für ein nicht vorbehandeltes Kaninchen sichergestellt wurde, so ergab sich ein deutliches Versagen der sonst schädlichen Wirkung des Filtrates. Die Leukocyten bewahrten im allgemeinen ihre normale Form und Anordnung des Kernes und der Granula und das Blasigwerden des Zelleibes unterblieb. Vereinzelt fanden sich wohl noch charakteristisch geschädigte Elemente, auch die Zahl jener Leukocyten, welche einen pyknotisch verdichteten Kern hatten, war größer als nach Injektion steriler Aleuronataufschwemmung, jedoch ohne Schädigung im Granulabilde, so daß man hierin wieder nur beginnende Zellnekrose erblicken darf.

Lassen sich diese Versuche schon in dem Sinne deuten, daß die Immunisierung eine Aufhebung der leukocytenschädlichen Wirkungen des Staphylokokkenfiltrates zur Folge hatten, wird diese Deutung noch dadurch unterstützt, daß in einem Staphylokokkenimmuntiere, welchem eine nicht sterile (aber keine Staphylokokken enthaltende) Aleuronatfiltratmischung eingespritzt worden war, ein Exsudat auftrat, dessen Zellen deutlich geschädigt waren. Vor allem war Gegenständigkeit von Kern und Granula der Leukocyten eingetreten: es fehlte aber das für die Staphylokokkenwirkung charakteristische Blasigwerden fast vollständig, genau so wie im steril injizierten Immuntiere, und das läßt erkennen, daß die Schädigung nicht auf das Filtrat, sondern auf die in der Mischung vorhanden gewesenen Keime zurückzuführen ist. Es ergibt sich also, daß die Wirkung der Staphylokokken auf die Leukocyten tatsächlich toxischer Natur ist, womit die schon bestehenden Mitteilungen anderer Autoren (s. o.) bestätigt sind, soweit es sich um diese besondere Frage handelt. Ob aber dem Staphylotoxin eine als „Leukozidin“ im Sinne der Genannten zukommende Komponente zuzuerkennen sei, oder ob die leukozide Wirkung nicht Teilerscheinung eines nach mehreren Richtungen hin wirksamen Toxins ist, läßt sich natürlich auf Grund der vorliegenden Versuche nicht entscheiden.

Daß diese zuletzt berührte Frage immerhin eine gewisse Berechtigung hat, geht, wie mir scheint, aus den folgenden Versuchen mit Diphtherietoxin hervor. Wurde nämlich den Versuchstieren Diphtheriefiltrat zugleich mit Aleuronat eingespritzt, so zeigten sich im Exsudat die für die Wirkung der Diphtheriebacillen von mir als charakteristisch beschriebenen und abgebildeten Leukocytenveränderungen. Ich behandelte nun Kaninchen ebenso, wie ich es mit Staphylokokkenfiltrat getan hatte, mittels subkutaner Injektionen von Diphtheriefiltrat. Ich verzichtete jedoch auf die Erreichung eines hohen Immunitätsgrades und beschränkte mich darauf, dieselben mindestens für eine einfach tödliche Dosis (normales Kontrolltier) unempfindlich zu machen. Wenn ich jetzt wieder eine Injektion von Filtrataleuronatgemisch in die Pleurahöhle folgen ließ, zeigte sich eine unzweifelhafte Abschwächung der schädigenden Wirkung. Es fehlten die geblähten Leukocyten ebenso wie die feineren Granula; die pyknotischen Kerne waren spärlich geworden und die hiervon betroffenen Zellen zeigten annähernd oder völlig normale Granula: mit einem Worte, der Schutz von seiten der Immunisierung war auch den Leukocyten zu-

statten gekommen und damit bewiesen, daß ihre frühere Schädigung auf die Wirkungen des Diphtheriefiltrates zurückzuführen sei.

Der Wert dieser auf das Diphtherietoxin sich erstreckenden Versuche ist wohl darin zu erblicken, daß sich mit ihrer Hilfe zeigen läßt, daß die durch dasselbe bewirkten Schädigungen der Leukocyten durch spezifische Immunisierung gegen dasselbe verhindert werden können. Es wird die Möglichkeit von vornherein nicht von der Hand zu weisen sein, daß die leukoziden Wirkungen des Diphtheriefiltrates nicht so sehr Teilerscheinung von dessen toxischer Wirkung als vielleicht Ausdruck einer darin enthaltenen leukoziden Komponente wären. Doch müßte der Beweis hierfür, etwa durch einseitige Ausschaltung dieser Komponente, erst erbracht werden.

Haben die gesonderten Versuchsreihen mit Staphylokokken, und Diphtheriefiltrat gezeigt, daß jedes von ihnen in spezifischer Weise auf die Leukocyten im Sinne eines Bakterientoxins wirkt, war bei einer kombinierten Versuchsanordnung mittels beider eine neuerliche Bestätigung hierfür zu erwarten. Es wurden zu diesem Zwecke einerseits Staphylokokkenimmuntiere mit Aleuronataufschwemmung in einem Gemenge von Staphylokokken- und Diphtheriefiltrat eingespritzt; andererseits wurde der Gegenversuch unternommen und ein Diphtherieimmuntier der gleichen Wirkung ausgesetzt. In der Tat beherrschte beim Staphylokokkenimmuntiere die Diphtheriewirkung das histologische Bild des Exsudates und umgekehrt die Staphylokokkenwirkung beim Diphtherieimmuntiere. Als Nebenbefund erwähne ich das Erscheinen eosinophiler Leukocyten nach Diphtheriewirkung sowohl in den kombinierten als auch in den einfachen Versuchen und ihr Fehlen in beiden Reihen nach Immunisierung gegen Diphtherie.

Die Versuche, welche mit dem Filtrate von Pneumoniebacillen durchgeführt wurden, ergaben die auch nach Injektion der Bacillen selbst auftretende eigentümliche Vakuolisierung der Leukocyten, welche vielfach wie durchlocht aussehen (s. Fig. 11 meiner Arbeit); auch erscheinen sie vergrößert. Ich hebe hervor, daß dieses Filtrat bei zweifelloser Keimfreiheit im stande war, Kaninchen zu töten, sowie daß das histologische Bild des Exsudates wesentlich anders aussah, wenn ein nicht steriles Gemenge von Aleuronat und Filtrat zur Anwendung kam. Im Zusammenhalt mit den Staphylokokken- und den Diphtherieversuchsergebnissen hat es einen gewissen Grad von Wahrscheinlichkeit, daß auch den Pneumoniebacillen ein in die Filtrate ihrer Bouillonkulturen übergehendes Zellgift zukommt, das zumindest auf die Leukocyten seine schädigende Wirkung zu äußern vermag. Es wäre nicht ausgeschlossen, daß Immunisierungsversuche mit diesem Filtrate ein in positivem Sinne hierfür verwertbares Ergebnis zu Tage förderten.

Alle vorgeschilderten Versuche lassen jedenfalls erkennen, daß die schon mittels Anwendung von Bakterieneinspritzungen aufgezeigten Unterschiede in den Leukocytenveränderungen keineswegs zufälliger oder bloß mechanischer Natur sind. Daß sie nicht nur zufällig, etwa durch das gewählte Menstruum bedingt sind, ergab sich in der früheren Arbeit daraus, daß sie unabhängig davon sind, ob Bouillon oder Kochsalzlösung hierzu verwendet wurde; in der vorliegenden Untersuchung geht aus dem Umstande, daß die Filtrate ebenso wirken, wie die Kulturen und Bakterienaufschwemmungen, hervor, daß auch die Anwesenheit der Bakterienleiber nicht die Ursache der Veränderungen sein kann. Daß diese aber nicht rein mechanischer Natur sind, geht wieder daraus hervor, daß die

Möglichkeit besteht, ihr Eintreten durch spezifische Immunisierung der Versuchstiere mehr minder vollkommen hintanzuhalten. Diese Tatsache erklärt sich am ungezwungensten mit der Annahme, daß beim immunisierten Tiere die demselben einverleibten Bakteriengifte durch die vorhandenen Antikörper unschädlich gemacht werden; daher verhalten sich in solchen Tieren die Leukocyten wie in normalen, nicht besonders präparierten Tieren.

Das Verhalten der Exsudatzellen selbst anlangend, verdient hervorgehoben zu werden, daß dieselben in den einzelnen Teilen ihres Zelleibes offenkundig verschieden reagieren, je nachdem das eine oder das andere Toxin auf sie einwirkt. Abgesehen von der mit Kernverklumpung beginnenden Nekrose, die für keine Schädlichkeit besonders charakteristisch ist, sieht man bald das Zellprotoplasma, bald den Kern, bald wieder die Granula als den besonders geschädigten Bestandteil auftreten. Es liegt auch nahe, anzunehmen, daß gleicherweise auch die verschiedenen Funktionen der Leukocyten in verschiedenem Maße beeinflusst, bzw. geschädigt werden.

Ich habe im vorigen hauptsächlich immer von den Leukocyten schlechtweg gesprochen und dabei in erster Linie die feingekörnten (amphophilen) gemeint. Es sei jedoch hier ausdrücklich hervorgehoben, daß auch die Elemente der Lymphocytenreihe, die sich zunächst als die widerstandsfähigeren erweisen (s. meine Arbeit), in ihren Veränderungen als biologischen Vorgängen unterworfen zu betrachten sind. Sie treten nur in den Filtratversuchen gegenüber denen mit Bakterien ein wenig zurück, vielleicht im Zusammenhange damit, daß auch ihre phagocytäre Tätigkeit gegen die Leukocyten eine geringere ist.

Im besonderen sei ferner noch hervorgehoben, daß auch in diesen Untersuchungen wieder die spezifische Verschiedenheit der Lymphocyten, der feingekörnten (amphophilen) und der grobgekörnten (eosinophilen) Leukocyten in der vollkommen verschiedenen Reaktion der genannten Zellen gegenüber den gesetzten Versuchsbedingungen ihren unzweideutigen Ausdruck fand.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zusammenfassend, können wir also sagen, daß es in hohem Grade wahrscheinlich ist, daß die von seiten der Bakterien in Exsudaten zum Ausdruck gelangenden schädlichen Wirkungen auf die weißen Blutkörperchen auf Toxinwirkungen zurückzuführen sind. Spezifische Immunisierung verhindert daher auch diese Schädigungen mehr oder minder vollkommen. Im besonderen können diese Sätze für Staphylokokken und Diphtheriebacillen als bewiesen gelten. Kommen Toxingemenge bei einseitig immunisierten Tieren zur Wirkung, so wird die Wirkung jenes Toxins aufgehoben und daher ausbleiben, gegen welches die spezifische Immunität besteht. Ferner ist es wahrscheinlich, daß die unter Einwirkung von Pneumoniebacillen oder deren Bouillonkulturfiltraten auftretenden Veränderungen der Exsudatzellen gleichfalls einer Giftwirkung zuzuschreiben sind.

Herrn Prof. Dr. R. Paltauf sage ich für die mir neuerlich bewiesene freundliche Unterstützung an dieser Stelle meinen wärmsten Dank.

Wien, April 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Injektionen von Diphtherieantitoxin bei Tieren, welche mit normalem Pferdeserum vorbehandelt waren.

[Aus dem königl. Institute für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.  
(Direktor Geh.-Rat P. Ehrlich).]

Von Dr. G. Sacharoff aus Moskau.

In den letzten Jahren ist mit der ausgedehnteren Anwendung von Seruminjektionen eine Frage aufgetaucht, welche außer der theoretischen Bedeutung auch ein erhebliches praktisches Interesse hat, die Frage nämlich, ob durch eine einmalige Injektion von Serum beim Menschen eine erhöhte Reaktionsfähigkeit des Menschen gegen diese Serumart eintritt, welche sich bei einer späteren Wiedereinspritzung von Serum derselben Tierart in unliebsamer Weise geltend machen könnte. Auf Grund der Erfahrung im Tierexperiment wird es ja von vornherein äußerst wahrscheinlich sein, daß auch der Mensch eine erhöhte Reaktionsfähigkeit gegenüber der einmal eingespritzten Serumart erwirbt, zumal wenn es sich — wie z. B. beim Moserschen Scharlachserum — um eine primäre Einspritzung von 100 ccm Serum und mehr handelt. In einem solchen Falle wird sicherlich eine spätere abermalige Einspritzung von Pferdeserum, die außerordentlich viel geringer sein könnte als das erste Mal, eine starke Pferdeserumreaktion hervorrufen können. Aber es entstand die Frage, ob die entstehende Pferdeserumreaktion, abgesehen von ihrer Allgemeinwirkung, im stande sein könnte, auf den mit dem Pferdeserum eingespritzten Heilkörper (z. B. das Diphtherieantitoxin) vermindernd einzuwirken.

Eine Reihe Autoren [Kraus und Eisenberg<sup>1)</sup>, Walker<sup>2)</sup>, Pfeiffer und Friedberger<sup>3)</sup>, Kraus und Joachim<sup>4)</sup>] beschäftigten sich zunächst mit der Frage, ob die Einführung von Antitoxin, Agglutinin, Bakteriolyse etc. Stoffe hervorbrächte, welche eine spezifische Antiwirkung gegen den einverleibten Schutzkörper hätten, gingen also von der Möglichkeit der Entstehung von Anti-Antikörpern aus. Die Versuche fielen verschieden aus, je nach den Stoffen, die zur Immunisierung verwendet wurden. Während z. B. Kraus und Eisenberg kein Anti-Antitoxin und kein Antiagglutinin fanden, sah Walker scheinbar Antityphusschutzkörper entstehen, und Pfeiffer und Friedberger fanden Körper, welche die Wirkung der bakteriolytischen Ambozeptoren aufhoben.

Von anderen Gesichtspunkten gingen Dehne und Hamburger<sup>5)</sup> aus, welche sich die Frage vorlegten, ob das, nach Pferdeseruminjektion auftretende Pferdeserumpräzipitin eine allgemeine Wirkung auf Pferdeserumantitoxine besitze. Sie gelangten bei dem Tetanusantitoxin (vom Pferd) zu dem Schluß, daß das Verschwinden des Tetanusantitoxins parallel geht mit dem Auftreten des Pferdeserumpräzipitins, und sie fanden, daß nach primärer Einspritzung von normalem Pferdeserum die nachfolgende

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. p. 208.

2) Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. 1904. p. 131.

4) Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 50.

5) Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 29, ferner Hamburger (Naturforschergesellschaft Breslau. 1904. Sektion Hygiene).

Einspritzung von Tetanusantitoxin ein rasches Ansteigen des Pferdeserumpräzipitins und ein ebenso schnelles Verschwinden des eingespritzten Tetanusantitoxins herbeiführte. Der Widerspruch ihrer Resultate mit den beim Diphtherieantitoxin von Kraus und Eisenberg und Kraus und Joachim erhaltenen Resultaten findet nach Dehne und Hamburger in quantitativen Differenzen seine Erklärung. Da Dehne und Hamburger für das Diphtherieantitoxin ausführliche Protokolle nicht mitteilen, so schien eine nochmalige Bearbeitung dieser Frage für das Diphtherieantitoxin wünschenswert; sie ist auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. M. Neisser im Winter 1904/05 von mir ausgeführt worden.

Die Versuchsanordnung war analog der von Dehne und Hamburger, d. h. es wurden Tiere mit normalem Pferdeserum injiziert, einige Wochen später mit Diphtherieantitoxin und nach einigen Tagen mit lebenden Diphtheriekulturen (Tab. I) oder Diphtherietoxin (Tab. II) eingespritzt. Die lebende Kultur bietet den Vorteil, daß die Versuchsbedingungen mehr den natürlichen Verhältnissen entsprechen, aber es ist bekannt, daß ein ungleich genaueres Arbeiten mit dem Toxin möglich ist. Als Toxin wurde in allen Versuchen das Gift der prüfungstechnischen Abteilung des Instituts verwendet, dessen  $L_+ = 0,395$  ccm, entsprechend etwa 80 einfach tödlichen Dosen dieses Giftes, war.

#### Versuch I.

Es wurden 8 Meerschweinchen je 100 I.-E. (400fachen Diphtherieserums 4fach verdünnt, davon 1 ccm) subkutan eingespritzt. 4 dieser Meerschweine waren 5 Wochen vorher mit 5 ccm normalen Pferdeserums subkutan injiziert worden. Am 3., 7., 11. und 15. Tage nach der Antitoxineinspritzung erfolgte Injektion je zweier Tiere mit 0,5 ccm einer eintägigen lebenden Diphtheriebouillonkultur. Gewicht der vorbehandelten Tiere: 400, 400, 410, 410 g, Gewicht der nicht vorbehandelten Tiere: 390, 400, 390, 380 g.

Tabelle I.

Befund am n. Tage nach der Einspritzung der Diphtheriebacillenkultur	Zwischen der Einspritzung des Antitoxins und der Einspritzung der Diphtheriebacillenkultur lagen Tage:											
	3			7			11			15		
	vorbehandelt	unvorbehandelt	Kontrolle (nur Kultur)	vorbehandelt	unvorbehandelt	Kontrolle (nur Kultur)	vorbehandelt	unvorbehandelt	Kontrolle (nur Kultur)	vorbehandelt	unvorbehandelt	Kontrolle (nur Kultur)
1.	Strang	wenig	Infiltr.	Strang	wenig	Infiltr.	starkes Infiltr.	Infiltr.	Infiltr.	starkes Infiltr.	stark. Infiltr.	stark. Infiltr.
2.	wenig	wenig	+	Infiltr.	wenig	+	do.	starkes Infiltr.	+	do.	do.	do.
3.	wenig	wenig		stark. Infiltr.	wenig		+	do.		+	+	do.
4.	0	0		do.	0			do.				+
5.	munter			do.				do.				
6.								+				
Sektion			typisch	n. 8 Tagen Nekrose			typisch	typisch	typisch	typisch		

In diesem Versuch ist am 7. und 11. Tage nach der Kulturinjektion ein deutlicher Unterschied zu Gunsten der nicht vorbehandelten Tiere

nachweisbar. Am 3. und 15. Tage nach der Injektion sind keine Unterschiede vorhanden.

Den entsprechenden Versuch mit Diphtherietoxin zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Befund am n. Tage nach der Toxineinspritzung	Zwischen der Einspritzung des Antitoxins und der Einspritzung des Diphtherietoxins lagen Tage:									
	3. Giftdosis 0,395 ccm		6. Giftdosis 0,395 ccm		9. Giftdosis 0,395 ccm		12. Giftdosis 0,25 ccm		14. Giftdosis 0,01 ccm	
	vorbe- handelt (410 g)	unvor- behandelt (400 g)	vorbe- handelt (360 g)	unvor- behandelt (360 g)	vorbe- handelt (350 g)	unvor- behandelt (350 g)	vorbe- handelt (370 g)	unvor- behandelt (370 g)	vorbe- handelt (390 g)	unvor- behandelt (390 g)
1.	starkes Infiltrat	fast 0	starkes Infiltr.	Strang	starkes Infiltr.	Infiltr.	starkes Infiltr.	starkes Infiltr.	starkes Infiltr.	starkes Infiltr.
2.	do.	do.	do.	do.	+	do.	+	+	do.	do.
3.	do.	do.	do.	Infiltrat		starkes Infiltr.			do.	do.
4.	do.	0	Ne- krose	do.		Ne- krose			do.	do.
5.	do.	munter	große Nekr.	n. 10 Tagen kleine Nekrose		do.			n. 8 Tagen Nekrose	n. 8 Tagen Nekrose
6.	Tod nach 13 Tagen					do.				
7.						do.				
Sektion					typisch		typisch	typisch		

Dieser Versuch läßt am 3., 6. und 9. Tage nach der Giftinjektion einen Unterschied zu Gunsten der nicht vorbehandelten Tiere erkennen. Immerhin ist der Unterschied in diesen Versuchen nicht sehr erheblich und jedenfalls quantitativ nicht abschätzbar. Es erschien deshalb eine andere Versuchsanordnung geboten. Es mußten Kaninchen (mit normalem Pferdeserum vorbehandelte und normale) mit Diphtherieantitoxin (vom Pferd) intravenös injiziert werden, und dann ein Verschwinden des Antitoxins im Serum der Kaninchen verfolgt werden. Trotz der in der Literatur vorliegenden zahlreichen Versuche über das Verschwinden des eingespritzten Antitoxins aus der Blutbahn von Tieren schien ein kurzer Vorversuch nötig. Es wurde also einem Kaninchen von 2300 g Gewicht, das 2000 I.-E. intravenös erhalten hatte, am 4., 8. und 12. Tage nach der Antitoxineinspritzung Blut aus der Vene entnommen, je 1 ccm des Serums mit 0,395 ccm Gift gemischt und Meerschweinchen subkutan eingespritzt. Es zeigte sich, daß das Verschwinden des Antitoxins zwischen dem 4. und 8. Tage erfolgte. Angesichts dieses Versuches wurden nun 2 Kaninchen (von denen das eine 6 Wochen vorher 15 ccm normales Pferdeserum intraperitoneal erhalten hatte) je 2000 I.-E. intravenös injiziert und am 4., 5., 6., 7. und 8. Tage nach der Injektion Blut entnommen; 1 ccm des Serums wurde mit 0,395 ccm des Giftes den Meerschweinchen subkutan eingespritzt. Das Resultat zeigt die Tabelle III, aus der zur Evidenz der Unterschied zwischen dem Normaltier und dem Immuntier hervorgeht.

Tabelle

Befund der Meerschweinchen am n. Tage nach der Toxineinspritzung	Zwischen der Einspritzung des			
	4 0,395 ccm Gift		5 0,395 ccm Gift	
	+ 1 ccm Serum des vorbehandelt. Kaninchens	+ 1 ccm Serum des unvorbehand. Kaninchens	+ 1 ccm Serum des vorbehandelt. Kaninchens	+ 1 ccm Serum des unvorbehand. Kaninchens
1.	starkes Infiltrat	glatt	+	Infiltrat
2.	do.	0		"
3.	do.	0		regressiv
4.	+	0		am 12. Tage getötet
Sektion	typisch			
Gewicht aller Meerschweinchen 250—260 g				

Am 8. Tage dieses Versuches wurde das Serum der beiden Tiere auf Pferdeserumpräzipitine untersucht; nur das Serum des vorbehandelten Tieres zeigte Präzipitation.

Der ausführlichste Versuch war dann der folgende, bei dem dann das Serum eines mit Normalpferdeserum vorbehandelten Kaninchens und eines normalen Kaninchens am 1. und am 5. Tage nach der Diphtherieantitoxineinspritzung quantitativ auf seinen Antitoxingehalt aus-  
titiert wurde.

## Versuch IV.

Kaninchen, 2200 g schwer, erhält am 5. Dez. 15 ccm Normalpferdeserum intraperitoneal; am 30. Jan. (also 8 Wochen später) erhält das Tier 2000 I.-E. (5 ccm eines 400-fachen Serums) intravenös. - Am Tage nach der Injektion wird der Antitoxintiter dieses Tieres und eines nicht

Tabelle  
Wertbestimmung der Kaninchensera am

Befund der Meerschweinchen am n. Tagenach d. Toxininjekt.	Alle Meerschweinchen (250 g)													
	+ n ccm Serum des vorbehandelten Kaninchens													
	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,18	0,16	0,14	0,12	0,1	0,05	
1	glatt	glatt	glatt	glatt	dünner Strang	dünner Strang	fast 0	fast 0	dünner Strang	dünner Strang	Strang	stark. Infiltr.	+	
2	"	"	"	"	fast 0	fast 0	0	0	0	Strang	stark. Infiltr.	+		
3	"	"	"	"	0	0	0	0	0	"	do.			
4	"	"	"	"	0	0	0	0	0	"	regressiv			
5	"	"	"	"	0	0	0	0	0	"	do.			
6	"	"	"	"	0	0	0	0	0	"	do.			
Sektion												ty- pisch	ty- pisch	



III.

Antitoxins und der Blutentnahme lagen Tage:

6 0,2 ccm Gift		7 0,1 ccm Gift		8 0,05 ccm Gift	0,1 ccm Gift
+ 1 ccm Serum des vorbehandelt. Kaninchens	+ 1 ccm Serum des unvorbehand. Kaninchens	+ 1 ccm Serum des vorbehandelt. Kaninchens	+ 1 ccm Serum des unvorbehand. Kaninchens	+ 1 ccm Serum des vorbehandelt. Kaninchens	+ 1 ccm Serum des unvorbehand. Kaninchens
+	geringes Infiltrat regressiv " " am 11. Tage getötet	+	Strang regressiv " " am 10. Tage getötet	starkes Infiltrat +	Strang regressiv " "
typisch		Ein Kontrolltier erhielt 0,1 ccm Gift allein. † am 2. Tage.		Ein Kontrolltier erhielt 0,05 ccm Gift allein. † am 2. Tage.	

mit Pferdeserum vorbehandelten Kontrolltieres (von gleichem Gewicht) an Meerschweinchen festgestellt. Am 5. Tage nach der Antitoxininjektion wird das Tier entblutet und das Serum dieses Tieres, sowie des Kontrolltieres auf Antitoxingehalt austitriert (s. Tab. IV).

Aus den Tabellen geht hervor, daß 24 Stunden nach der Antitoxininjektion ein irgendwie wesentlicher Unterschied zwischen dem mit Pferdeserum vorbehandelten und dem Kontrolltier nicht besteht. Am 5. Tage nach der Antitoxineinspritzung ist aber ein außerordentlich prägnanter Unterschied zu konstatieren: 0,38 ccm Serum des nicht vorbehandelten Kaninchens schützen gegen 0,395 ccm Diphtherietoxin; aber erst 1,0 ccm Serum des vorbehandelten Kaninchens ist im stande, die Toxindose 0,07 ccm zu neutralisieren. Der Antitoxingehalt der beiden Sera verhält sich wie 1 : 14,8.

IV.

1. Tage nach der Antitoxininjektion.

erhalten 0,395 ccm Gift

+ n ccm Serum des unvorbehandelten Kaninchens																	
0,5	0,4	0,3	0,2	0,18	0,16	0,14	0,12	0,1	0,1	0,1	0,1	0,09	0,08	0,07	0,06	0,05	0,025
glatt	glatt	wenig	fast 0	0	0	0	fast 0	Strang	Infiltrat	Infiltrat	Strang	stark. Infiltrat	stark. Infiltrat	stark. Infiltrat	stark. Infiltrat	+	+
"	"	"	0	0	0	0	0	deutl. Strang	stark. Infiltrat	stark. Infiltrat	do.	+	+	+	+		
"	"	"	0	0	0	0	0	do.	do.	+	regressiv						
"	"	"	0	0	0	0	0	Strang	+		do.						
"	"	"	0	0	0	0	0	"			do.						
"	"	"	0	0	0	0	0	"	ty-pisch	nicht ty-pisch		ty-pisch	ty-pisch	ty-pisch	ty-pisch		

Tabelle  
Wertbestimmung der Kaninchensera am

Befund der Meerschweinchen am n. Tagenachd. Toxininjekt.	Alle Meerschweinchen (250 g) erhalten 1 ccm Serum								
	+ n ccm Gift des vorbehandelten Kaninchens								
	0,26	0,13	0,1	0,09	0,08	0,07	0,06	0,05	0,02
1	sehr starkes Infiltrat	sehr starkes Infiltrat	sehr starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltr.	starkes Infiltrat	stark. Infiltr.	stark. Infiltr.
2	+	+	do.	sehr starkes Infiltrat	sehr starkes Infiltrat	do.	deutl. Infiltrat	Strang	wenig
3			+	do.	do.	regressiv	wenig	wenig	„
4				do.	do.	fast 0	fast 0	„	„
5				do.	+	do.		„	„
6				+				„	„
Sektion	typisch	typisch	typisch	ziemlich typisch	typisch				

Parallel dem verschiedenen Abfall der Antitoxinmenge ist auch ein Unterschied in der Präzipitinbildung zu konstatieren: Beide Sera geben 24 Stunden nach der Antitoxineinspritzung keinen Niederschlag mit Pferdeserum; nach 5 Tagen ist das Serum des nicht vorbehandelten Kaninchens ebenfalls ohne Wirkung auf Pferdeserum, aber 0,5 ccm Serum des vorbehandelten Kaninchens gibt mit  $\frac{1}{3,20}$  ccm Normalpferdeserum deutlich Präzipitation.

Es zeigen diese Versuche die Richtigkeit der Angaben von Dehne und Hamburger. Auch das Diphtherieantitoxin haftet also im Pferdeserum an denjenigen Bestandteilen des Eiweißes, welche Präzipitinbildung auslösen, und das entstandene Präzipitat schließt mit den niedergeschlagenen Eiweißkörpern auch das an diesen Eiweißkörpern haftende Antitoxin ein. Es ist dabei zunächst gleichgültig, ob es im Tierkörper zu einer wirklichen Präzipitation kommt; denn auch bei nicht eintretender Präzipitation muß eine Verbindung von präzipitabler und präzipitierender Substanz angenommen werden. Diese Verbindung braucht nicht im Serum zu zirkulieren. Es ist denkbar, daß die immunisatorisch zur Ueberproduktion angeregten sessilen Zellrezeptoren die neu eingeführten Pferdeserumstoffe und damit das Antitoxin abfangen und festhalten. Auch damit wäre das Antitoxin aus dem zirkulierenden Blute verschwunden.

Es folgt aus diesen Versuchen noch ein weiteres. Wie gezeigt wurde, war die Abnahme des Antitoxins im vorbehandelten Kaninchen eine außerordentlich viel stärkere als im Normalkaninchen. Aber bei den vorbehandelten Meerschweinchen war der Unterschied zwischen vorbehandelten und nicht vorbehandelten Tieren bei weitem nicht so deutlich. Es mag das vielleicht zum Teil an den Verschiedenheiten der Tiere liegen, denn Meerschweinchen eignen sich nicht immer gut zur Präzipitinerzeugung. Aber es wäre für die Verschiedenheit der Versuche bei Kaninchen und Meerschweinchen noch eine andere Erklärung heranzuziehen, und ein Versuch von Dehne und Hamburger deutet sehr auf diese Erklärung hin. Wenn nämlich durch die Erzeugung des Pferdeserumantikörpers eine Bindung der Serumbestandteile und damit des Antitoxins erfolgt ist, so ist es denkbar, daß durch Zufügung von

## IVa.

## 5. Tage nach der Antitoxininjektion.

Alle Meerschweinchen (250 g) erhalten 0,395 ccm Gift									
+ n ccm Serum des unvorbehandelten Kaninchens									
1,0	0,8	0,6	0,4	0,38	0,36	0,34	0,32	0,3	0,2
deutl. Strang	deutl. Strang	Strang	Infiltrat	deutl. Strang	Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltrat
wenig	fast 0	0	deutliches Infiltrat	Sfrang	starkes Infiltrat	+	+	+	+
fast 0	0	0	starkes Infiltrat	wenig	sehr starkes Infiltrat				
0	0	0	Infiltrat regressiv	„	+				
0	0	0	„	„					
			„	„	typisch	typisch	typisch	typisch	typisch

Toxinen das ausgeschaltete Antitoxin wieder zur Wirksamkeit kommt, indem die Verbindung von Serumweiß und seinem Antikörper gesprengt wird und das Antitoxin wieder in Lösung kommt. Es werden deshalb die vorbehandelten Meerschweinchen eine geringere Einbuße von Antitoxinen zeigen, weil trotz eingetretener primärer Ausschaltung des Antitoxins durch das nachträglich eingeführte Toxin das Antitoxin wieder frei wird und in Aktion tritt. Bei den vorbehandelten Kaninchen aber ist das ausgeschaltete Antitoxin definitiv verloren, denn es wird nur das abgelassene, also antitoxinfreie Serum benutzt.

Es wäre verfrüht, aus diesen Versuchen direkte Rückschlüsse auf die Verhältnisse beim Menschen zu machen. Denn einmal ist die gewöhnlich eingespritzte Serumdosis im Verhältnis zum Körpergewicht so minimal, daß eine reichlichere Entstehung von Serumantikörpern kaum zu erwarten ist. Bei einem Kindergewicht von 25 kg und der Einspritzung von 5 ccm Serum ist das Verhältnis so, wie wenn einem Meerschweinchen von 250 g 0,05 ccm Serum eingespritzt würde. Daß freilich Serumdosen von 100 und 200 ccm ein ganz anders wirksamer Eingriff sind und einer Serumimmunisierung gleichstehen, wurde bereits betont. Aber auch hier ist es noch zweifelhaft, ob dadurch eine nachträgliche Diphtherieantitoxineinspritzung unwirksam wird. Wenn einige Monate seit der primären Einspritzung vergangen sind, so würde eine nachträgliche Seruminjektion zu Heilzwecken kaum eine Einbuße erleiden; denn ehe durch Antikörperentstehung eine Abnahme des Diphtherieantitoxins eintreten könnte — was ja einige Tage dauert — hat das Antitoxin bereits Zeit genug gehabt, neutralisierend auf das Toxin zu wirken. Würde aber die zweite Injektion zu prophylaktischen Zwecken gemacht werden, so wäre in der Tat eine kürzere Dauer des Schutzes denkbar und nach den Meerschweinchenversuchen nicht unwahrscheinlich; aber gerade nach diesen Versuchen würde der Unterschied gegenüber nicht vorbehandelten Menschen kein sehr beträchtlicher sein. Die Frage, inwieweit vorbehandelte Menschen gegenüber nicht vorbehandelten stärkere Allgemeinreaktion auf erneute Serumverabreichung zeigen, wird hierdurch nicht berührt. Jedenfalls ist es ein großes Verdienst von Dehne und Hamburger, auf diese Verhältnisse hingewiesen und darauf auf-

merksam gemacht zu haben, daß eine größere Seruminjektion ein Eingriff ist, dessen Wirkungen auch nach längerer Zeit sich in irgend einer Weise bemerkbar machen können.

Es wäre voreilig, aus den Versuchen von Dehne und Hamburger und meinen Versuchen zu schließen, daß alle Antikörper an solchen „tierspezifischen“ Serumbestandteilen haften, daß demnach alle im Pferdeserum vorhandenen Antikörper durch ein mit einem Normalpferdeserum gewonnenes Antipferdeserum ausgeschaltet werden könnten. Ich habe in analoger Weise wie mit Diphtherieantitoxin Versuche mit Agglutinin angestellt, über die späterhin berichtet werden soll. Sie weisen in Uebereinstimmung mit früheren Versuchen von Kraus und Eisenberg darauf hin, daß bestimmte künstliche Agglutinine nicht an denjenigen Serumbestandteilen haften, welche Antiserumkörper auslösen.

*Nachdruck verboten.*

## Versuche zur Schutzimpfung gegen Cholera mit Cholera-nukleoproteid.

[Aus dem Schweizer Serum- und Impfinstitut in Bern.]

Von Dr. med. **Otto Heller**, Abteilungschef am Institut.

Die günstigen Erfolge mit dem auf chemischem Wege gewonnenen Pestvaccin nach Lustig gaben vor mehreren Jahren den Anlaß, Versuche mit einer ähnlichen Substanz aus Choleravibrionen anzustellen. Dieselben wurden im vergangenen Jahre in größerem Umfange wieder aufgenommen und bestätigen die Resultate der früheren Experimente vollkommen.

Die Herstellung des Vaccins ist eine rein chemische, so daß die schädigenden Wirkungen der Wärme etc. auf die spezifischen Bakterien-substanzen vermieden werden; die Einzelheiten der Darstellung glauben wir hier übergehen zu können, da unsere Erfahrungen in extenso in der Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. (cf. K. Schmitz, Untersuchungen über das nach der Lustigschen Methode bereitete Cholera-vaccin) veröffentlicht werden.

Im Laufe der Experimente richteten wir unser Hauptaugenmerk auf die Toxizität des Nukleoproteids gegenüber Meerschweinchen und Kaninchen, sowie die Reaktionserscheinungen derselben auf die Feststellung der tödlichen und der immunisierenden Dosen, den Eintritt und die Dauer der Immunität und schließlich auf die spezifischen Veränderungen im Blutserum der Immuntiere.

Wir prüften bei unseren Versuchen vergleichend das Nukleoproteid zweier Cholerakulturen, von denen die eine virulenter war, ohne jedoch bezüglich der Toxizität des Nukleoproteids wesentliche Unterschiede konstatieren zu können.

Zur Injektion bei Tieren eignete sich am besten eine 1-proz. Lösung des trockenen Pulvers in einer ca. 1-proz. Sodalösung; stärkere Konzentrationen des Impfstoffes scheinen einer langsameren Resorption zu unterliegen. Die Intoxikation tritt bei Anwendung größerer Dosen entsprechend der Natur des Impfstoffes sehr schnell ein; für Meerschweinchen erwiesen sich Mengen von 10–15 mg Nukleoproteid auf 100 g

Tiergewicht als die Grenze; wurde diese Dose überschritten, so erlagen die Tiere sämtlich der Vergiftung.

Dagegen zeigten die Versuchstiere bei Anwendung kleinerer Dosen (1—5 mg auf 100 g Tier) geringere Reaktionen, die je nach der Höhe der Dose in kurzer Zeit verschwanden. Doch ist für die Reaktion die individuelle Empfänglichkeit der einzelnen Tiere zweifellos von Bedeutung. Man beschränkte sich deswegen auf die Injektionen möglichst niedriger Dosen, die, wie unsere Versuche zeigten, für die Erzeugung einer Immunität trotzdem sehr wirksam waren. Hatten die Versuchstiere eine erstmalige Injektion überstanden, so waren sie für die Injektion einer zweiten, und zwar höheren Dose immun; gleichzeitig erzeugte das Choleranukleoproteid eine Immunität gegen einfache und mehrfache tödliche Dosen lebender Choleravibrionen, und zwar sowohl gegenüber dem Stamm, aus dem das Präparat gewonnen war, wie gegenüber anderen Stämmen. Die Immunität konnte erreicht werden mit einmaligen und mit wiederholten Injektionen; bemerkenswert bleibt einerseits, daß die Entwicklung der Immunität vom Augenblick der Injektion an sehr rasch beginnt und schnell ansteigt, und andererseits, daß die Immunität lange Zeit andauert. Nach 7 Monaten war die Wirkung des Vaccins noch nachzuweisen. Durch Wiederholung der Injektion in kleiner Dose läßt sich der Schutz des Individuums nach längerer Zeit ohne Schwierigkeit erhöhen.

Aber nicht nur die praktischen Resultate bewiesen die Brauchbarkeit des Choleranukleoproteids als Schutzimpfungsmaterial, sondern auch die Untersuchungen des Serums behandelter Tiere zeigten die Entstehung spezifischer Antikörper. So gelang, allerdings im Gegensatz zu Polverinis Erfahrungen bei Pest, der Nachweis von Agglutininen mit Leichtigkeit. Zwei Kaninchen wurden injiziert, das eine mit Choleranukleoproteid, das andere mit Choleravibrionen. Nach Injektion einer Gesamtmenge von 0,25 g hatte das Serum des Nukleoproteidtieres einen Agglutinationstiter von 1 : 400 makroskopisch; derselbe stieg bei weiterer Behandlung (Gesamtmenge 0,8 g Vaccin) auf 1 : 1000; das mit Vibrionen behandelte Tier zeigte gleichzeitig einen Wert von 1 : 1000 und 1 : 3000. Andererseits bestätigte der wiederholt angestellte Versuch Bordets zum Nachweis spezifischer Immunkörper die Existenz derselben. — Unsere Versuche werden zur Zeit noch fortgesetzt und die Ergebnisse später veröffentlicht.

Wir wollen an dieser Stelle nicht eintreten auf den Vergleich der bisher vorgeschlagenen Schutzimpfungsversuche gegen Cholera (Ferran, Haffkine, Kolle etc., in letzter Zeit Strong); vielmehr verweisen wir in dieser Hinsicht auf die Originalarbeiten und die Literaturangaben bei Voges, Choleraimmunifakt (Centralbl. f. Bakt. etc. 1896), Kolle, Cholera (Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. Bd. III. 1904. p. 1), Hetsch, Choleraimmunität (ibid. Bd. IV. 1904. p. 1091), Strong, Protective inoculation against asiatic cholera (Government laboratory Manila. 1904. No. 16) sowie auf die oben erwähnte Publikation von Schmitz.

Zusammenfassend aber möchten wir betonen, daß ein nach der Lustigschen Methode aus Choleravibrionen gewonnenes Nukleoproteid große Vorteile als Schutzimpfungsmaterial besitzt. Denn es erzeugt ohne besonders starke Reaktion in kürzester Zeit einen hohen Immunitätsgrad, der monatelang bestehen bleibt und durch Wiederholung der Impfung ohne Schwierigkeit erhalten und erhöht werden kann. Die

Dosierung ist bequem und unter Kontrolle des Präparates im Tierversuche sehr genau. Dabei besitzt das Material den Vorteil, daß es sich in großen Quantitäten herstellen und in trockener Form als Pulver sich lange Zeit ohne bisher nachgewiesene Einbuße an spezifischer Kraft konservieren läßt, so daß es in choleraverseuchten und durch Cholera bedrohten Gegenden ständig vorrätig gehalten werden kann. Schließlich sei darauf hingewiesen, daß ein solches Material in trockener Form auch in tropischen Gegenden keiner Zersetzung ausgesetzt ist, so daß es unter allen Bedingungen leicht zu versenden ist.

*Nachdruck verboten.*

## Die Sterilisation elastischer Katheter.

[Aus dem bakteriologischen Privatlaboratorium von Prof. Dr. H. Jäger  
Straßburg i. E.]

Von Paul Sittler, Straßburg i. E.

Mit 1 Figur.

(Fortsetzung.)

Ein Verfahren, welches in Frankreich größere Verbreitung gefunden, in Deutschland aber keinen festen Fuß hat fassen können — wohl wegen der schlechten Resultate, die bei seiner Anwendung, sowohl vegetativem, als auch ganz besonders sporenhaltigem Bakterienmaterial gegenüber, Koch und Wolffhügel erzielt haben — ist die Anwendung der schwefligen Säure in Dampfform. Boulanger, Forgue, Guyon, Janet haben ihr das Wort geredet und auch verschiedene Apparate für ihre Anwendung zur Kathetersterilisation angegeben. Nach Albarran und Guyon sterilisiert ein Aufenthalt von 3 Stunden in  $\text{SO}_2$ -Dämpfen die Katheter „sicher“, ohne sie anzugreifen. Vorher mechanisch nicht gereinigte und noch eingefettete Katheter wurden bei den Versuchen von Guyon und Janet erst in 12–24 Stunden keimfrei, während Gros-glik von Instrumenten, die mit *Staphylococcus albus* und *aureus* infiziert waren, auch nach 24-stündiger  $\text{SO}_2$ -Einwirkung die Keime noch auswachsen sah. Frank hat mit Milzbrand infizierte Katheter durch schweflige Säure erst in 48 Stunden sterilisieren können. Oppler macht dieser Methode den Vorwurf, daß sie eine für die Praxis viel zu lange Zeit zur Desinfektion erfordere. — Kutner hat beobachtet, daß die  $\text{SO}_2$ -Dämpfe die Seidenkatheter gebrechlich machen, sie verlieren ihre Glätte schon nach 1–2maliger Sterilisation mit diesem Gase. Gleicher Ansicht ist auch Mankiewicz.

Als letzte der Desinfektionsmethoden mittels gasförmiger chemischer Substanzen, die in der Praxis auch heute noch sich einer sehr großen Verbreitung erfreut, ist die Anwendung des Formaldehyds bei Zimmertemperatur anzuführen. Dieses Verfahren ist 1896 von Janet, Claisse, Frank in die Urologie eingeführt und wird in verschiedener Weise gehandhabt: Entweder werden die sorgfältig getrockneten Katheter den von Trioxymethylenpastillen oder -pulver entwickelten Dämpfen ausgesetzt, oder es werden hierzu die Instrumente nach der mechanischen Reinigung mit Wasser absichtlich feucht gelassen, um eine bessere Wirkung des Desinficiens zu erzielen, oder schließlich die Instrumente werden (feucht oder getrocknet) in die Dämpfe gebracht,

welche von dem offizinellen Formalin (35-proz. Lösung von Formaldehyd in Wasser) bei Zimmertemperatur sich bilden. Die zur Sterilisation mittels dieser Verfahren erforderliche Zeit wird von fast allen Autoren, die sich damit beschäftigt haben, bei einem Temperaturminimum von 10—15—17° (Janet, Warden, Goldberg), für gewöhnliche Katheter auf 24 Stunden, für dünne Katheter (Ureterenkatheter) auf 48 Stunden angegeben. Posner und Frank erzielten auf diese Weise gute Resultate mit der Formalin- wie mit der Trioxymethylenanwendung. Janet fand, daß die aus Formalin entwickelten Dämpfe, wegen des mitverdampften Wassers, allerdings erst bei längerer Anwendung, elastische Katheter etwas schädigen, indem sie die äußere Lackschicht zum Quellen bringen und weicher machen — Befunde, von denen auch ich mich an neueren Kathetern überzeugen konnte — und zieht deshalb die Verwendung von Trioxymethylen vor, welches langsamer wirke (Phélip, Hock, Verhoogen). Allenfalls könne Formalin unter der Bedingung angewandt werden, daß die Katheter vorher peinlich — eventuell mit Hilfe von Calciumchlorid — (einige Zeit) getrocknet würden (Janet, Warden, Schlesinger).

Die besten Erfolge mit der Formaldehyddesinfektion haben Schlesinger und Oppler erzielt. Beide Autoren ließen auf ihre Versuchsobjekte bei Zimmertemperatur die Dämpfe einwirken, welche von mit Formalin getränkten Kieselguhrstücken (Formalith) abgegeben wurden. Ihre Apparate, ähnlich wie auch die von den französischen und englischen Autoren gebrauchten, waren so konstruiert, daß die Formaldehyd entwickelnde Substanz durch ein Drahtsieb von den zu desinfizierenden Gegenständen getrennt und das Ganze in einem gut schließenden Metallkasten untergebracht war (Abbildung in der Schlesingerschen Arbeit). In diesem Apparate hat Schlesinger Milzbrandsporen, die an Seidenfäden und an Messern angetrocknet waren, schon nach 3—4 Stunden abgetötet gefunden. Staphylokokken wuchsen nicht mehr aus, wenn sie  $\frac{1}{8}$  dieser Zeit den Formalindämpfen ausgesetzt wurden. Um dicke Eiterschichten zu sterilisieren, war eine 3- bis 4mal so lange dauernde Einwirkung des Desinfektionsmittels nötig. — Bei der bakteriologischen Nachprüfung — das an den Instrumenten angetrocknete Infektionsmaterial wurde von den Objekten abgekratzt und in Bouillon gebracht — hat Schlesinger von einer chemischen Neutralisation des an dem infizierenden Material eventuell haften gebliebenen Formalins (mit  $\text{NH}_3$  oder ähnlichem) abgesehen, was vielleicht teilweise seine günstigen Resultate erklärt. — Entwicklungshemmung von mit übertragenen Formalinspuren auf Milzbrandsporen ist noch bei 1 : 50 000 möglich (Burckhard). — Dagegen hat Schlesinger bei den Versuchen mit den Milzbrandsporenfäden die Kontrolle angewandt, daß er einen sterilen Seidenfaden gleich lang in seinem Apparate ließ, wie den zu sterilisierenden sporenhaltigen; am Ende des Versuches wurden beide Fäden direkt in je eine Bouillonröhre gebracht und zu dem sporenfreien ein frischer milzbrandsporenhaltiger Seidenfaden zugesetzt. Erfolgte nun aus dem letzteren Auskeimung der Sporen, aus dem ersteren nicht, so sollten die mit Formalindämpfen behandelten Keime abgetötet sein.

Dieser Schluß ist nicht eindeutig. Es ist wohl möglich (und erhält durch die unten beschriebenen Versuche von Philipp auch einige Wahrscheinlichkeit), daß die konzentrierten Formaldehyddämpfe mit den Sporenmembranen des Milzbrandes so feste Verbindungen eingehen,

daß sie nicht mehr in Bouillon, wohl aber noch im tierischen Körper dissoziiert werden können. — Formalin bildet bei gewöhnlicher Temperatur beständige Verbindungen, sowohl mit Eiweißkörpern (Blum, Bach, Benedicenti), als auch mit Kohlehydraten (Stärke, stärkeähnliche Verbindungen, Pektinstoffe — Classen). Die durch den keimfreien Seidenfaden (in der Schlesingerschen Kontrolle) übertragene Spur von Formalin geht aber mit den Sporenmembranen des frisch eingepfchten Milzbrandes wohl keine derartige Verbindung ein, schon aus dem Grunde, weil die Peptonbouillon ja an und für sich genug Eiweißkörper enthält. — Etwas analoges beobachten wir auch, wie schon früher erwähnt, bei der Behandlung der Milzbrandsporen mit Sublimat. Sporen, welche nur wenige Minuten länger im Sublimat gelegen haben als andere, keimen nicht mehr ohne Schwefelammonbehandlung aus, während diese anderen (etwas kürzere Zeit im Sublimat gewesen) trotz des haften bleibenden Sublimats ohne weiteres auswachsen. Dabei läßt sich nur schwer denken, daß mit den etwas länger desinfizierten Sporen eine quantitativ irgend erheblich größere Menge des Desinficiens auf den Nährboden übertragen worden sei, oder daß das Sublimat in diesem Falle die Mikroorganismen schon etwas geschädigt habe; besonders wo sie nach der Sublimatfällung mittels Schwefelammon ebenso prompt auswachsen wie die anderen. Ob nicht die Annahme einfacher sei, daß das Sublimat und ähnlich das Formaldehyd mit einer in der Sporenmembran vorhandenen Substanz allmählich eine chemische Verbindung eingehe, die unangreifbar ist für die beim Auskeimen der Sporen wirksamen Fermente, mag dahingestellt bleiben. — Philipp hat virulente sporenhaltige Milzbrandkulturen und Milzbrandsporenfäden, nachdem sie 96 und 168 Stunden mit Formalindämpfen behandelt waren (ohne Formalinneutralisation), auf Bouillon und Agar abgeimpft und im Thermostaten bei 37° kein Wachstum erzielen können. Im Tierversuche erwiesen sich dieselben Keime noch als virulent, so daß damit geimpfte Tiere, allerdings erst nach 4 und 33 Tagen, an Milzbrand eingingen. (Zur Kontrolle mit nicht durch Formaldehyd behandeltem Milzbrand geimpfte Tiere starben nach 30 und 20 Stunden an Milzbrand.) Ein weiteres Tier wurde mit einem Tropfen Blut des nach 33 Tagen gestorbenen Tieres geimpft und ging nach 30 Stunden zu Grunde, so daß diese Mikroorganismen durch das Formaldehyd weniger eine Schädigung, als eine bloße auch im Tierkörper noch fortwirkende Entwicklungshemmung erfahren hatten (vergl. auch Geppert).

Locker in viel Watte eingewickelte Milzbrandsporenfäden wurden im Schlesingerschen Apparate erst nach 11 Stunden, in Mull eingewickelte nach 4 Stunden steril. Katheter dagegen, an denen Milzbrandsporenbeläge angetrocknet waren, die nach der Formaldehydbehandlung mit Bouillon abgerieben und (ohne Formalinneutralisation) in frische Bouillon übertragen wurden, waren erst nach 48 Stunden „sicher“ steril. — Erwähnt sei noch, daß Schlesinger an Kathetern, die feucht in seinen Apparat gebracht waren, schwer zu entfernende Beschläge (Veränderungen in der Farbe) auftreten sah. Auch Löb fand bei seinen Versuchen mit Formaldehyd Farbveränderungen und Fixierungen von Rost- und Eiterflecken an elastischen Kathetern.

Oppler hat Katheter mit *Prodigiosus*, *Pyocyaneus*, *Cholera*, *Coli*, *Typhus* und Milzbrand infiziert, dann feucht, oder nach dem Antrocknen der Organismen den Formaldehyddämpfen ausgesetzt



und nach Auswaschen (in sterilem Wasser) in „möglichst viel“ Bouillon gebracht, um eine Entwicklungshemmung zu vermeiden. Das Ergebnis seiner Versuche war, daß die Dämpfe des offizinellen Formalins in 6 Stunden, die von Formalinkieselguhr in 14 Stunden und von Trioxymethylen in 16—19 Stunden (je nach der angewandten Menge) obige Keime abgetötet hatten.

Katzenstein prüfte nach Infektion seiner Instrumente mit *Pyocyanus*, Streptokokken, Staphylokokken oder *Coli* „die Einwirkung der Formaldehyddämpfe auf die Katheter bei 15°“ und fand, „daß zu einer sicheren Sterilisierung von Kathetern mit weitem Lumen eine Zeitdauer von 24 Stunden notwendig sei“, während nach 20 Stunden die Sterilisation nicht immer erfolgte und 12 Stunden sich stets als ungenügend erwiesen hatten (Abspülen der Katheterstücke in sterilem Wasser vor der bakteriologischen Untersuchung).

Warden erhielt in 4 Versuchen folgende Resultate:

8 gewöhnliche infizierte Katheter, von denen 3 zu Beginn des Versuches mit Wasser und Seife gewaschen und durchspült worden waren, ergaben nach 24-stündigem Aufbewahren über Formol (bei 17°) kein Wachstum.

Von 7 gewöhnlichen infizierten Kathetern (3 vor dem Versuch mit Wasser und Seife gewaschen und gespült) zeigte nach 24-stündigem Aufenthalt über Trioxymethylen (bei 17°) einer (der nicht gewaschenen) Bakterienwachstum nach 48 Stunden.

2 dünne Katheter (Instillatoren), im Lumen infiziert (einer vorher gewaschen), ergaben nach 24-stündiger Einwirkung von Formoldämpfen (bei 17°) beide Wachstum innerhalb 48 Stunden.

8 Instillatoren, im Lumen infiziert (7 vorher gewaschen und durchspült), waren nach 48-stündigem Verweilen über Formol steril, bis auf den einen ungewaschenen, aus dem nach 2 Tagen Keime aufgingen.

Dasselbe unsichere Resultat der Formaldehyddesinfektion gegenüber Kathetern mit engem Lumen hat auch Janet zu verzeichnen, dem es nicht immer gelang, Ureterenkatheter innerhalb 48 Stunden steril zu machen.

Ob Warden bei seinen Versuchen das bei Herausnahme aus dem Apparate an den Kathetern haften gebliebene Formaldehyd entfernt hat, hat er nicht angegeben. Wie groß die davon ausgehende Entwicklungshemmung sein kann, zeigte mir ein eigener Versuch, wo ich in frisch mit *Staphylococcus pyogenes aureus* geimpfte Bouillon einen Katheter brachte (ca. 5 cm weit eintauchend), der kurz vorher 24 Stunden lang den Dämpfen aus einer Trioxymethylenpastille (Schering) ausgesetzt worden war. Die Bouillon war noch klar, nachdem sie 48 Stunden im Brutschrank und ebenso lange bei Zimmertemperatur gestanden hatte, und wurde nun zum zweiten Male mit *Staphylococcus* geimpft. Auch dann erfolgte nach 2 Tagen Brüt- und einigen Tagen Zimmertemperatur keine Trübung, während zur Kontrolle abgeimpfte Staphylokokken derselben Kultur in Bouillon sich üppig vermehrten. — Ebenso wuchsen Milzbrandsporen nach 5-tägigem Aufenthalt bei 37° nicht aus, wenn sie in Bouillon gebracht waren, in die ein 24 Stunden lang in Trioxymethylen dämpfen aufbewahrter Katheter eintauchte. (Ein Kontrollsporenfaden zeigte nach 24 Stunden in Bouillon kräftiges Wachstum.)

Auf einen von Janet und Phélip hervorgehobenen Nachteil der Formaldehydmethode sei gleich an dieser Stelle hingewiesen. Wenn vor

Anwendung dieses Verfahrens nicht für peinliche Entfernung jeglicher Seife und jeglichen (als Gleitmittel verwandten) Fettes an den Instrumenten gesorgt werde, so sei eine Sterilisation erst in 3—4-fach längerer Zeit als gewöhnlich zu erreichen (Janet). — Und daß von den Keimen, die bei der Katheterdesinfektion in Betracht kommen, gerade die wichtigsten, *Bacterium coli*, *Bacterium typhi* und *Staphylococcus pyogenes aureus*, sich im Katheteröl lange lebend erhalten (10 bis 12 Tage; *Micrococcus ureae* bis zu 7 Tagen) hat Kurpjuweit nachgewiesen. — Zur zuverlässigen Entfernung von Fett an den Instrumenten will Phélip sie sogar vor der Formaldehyddesinfektion in Seifenwasser gekocht wissen, eine Prozedur, die (abgesehen davon, daß sie schon an und für sich genügend sterilisieren würde) ja die durch das Formaldehydverfahren erstrebten Vorteile — Schonung der Katheter — ganz illusorisch machen würde.

Die Formaldehyddesinfektion der Katheter hat auch manche Gefn gefunden, die der Methode die verschiedensten Vorwürfe gemacht haben (von der langen zur Sterilisation erforderlichen Zeit — Kutner, Man-kiewicz — gar nicht zu reden). Der erste und wichtigste ist der von Kutner und Katzenstein erhobene, daß die sterilisierende Kraft des Formaldehyds bei Kathetern mit sehr engem Lumen oft im Stich läßt (Janet, Warden).

Ein weiterer erheblicher Nachteil des Formaldehyds im allgemeinen, der sich auch bei der Kathetersterilisation störend bemerkbar macht und wohl der Grund der oben erwähnten negativen Resultate bei engen Kathetern ist, liegt in seiner geringen Tiefenwirkung (Philipp, Burckhard, Hammerl und Kermauer, Löb). — Nicoll hat Eiter an einem gewöhnlichen Katheter 24 Stunden lang antrocknen lassen und ihn dann auf 48 Stunden in einem Formol enthaltenden Apparat — ähnlicher Konstruktion wie der von Schlesinger, s. oben — gebracht. Nach dem Herausnehmen wurde der Katheter längsgespalten und auf Gelatine gebracht (ob vorher eine chemische Neutralisierung des Formaldehyds am Instrument erfolgte, ist nicht erwähnt). Nach 3 Tagen fand sich, vom Katheterlumen ausgehend, massenhaftes Staphylokokken-Wachstum. — In einem weiteren Versuch wurde ein Katheter (schlechterer Qualität) mit Urin von einer alten Cystitis gründlich infiziert und vor dem Einlegen in den Formolapparat, in dem er 3 Tage liegen blieb, in warmem Wasser gewaschen. Die Gelatine, in welche der längsgespaltene Katheter übertragen worden war, ergab Wachstum von *Bacterium coli* und einem Coccus. — Dergleichen wuchsen vom Lumen eines Katheters, der bei einer alten Cystitis öfters angewandt und nach dem Gebrauch abgespült worden war, nachdem er 48 Stunden im selben Apparate über Trioxymethylenpulver gelegen hatten, in Gelatine Diplokokken aus. Um diesen seinen Versuchen volle Beweiskraft zu erteilen, hätte Nicoll die im infizierenden Eiter oder Urin vorhandenen Keime feststellen und dann auf ihre Identität mit den (nach der Sterilisation) gewachsenen prüfen müssen, wovon er aber in seiner Arbeit nichts sagt.

Dann ist, wie schon oben kurz erwähnt, von Anhängern und Gegnern der Formaldehydsterilisation darauf aufmerksam gemacht worden, daß der längere Aufenthalt in einer viel Wasserdampf enthaltenden Atmosphäre die Katheter schließlich ebenso angreife wie das Liegenlassen (während kürzerer Zeit) in reinem Wasser (Desnos, Hock) und den Lack rauh mache (Wolff), besonders bei Temperaturen über 16—18°

(Phélip). Kutner und Müller wollen daher die von Formalin entwickelten wasserhaltigen Dämpfe, welche schon in kurzer Zeit den Katheterlack „klebrig“, „weich und brüchig“ machen sollen, zur Sterilisation ebensowenig zulassen wie das Aufbewahren der Instrumente in feuchter Atmosphäre über Trioxymethylen. Die übrig bleibende Sterilisation trockener Objekte mit Trioxymethylen in trockener Luft (die nach Kutner für elastische Katheter auch nicht ganz unschädlich ist) hat aber eine viel geringere und weniger sichere Wirksamkeit (Hammerl und Kermayer) und erfordert einen bedeutend größeren Zeitaufwand (Zeit zum völligen Trocknen und längere Dauer der Sterilisation), so daß sie für die Praxis weniger in Frage kommt.

Schließlich darf nicht unerwähnt bleiben, daß einige Autoren (Kutner, Huldshiner, Hock, Mankiewicz) nach Anwendung von Instrumenten, die einige Zeit in Formaldehyddämpfen verweilt hatten, mehr oder weniger heftige Reizung der Urethral Schleimhaut beobachtet haben, die beiden letzteren auch dann noch, nachdem sie die Instrumente in destilliertem oder in Borwasser abgespült hatten.

Im Anschluß hieran sei noch ein Sterilisationsverfahren erwähnt, das bis jetzt in der Praxis keine weitere Verbreitung gefunden hat. Hamonic hat einen Apparat angegeben, um erhitzte Formaldehyddämpfe von 50—60° — aus Formalin oder Trioxymethylen entwickelt — mit Hilfe eines für die Sterilisation indifferenten strömenden Gases (Leuchtgas, Acetylen, Kohlendioxyd, Luft) so durch die Katheter zu treiben, daß die aus dem Katheterauge heraustretenden Dämpfe noch die Außenfläche des Katheters bestreichen müssen, und will mit dieser Methode in 7 Minuten (Frank in 10 Minuten) „vollständige“ Keimfreiheit seiner Instrumente erreicht haben.

Katzenstein, der ebenfalls gefunden, daß mit Formaldehyddämpfen bei erhöhter Temperatur Katheter sich schneller sterilisieren lassen — bei 37° schon in halb so viel Zeit wie bei 15° — hat einen ähnlichen Apparat konstruiert, mittels dessen er auf 60—70—80° erhitzte, aus Trioxymethylenpulver entwickelte Formaldehyddämpfe trocken durch das Lumen der mit Chlorcalcium vorher zu trocknenden Katheter hindurchtreiben und ihre Außenfläche sterilisieren kann. Innerhalb 10 Minuten sollen auf diese Weise gewöhnliche Katheter mit Dämpfen von 60°, Ureterenkatheter in 20 Minuten mit Dämpfen von 70—80° von vegetativen Bakterienformen (denselben wie im oben geschilderten Versuche Katzensteins) steril gemacht werden. Da Katzenstein nur in der „ersten Hälfte“ seiner Versuche „das Desinficiens durch Abspülen des Katheters in reinem Wasser zu entfernen gesucht“ hat, in den übrigen nicht, so sind seine günstigen Resultate etwas skeptisch aufzunehmen; besonders da Jacob, der das Katzensteinsche Verfahren nachprüfte, zu erheblich schlechteren Ergebnissen gelangt ist. 1/2 Stunde lang an Kathetern angetrocknete Staphylokokkenkulturen konnte Jacob in 15 Minuten mit trockenen Formaldehyddämpfen von 60—70° nicht abtöten; 1/2 Stunde angetrocknete Coli-Bakterien wurden mit Dämpfen von 70° in 20 Minuten nicht vernichtet, 24 Stunden angetrocknete mit Dämpfen von 70—75° in 15 Minuten ebenfalls nicht. Ureterenkatheter, die mit einer alten Milzbrandkultur infiziert waren, fand Jacob nicht sterilisiert, nachdem er sie 30 Minuten lang Formaldehyddämpfen von 80—90° ausgesetzt hatte, während dieselben Katheter, mit denselben Mikroorganismen geimpft, in Kutners Dampfapparat in 8 Minuten keimfrei wurden. — Löb mußte Formaldehyddämpfe von 70—80° (aus

Trioxymethylenpastillen entwickelt) in einen abgeschlossenen kleinen Kasten von Zimmertemperatur 2 Stunden lang überleiten, um darin befindliche Bouillonkulturen von *Bacterium coli*, Staphylokokken und Anthrax abzutöten; mit „lose“ aufgesetztem Wattepfropf wurden die Kulturen auch nach 24 Stunden bis 3 Tagen nicht steril.

Auch mit dieser Methode läßt sich also keine Tiefenwirkung des Formaldehyds erreichen, was auch Katzenstein zugibt: das Gas „dringt nicht durch Schleim oder Blutcoagula hindurch“.

### **Eigene Versuche zur Prüfung der Katheterdesinfektion mit Formaldehyddämpfen.**

**Trockene Katheter in trockenen, aus Trioxymethylen entwickelten Dämpfen.**

Von 6 (wie auch in den folgenden Versuchen) vorher gereinigten Kathetern werden 3 mit einer 24-stündigen Coli-Kultur und 3 andere mit einer gleich alten Kultur von *Staphylococcus pyogenes aureus* — aus Eiter isoliert — durch 1 Minute langes Eintauchen infiziert. — Eine Kontrollabimpfung beider Kulturen auf Agarstrich ergibt nach 24 Stunden Brüttemperatur starkes Wachstum. — Nachdem die Katheter dann 10 Stunden lang bei 37° zum Trocknen aufbewahrt waren, werden sie in ein großes, mit Gummipfropf verschlossenes Reagenzrohr gebracht, welches 2 Schering'sche Trioxymethylenpastillen enthält, durch eine lockere Watteschicht, ca. 1—2 cm breit, von den Kathetern getrennt. Dieses Reagenzrohr wird (wie bei den übrigen Versuchen) bei Zimmertemperatur (Minimum nicht unter 15—17°), vor direktem Licht geschützt, aufbewahrt. Nach 24, 48 und 72 Stunden wird je einer der mit Coli und Staphylokokken infizierten Katheter herausgenommen und mit dem Ende, das in die Kulturen getaucht, in steriler Ammoniaklösung — 1 Liquor ammonii caustici : 10 sterilem Wasser — durch wiederholtes Eintauchen bis zu einer Höhe von 8 cm abgespült. Nach dem Abtropfen wird jeder Katheter in Bouillon gebracht und von dieser Bouillon mit dem Katheterende (wie eine Impfnadel gebraucht) einige Tropfen auf einer Agarplatte verrieben, dann der Katheter in dieselbe Bouillonröhre zurückgebracht. — Nach 7-tägigem Aufenthalt im Brütschrank blieben Bouillon und Agarplatten steril.

Zu diesem Resultate sei bemerkt, daß in einer Kontrolle, wo ich Coli-Bakterien 24 Stunden lang bei 37° an einem Katheter ange-trocknet hatte, der Katheter sich nach dieser Zeit als steril erwies (mehrtägige Beobachtung in Bouillon und davon angelegter Agarplatte), während von einem anderen gleich behandelten Katheter die Coli-Bakterien in der Bouillon, welche den Katheter enthielt, noch auswuchsen (Prüfung der gewachsenen beweglichen Stäbchen durch Abimpfen auf Neutralrottraubenzuckeragar-Gasbildung, Fluoreszenz).

**Feuchte Katheter in Dämpfen aus Trioxymethylen und Wasserdämpfen.**

Von 6 Kathetern wird die Hälfte mit einer 24-stündigen Staphylokokken-Bouillon, die andere Hälfte mit der Bouillonaufschwemmung einer gleich alten Kultur von *Bacillus prodigiosus* auf Agar (stark farbstoffbildend) je 1 Minute durch Eintauchen infiziert und 1 Stunde zum Antrocknen in den Brütschrank gebracht. Danach werden die

Katheter mit Wasser befeuchtet, wieder 1 Minute in dieselben Bouillonröhren getaucht und sofort naß in das gleiche Reagenzrohr wie vorher gebracht, auf dessen Boden sich aber jetzt außer 2 Trioxymethylenpastillen noch etwas Wasser befindet. Daneben werden die Wände des Glasrohres mit Wasser besprengt, so daß sich die Instrumente in einer mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre befinden. — Nach 24, 48 und 72 Stunden wird je ein mit Staphylokokken und mit *Prodigiosus* infizierter Katheter herausgenommen, nach  $\text{NH}_3$ -Abspülung in Bouillon gebracht und damit Agarplatten (wie vorher) geimpft. Die Röhren und Platten der mit *Prodigiosus* infizierten Katheter werden bei Zimmertemperatur, die anderen (wie gewöhnlich) im Brutschrank verwahrt. — Innerhalb 8 Tagen erfolgt weder auf den Platten noch in der Bouillon Wachstum. — Bei diesem Versuche wurde teilweise die Farbe einiger Katheter, da wo sie mit der nassen Reagenzglaswand in Kontakt waren, etwas gebleicht.

3 Katheter werden ca. 1 Minute lang in eine Bouillonaufschwemmung einer stark gefärbten *Prodigiosus*-Agarkultur eingetaucht und 24 Stunden bei Zimmertemperatur getrocknet. Danach werden 2 davon, deren rote Lackschicht Risse und Sprünge zeigt, außen tüchtig abgeseift und unter der Wasserleitung innen und außen gespült, der dritte (schwarz, neues Fabrikat, ungebraucht) wird nur unter der Wasserleitung innen und außen gespült. Dann werden die 3 Instrumente sofort feucht in das große Reagenzrohr gebracht, auf dessen Boden sich eine Trioxymethylenpastille und etwas Wasser, darüber eine ca. 3 cm hohe lockere Watteschicht befindet, darauf eine trockene Trioxymethylenpastille und wieder eine gleich hohe lockere Watteschicht, auf der die Katheter stehen. Das Reagenzrohr ist, wie sonst, fest verschlossen und wird nur beim Herausnehmen der Katheter kurz geöffnet. — Nach 44 Stunden sind die 2 älteren roten Katheter da, wo sie naß waren, ziemlich stark gelblich gefärbt, der dritte neue ist unverändert. — Nach dieser Zeit wird ein Katheter herausgenommen, nach Auswaschen in steriler Ammoniaklösung in Bouillon gebracht und davon mit dem Katheterende einige Tropfen auf einer Agarplatte verrieben. Nach 4 Tagen Zimmertemperatur ist die Agarplatte von einem schwach hellrosa erscheinenden zarten Rasen überwachsen. Abimpfung davon auf Agarstrich ergibt Reinkultur von *Bacillus prodigiosus* (hängender Tropfen, gefärbtes Präparat), der jetzt etwas mehr Farbstoff bildet. Erst eine weitere Abimpfung hiervon auf eine Agarplatte ergibt nach 24 Stunden rote Kolonien. Die Bouillon mit dem zugehörigen Katheter ist nach 3 Wochen (Zimmertemperatur) noch ganz klar.

Nach 68 Stunden wird ein zweiter Katheter herausgenommen und wie vorher Nährmedien angelegt. Nach 5 Tagen ist die mit dem Katheter beimpfte Agarplatte mit zahlreichen zarten Kolonien bewachsen, die auch nach 14 Tagen fast gar keinen Farbstoff gebildet haben. Abimpfung auf Agarstrich ergibt eine rötliche Kultur von *Bacillus prodigiosus* (hängender Tropfen, gefärbtes Präparat). Eine weitere Abimpfung von dieser Agarröhre zeigt nach 2 Tagen farbloses Wachstum, nach 10 Tagen schwache rosa Färbung und eine von dieser letzteren Röhre beimpfte Agarplatte (4. Ueberimpfung), die nach 24 Stunden schwach ausgewachsen ist, bildet nach 3 Tagen geringen Farbstoff (rosa Färbung). Die Bouillon mit Katheter ist noch nach 3 Wochen klar.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Nachweis von Typhusbacillen in den Darm-entleerungen mit Verwendung der neueren Anreicherungs- methoden.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Jena (Direktor:  
Geh. Hofrat Prof. Dr. A. Gärtner).]

Von Oberarzt Dr. Reischauer, kommandiert zum Institute.

Eine unangenehme und undankbare Aufgabe der bakteriologischen Untersuchungsstellen ist die Untersuchung von typhusverdächtigem Stuhlgang. Keine der angegebenen so zahlreichen Methoden hat bisher voll befriedigen können; auch der jetzt wohl allgemein gebräuchliche v. Drigalski-Conradische Nährboden hat trotz seiner unverkennbaren Vorzüge diese Frage nicht endgültig zu lösen vermocht. Wie eine Reihe von Veröffentlichungen beweisen (z. B. Lipschütz, Dönitz, Krause und Stertz, Friedel, Klinger), ergaben im günstigsten Falle 60 Proz. der untersuchten Proben positive Resultate, eine Zahl, die auch mit anderen Hilfsmitteln erreicht wurde [Hayashikawa (20)]; für gewöhnlich waren die Ergebnisse wesentlich ungünstigere. Auch im hiesigen Institut ist es uns in einer ganzen Reihe von ausgesprochenen zum Teil klinisch behandelten Fällen nicht gelungen, die Erreger zu finden. Die Schwierigkeiten, aus den Bakterienmengen des Stuhls die in meist nur geringer Zahl vorhandenen Typhuskeime zu isolieren, sind auch bei Anwendung dieses Verfahrens noch sehr große.

Mit dem von Endo angegebenen Nährboden haben manche Untersucher [Klinger (27), Marschall (34), Petkowitsch (29)] etwas bessere Resultate gehabt, andere wieder weniger gute [Clauditz (35), Herberich (28), Ruata (39)]. Wenn er auch seine Stelle neben dem Drigalski-Agar dauernd zu behaupten scheint, so bedeutet er jedenfalls einen wesentlichen Fortschritt nicht. Noch weniger gilt dies von dem Phenolphthaleinnährboden, welchen Zieleczky (44), Omelianski (45) und Wolff (46) benutzten, und auch eine von Grünbaum und Hume (33) angegebene Methode scheint keine praktische Bedeutung gewonnen zu haben. Letztere empfehlen einen Neutralrot-Milchzuckeragar, welchem nach dem Vorgange von Macconkey (41) zur Hemmung der Saprophyten gallensaure Salze (taurocholsaures Natrium) zugesetzt werden.

Gewinnt auch für die klinischen, fieberhaft verlaufenden Fälle der Nachweis der Typhusbacillen aus dem Venenblut mehr und mehr an Bedeutung, so ist doch das Bedürfnis nach einer bessere Resultate liefernden Anreicherungs-methode für Stuhluntersuchungen bei Rekonvaleszenten und „Typhusträgern“ ein ausgesprochenes und von v. Drigalski (40) selbst anerkanntes.

Man hat sich daher immer wieder bemüht, hier verbessernd einzugreifen, und es sind verschiedene Verfahren zu diesem Zweck ausgearbeitet worden.

Zunächst kommt die von Ficker und Hoffmann (2) angegebene Methode in Betracht. Sie beruht auf der Entdeckung Roths (1), daß das Koffein im stande ist, das Wachstum der Coli-Bacillen zu hemmen, in Lösungen, welche das Bact. typhi nicht schädigen sollen, so daß eine Vermehrung oder Anreicherung der letzteren im Verhältnis zu den ersten stattfinden kann.

Ficker und Hoffmann verwenden eine Lösung, die aus 100 ccm 6-proz. Peptonbouillon (Stammlösung), 105 ccm einer 1,2-proz. Koffeinelösung und 1,4 ccm einer 0,1-proz. Kristallviolettlösung besteht. (Letzteres dient, wie beim Drigalski-Nährboden, zur Zurückhaltung der übrigen Darmbakterien.) Sie wird mit 0,8—0,9 ccm Stuhl beschickt und 13 Stunden im Brutschrank gehalten; dann werden je 0,3, 0,2 und 0,1 ccm entnommen, auf Drigalski-Platten ausgestrichen, und die gewachsenen Kolonien wie üblich mit Typhusserum identifiziert. Die Einzelheiten finden sich in der angegebenen Arbeit übersichtlich zusammengestellt.

Die Versuche, welche ich mit diesem Verfahren angestellt habe, bestätigten mir zunächst die Wirkung des Koffeins auf *Coli*-Bacillen bei Verwendung von Bouillon und Agarkulturen. Sodann bin ich genau der eben beschriebenen Methode gefolgt, habe ebenfalls 20—24-stündige Bouillonkulturen verschiedener Typhusstämmen verwendet und habe die Verdünnungen und Agarzählplatten ähnlich angelegt wie die Voruntersucher.

Versuch I. 0,9 ccm Stuhl mit 1520000 Keimen werden versetzt mit 1900 Typhusbacillen (Typhusbac.: Faecesbakt. = 1:800, Einsaat 7600 Keime pro ccm). Typhus gefunden.

Versuch II. 0,9 ccm Stuhlaufschwemmung mit 5700000 Keimen werden versetzt mit 1900 Typhusbacillen (Typhusbac.: Faecesbakt. = 1:3000, Einsaat 28500 pro ccm). Typhus gefunden.

Versuch III. 0,9 ccm Stuhl mit 10800000 Keimen werden versetzt mit 900 Typhusbacillen (Typhusbac.: Faecesbakt. = 1:12000, Einsaat pro ccm 54000 Keime). Typhus gefunden.

Versuch IV. 0,9 ccm Stuhlaufschwemmung mit 4320000 Keimen werden versetzt mit 180 Typhusbacillen (Typhusbac.: Faecesbakt. = 1:24000, Einsaat pro ccm 21600 Keime). Typhus gefunden.

Versuch V. 0,9 ccm Stuhl mit 3740000 Keimen werden versetzt mit 110 Typhusbacillen (Typhusbac.: Faecesbakt. = 1:34000, Einsaat pro ccm 18700 Keime). Einzelne Typhuskolonien gefunden.

Versuch VI. 9 ccm desselben Stuhles mit  $37\frac{1}{2}$  Mill. Keimen und 1100 Typhusbacillen (Einsaat 187000 Keime pro ccm). Kein Typhus gefunden.

Versuch VII. 10 ccm Stuhl mit 83 Mill. Keimen werden versetzt mit 14000 Typhusbacillen (Typhusbac.: Faecesbakt. = 1:6000, Einsaat pro ccm 415000 Keime). Kein Typhus gefunden.

Diese wenigen Versuche zeigen zunächst, daß es noch gelingt, aus 34000 Keimen einen Typhusbacillus zu isolieren, zeigen aber ferner, daß die Einsaat pro ccm sich innerhalb enger Grenzen halten muß, wenn die Resultate nicht bedeutend schlechtere werden sollen, das Verfahren kann also nur mit geringen Mengen arbeiten. Ein zweiter Mangel ist die Umständlichkeit und Schwierigkeit der Ausführung. Besonders unangenehm ist das Einhalten der Zeit von 13 Stunden, man muß entweder früh morgens, oder spät abends die Platten anlegen. Bei der Empfindlichkeit der Reaktion, des Koffeins und des Kristallvioletts ist Uebung und Genauigkeit im Arbeiten hier noch mehr erforderlich wie beim Drigalski-Nährboden. Die jedesmalige Titration ist sehr zeitraubend, bedingt nennenswerte Verluste an Bouillon und ließe sich dadurch vermeiden, daß man bis zum Phenolphthaleinrotspunkt neutralisierte und  $2,7 \text{ ccm } \frac{n}{1}$  Salzsäure zusetzte. Bei dem wechselnden Säuregrad des Fleischwassers dürften übrigens 38,64 Proz. der zur Neutralisierung nötigen NaOH-Menge doch meistens nicht mit einem Säuregrad übereinstimmen, der

2,7 ccm  $\frac{n}{1}$  NaOH vom Rotpunkt entfernt liegt. Daß ferner von einer eigentlichen Anreicherung, d. h. einer Vermehrung der Bacillen in dem zur Untersuchung gelangenden Material bei diesem Verfahren nicht die Rede sein kann, zeigt folgende Berechnung: Werden 0,8 ccm Stuhl in 206,4 ccm ausgesät, so müssen sich die darin befindlichen Bacillen um das 260fache vermehren, bis in jedem Kubikcentimeter wieder die gleiche Anzahl vorhanden ist, und auf das 370fache, wenn 0,7 ccm zur weiteren Aussaat gelangen. Dies ist aber nicht annähernd der Fall; wie die Tabellen von Ficker und Hoffmann zeigen, war die Vermehrung der Typhusbacillen, welche noch dazu in Reinkultur geimpft wurden, sehr häufig nur eine 10fache oder 50fache, so daß man in 0,7 ccm, die man auf Drigalski-Platten verarbeitet, höchstens  $\frac{1}{7}$  der in 0,8 ccm Stuhl enthaltenen Menge von Typhusbacillen erwarten darf. Der Wert des Verfahrens liegt also zum allergrößten Teil im Zurückdrängen der Faecesbakterien und besonders der Coli-Bacillen.

Aehnlich lauten die Urteile anderer Untersucher. Friedel (3) hatte nicht den Eindruck einer wirklichen Anreicherung der Typhusbacillen, auch er meint, die Koffeinmethode erfordere eine so große Mehrarbeit, daß sie in einem Laboratorium, welches in erster Linie rein praktischen Zwecken dient, in ihrer jetzigen Form kaum anwendbar sei. Kloumann (4) hatte ebenfalls keine günstigen Ergebnisse; er stellte zunächst fest, daß es keine Konzentration des Koffeins gibt, welche gleichzeitig die Coli-Bakterien in wirksamer Weise zu hemmen im stande wäre, und eine Vermehrung der Typhusbakterien gestattete. Ferner fand er, daß die Zahl der Typhuskeime in der Anreicherungslösung nicht zu, sondern sogar abnahm, und daß die direkte Aussaat auf Drigalski-Platten ebenso gute Resultate lieferte.

Auch Herberich (28) muß mit Bedauern konstatieren, daß die Zahl der in Reinkultur in die Anreicherungslösung gebrachten Typhusbakterien nicht zu, sondern abnimmt, in 2 Versuchen fand er nach 13 Stunden etwa nur  $\frac{1}{5}$  der ursprünglichen Menge wieder. Im übrigen lassen seine wenigen und mit starkem Typhuszusatz ausgeführten Versuche keine Schlüsse ziehen. Klinger (27) hatte bei seinen ausgedehnten Versuchen zwar etwas bessere Resultate wie mit dem einfachen Plattenverfahren, doch mißlang ein erheblicher Prozentsatz derselben dadurch völlig, daß Bakterien, die weder durch Koffein noch durch Kristallviolett beeinflusst wurden, alles überwucherten, ein Umstand, der sich auch bei praktischen Stuhluntersuchungen im hiesigen Institut wiederholt geltend machte, und zwar handelt es sich hier, wie auch v. Jaksch und Rau (38) bei ihren Wasseruntersuchungen bestätigen konnten, um *Pyocyanus*- und *Proteus*-Arten. Klinger ist der Ansicht, daß „das Fickersche Anreicherungsverfahren infolge seiner schwierigen und zeitraubenden Handhabung und der trotzdem nicht zu vermeidenden Mißerfolge nur in Ausnahmefällen mitheranzuziehen sei“.

Courmont und Lacomme (23), welche mit einer eigenen Nährflüssigkeit arbeiteten, gelang es überhaupt nicht, damit den Eberthschen Bacillus aus künstlichen und natürlichen Typhusstühlen zu isolieren. Wichtig ist, daß sie unter 11 Typhusstämmen 4 gefunden haben wollen, welche noch empfindlicher gegen Koffein waren, als *Bact. coli*. Daß die Untersucher es hier mit dem Paratyphus A, welcher nach Angabe von Ficker und Hoffmann selbst, ferner von Kloumann (4) dieselbe Eigenschaft hat, zu tun hatten, ist wohl auszuschließen.



Berücksichtigt man die aufgezählten Mängel, so ist es erklärlich, daß trotz der immerhin erheblichen relativen Anreicherung das Verfahren sich in der Praxis nicht eingebürgert hat, und jedenfalls keinen erheblichen Fortschritt gebracht hat.

Ich habe nun versucht, ob sich das Koffein nicht dadurch nutzbar machen ließe, daß man es dem Drigalski-Agar zusetzte, um hier die Coli-Kolonien zurückzuhalten. Damit der Nährboden durch die 1-proz. Koffeinelösung nicht zu sehr verdünnt wird, habe ich ebenso wie Ficker und Hoffmann bei der Wasseruntersuchung, konzentriertere Lösungen mit Wasser von 80° hergestellt, zugesetzt. Eine Schädigung der Koffeinwirkung tritt hierdurch nicht ein, nur dürfen die fertigen Platten und die Lösungen nicht längere Zeit aufbewahrt werden.

Meine zunächst mit Reinkulturen angestellten Versuche ergaben, daß bei Zusatz von 3 Prom. das Typhuswachstum nur wenig gehemmt war, während die Coli-Kolonien stark zurücktraten. Aehnlich lagen die Verhältnisse bei Verwendung von Typhusstuhl. Eine ganze Reihe von anderen Kolonien zeigte jedoch, daß das Koffein durchaus nicht alle Faecesbakterien beeinflußt; in manchen Fällen waren zwar letztere so sehr zurückgedrängt, daß sich Typhus fast in Reinkultur vorfand, häufig aber, besonders bei faulenden und diarrhoischen Stühlen, war die Koffeinwirkung eine mangelhafte. Ferner waren Wachstum und Säurebildung merklich gehemmt, so daß häufig die Kolonien erst am zweiten Tage sich deutlich unterscheiden ließen, auch war die Agglutinierbarkeit der meist völlig unbeweglichen und zu langen Fäden aus gewachsenen Typhusbacillen merklich verringert, wodurch wieder eine Ueberimpfung auf gewöhnlichen Agar nötig wurde.

Diese Mängel veranlaßten mich, vorläufig vom Koffein abzusehen, und einen anderen Gedanken zu verfolgen. Bisher hatte man zur Unterscheidung der Typhus- und Coli-Kolonien meistens den Unterschied in der Säureproduktion beider zu verwerten gesucht, welcher durch die verschiedensten Indikatoren (Lackmus, Fuchsin, Phenolphthalein, Fluorescein, Neutralrot etc.) kenntlich gemacht wird. Ich versuchte nun, durch die vom Coli-Bacillus gebildete Milchsäure aus indifferenten Stoffen bakterizide Stoffe abzuspalten, und so die Coli-Kolonien womöglich im Entstehen zu vernichten. Unter den Salzen der schwachen Säuren, welche durch die Milchsäure zerlegt werden können, schien mir zu diesem Zweck besonders das salicylsäure Natron geeignet zu sein. Die freie Salicylsäure wirkt (nach Filehne) schon in Lösungen von 1—2-promill. kräftig antiseptisch, während ihre Salze diese Wirkung erst bei 1/2—1 Proz. zeigen. Ein Versuch nach dieser Richtung hin schien nicht aussichtslos, zumal im Reagenzglas die Ausfällung der Salicylsäure prompt erfolgt.

Ich habe daher dem Drigalski-Nährboden verschieden starke Lösungen des Salzes zugesetzt, und dann mit Reinkultur von Typhus und Coli geimpft. Das Resultat ergibt folgende Tabelle:

Natr. salicyl.	Coli	Typhus
1/2-prom.	+	++
1 "	am 2. Tage +	++
2 "	—	+
3 "	—	starke Hemmung
4 "	—	—
5 "	—	—

++ gutes Wachstum.  
 + mäßiges Wachstum.  
 — kein Wachstum.

Es zeigte sich also ein zwar nicht großer, aber doch deutlicher Unterschied in der Hemmung, der am deutlichsten bei einem Zusatz von 1 Promill., in einem Kontrollversuch mehr bei 2 Promill. lag. Als ich weiterhin die gewöhnlich mit 2-promill. Natr. salicyl. versetzten Platten mit Typhusstuhl impfte, hatte ich nur teilweise günstige Ergebnisse, manchmal war die gewünschte Hemmung aller Säurebildner erkennbar, häufig war aber fast gar keine Wirkung festzustellen. Auch beim Zusatz zu gewöhnlichem Agar (3 Proz. + 2 Proz. Milchzucker) oder einem nach Art des Barsiekowschen Nährbodens hergestellten Nutrose-Laktose-Agar — letzterer ist frei von Zucker, aus dem auch Typhus Säure bilden könnte — waren meine Erfolge nicht derart, daß sie mich zur Empfehlung dieser Methode hätten ermutigen können. Als Grund für die mangelhafte Wirkung des Natr. salic. möchte ich eine Vermutung von Herberich (28) anführen, der auf Grund seiner Versuche annimmt, daß die Fähigkeit des *Bact. coli*, Milchzucker zu spalten, bei Anwesenheit hemmender Substanzen sehr bald aufhört. Diesen Umstand muß man berücksichtigen, wenn man diesen Gedanken weiter verfolgen will.

Ein weiteres, praktisch bereits erprobtes Mittel, um das Wachstum des *Bact. coli* zu hemmen, haben wir im Malachitgrün, welches zuerst von Löffler (24) mit gutem Erfolg verwendet wurde. Da sich die auf diesem Nährboden gewachsenen Typhuskolonien nur schlecht von anderen unterscheiden ließen, gingen Lentz und Tietz (25) in der Weise vor, daß sie die Oberfläche der Platten mit physiologischer Kochsalzlösung abschwemmten, und eine Oese der so gewonnenen Bakterienemulsion auf Drigalski-Platten brachten, wo sich dann die Kolonien leichter identifizieren ließen. Die beiden Untersucher wollen auf diese Weise bessere Resultate wie mit dem einfachen Drigalski-Verfahren gehabt, und eine erhebliche Anreicherung nicht nur der Typhusbacillen, sondern besonders auch der Paratyphusbacillen erzielt haben. Klinger (27) konnte auf Grund seiner ausgedehnten, an klinischem Material ausgeführten Versuche diese Angaben nur bestätigen, er hält das Verfahren für das beste bisher angegebene und empfiehlt dringend seine Einführung. Auch Sobernheim (26) erwähnt, daß Versuche im Hallenser Institut „äußerst befriedigende Resultate ergaben“. Weniger befriedigt spricht sich Friedel (3) aus, er sagt: „Das Malachitgrünverfahren ermöglicht zwar nach meinen Versuchen eine sehr bedeutende Anreicherung der Paratyphusbacillen gegenüber dem *Bact. coli*, sie gelang mir jedoch nicht in gleicher Weise mit Typhusbacillen.“ Jorns (6) stellte fest, daß das Malachitgrün auch das *Bact. typhi* ganz erheblich schädigt, bei einem der benutzten Präparate (Malachitgrün Ia) wuchs nur  $\frac{1}{4}$  der ausgesäten Typhuskeime zu Kolonien aus, bei dem anderen (Malachitgrün 120) die Hälfte. Dem stand allerdings eine erhebliche Zurückdrängung der Darmbakterien gegenüber, besonders der Säure bildenden, wozu bei der Lentz-Tietzschen Modifikation noch die Hemmung der Alkalibildner auf den Drigalski-Platten hinzukam, so daß immerhin eine beträchtliche Anreicherung erzielt wurde. Bei Untersuchung künstlich infizierter Stühle hatte er positive Resultate bis zu einer Verhältniszahl von Typhus- zu Stuhlkeimen wie 1:8000, bei Kontrollplatten mit Drigalski-Agar dagegen nur wie 1:300, dabei gibt er allerdings selbst zu, daß er von letzteren zu wenig anlegte.

Meine Versuche bestätigten zunächst, daß es bisher nicht gelungen ist, ein einheitliches Präparat herzustellen; das von mir benutzte, durch Grübler bezogene Malachitgrün Höchst I wirkte am besten in einer Verdünnung von 1:4000—5000. Da eine sichere Unterscheidung der

Kolonien nicht möglich war, setzte ich das Grün statt des Violetts dem Drigalski-Nährboden zu, in der Hoffnung, so deutlichere Bilder zu bekommen. Doch trat hier ebenso wie beim Koffein eine Wachstumshemmung ein, und diese verursachte wieder eine mangelhafte Säurebildung. Ich ging daher zum Lentz-Tietzschens Verfahren über, und versuchte zunächst, dieses für die Verwendung von Koffein nutzbar zu machen, indem ich gewöhnlichem Agar 3 Proz. Koffein und Kristallviolett 1:100000 zusetzte. Die mit diesem Nährboden hergestellten Platten beschickte ich mit Typhusstuhl, gleichzeitig aber mit genau gleichen Mengen des Stuhles einer Anzahl Malachitgrünplatten, um so die Wirkung beider Nährböden vergleichen zu können. Zunächst stellte ich die Hemmung für Typhus- und Faecesbakterien fest, indem ich auf gewöhnlichen Agar, Drigalski-, Koffein- und Malachitgrünagar die gleiche Keimzahl brachte. Die folgende Tabelle gibt den Durchschnitt von 10 Platten an.

	Nähragar	Drigalski	Malachitgrün	Koffein
Typhus	500	450	250	350
Faecesbakterien	1400	800	300	450

In beiden Fällen war also die Hemmung beim Koffeinnährboden eine etwas geringere als beim Malachitgrün.

Um über die Grenzen für die Leistungsfähigkeit der einzelnen Methoden ein Urteil zu gewinnen, machte ich, ähnlich wie Jorns (6), 4 Versuche von je 10 Platten, indem ich wechselnden Mengen von Faecesbakterien gleiche Mengen von Typhusbakterien zusetzte. Das Ergebnis war folgendes:

No.	Typhus-Faecesbakterien	Drigalski	Malachitgrün	Koffein
I	1:350	+	+	+
II	1:3500	—	+	+
III	1:7000	—	+	+
IV	1:10 500	—	—	—

Demnach leisten beide Verfahren etwa dasselbe und bedeuten gegenüber dem von Drigalski doch einen erheblichen Fortschritt, allerdings wird die Diagnose um einen Tag verzögert, Arbeit und Nährbodenverbrauch sind vergrößert.

Beide erreichen zwar nicht dieselbe Anreicherung wie das Ficker-Hoffmannsche Verfahren, arbeiten aber sicherer und einfacher. Sie haben den Nachteil, daß sowohl Koffein wie Malachitgrün nicht nur Coli-, sondern auch, obschon viel geringer, die nahe verwandten Typhusbakterien hemmen. Es bestätigt sich also die Ansicht von Jacqué, daß man mit allen auf dem Prinzip der Hemmung beruhenden chemischen Mitteln nicht viel erreichen wird. Es gilt vielmehr Nährmedien zu schaffen, die das Typhuswachstum direkt begünstigen. Daß dies möglich ist, folgt aus den interessanten Befunden v. Drigalskis u. a., die bei Typhusleichen im Duodenum, in der Gallenblase und im Magen Reinkulturen von Typhusbacillen nachweisen konnten; auch bei den sogenannten Typhusträgern verdrängt der Typhusbacillus nicht selten monatelang die anderen Darmbakterien und findet sich im Stuhl fast in Reinkultur vor [Friedel (3)]. Wachstumsbedingungen, wie die hier vorliegenden, zu schaffen, dürfte eine dankbare Aufgabe für weitere Untersuchungen sein.

Betreffs der technischen Ausführung meiner Versuche möchte ich bemerken, daß ich mich mit Vorteil des alten Kochschen Plattenver-

fahrens bedient habe, da man hierbei auch ohne Trocknung der Platten stets isolierte Kolonien erhält, die sonst häufig störende Infektion mit Luftkeimen ist nicht zu fürchten, das ganze Verfahren wird einfacher. Am besten hält man sich in Kölbchen abgemessene Agarmengen vorrätig, ebenso abgewogene Mengen von Koffein und Malachitgrün, die man im Bedarfsfalle dem flüssigen Nährboden zusetzt. Im übrigen vergl. die technischen Bemerkungen von Jorns (6) und Klinger (27).

Allen diesen Plattenverfahren, mögen sie auch noch so gut arbeiten, haftet ebenso wie ich das schon bei der Methode von Ficker und Hoffmann hervorgehoben habe, ein großer Fehler an, bei allen kommt nur eine sehr geringe Menge des Materials zur Untersuchung. Bei Ficker und Hoffmann gelangen 0,8—0,9 ccm zur Verwendung, bei allen Plattenverfahren nicht mehr. Wären die Typhusbacillen im Stuhl gleichmäßig verteilt, so könnte man sich ja damit begnügen, dieselben in einer solchen kleinen Probe mit oder ohne Anreicherung nachzuweisen. Leider ist die Verteilung nicht gleichmäßig, bei geformten Stühlen gar nicht, und auch bei flüssigen gewiß nicht in dem Maße, daß man bei Untersuchung von  $\frac{1}{100}$  der Gesamtmenge oder noch weniger sichere Resultate erwarten dürfte. Größere, stark bacillenhaltige Schleimflocken, die ja die Untersuchung der Cholera, und besonders der Ruhrstühle so sehr erleichtern, oder andere Anhaltspunkte für die Entnahme einer Probe fehlen meistens, so daß es bei allen bisherigen Methoden lediglich dem Zufall überlassen bleibt, ob in dem zur Aussaat gelangenden Material Bacillen enthalten sind oder nicht. Will man exakt untersuchen, so bleibt nichts weiter übrig, als den ganzen Stuhl, oder doch wesentlich größere Mengen wie bisher zu verwenden, eine Tatsache, die auch bereits von verschiedenen Seiten anerkannt und betont worden ist. Die Verhältnisse liegen hier ganz ähnlich wie beim typhusverdächtigen Wasser, bei dem die Notwendigkeit, größere Quantitäten zu verarbeiten, sich noch mehr fühlbar gemacht hat. Hier haben dahinzielende Versuche bereits Erfolg gehabt; es gelingt mit Fällungsmitteln die Bakterien aus dem Wasser niederzureißen, und sie in dem Niederschlag wieder aufzufinden. Solche Fällungsmethoden sind ausgearbeitet worden von Vallet-Schüder (11), von Ficker (10) und von Windelbandt-Altschüler (8). Es lag nahe, die mit diesen Methoden erreichten günstigen Resultate auch für die Stuhluntersuchung dadurch nutzbar zu machen, daß man den Kot in reichlich Wasser aufschwemmte, die jetzt gleichmäßig verteilten Bakterien ausfällte, und den Niederschlag weiter auf Drigalski-Platten verarbeitete. Leider liegen aber die Verhältnisse bei Stuhlaufschwemmungen ganz anders als beim Wasser. Schüder (11) erhielt bei derartigen Versuchen mit seinem Verfahren einen sehr voluminösen Niederschlag, der sich fast gar nicht löste. Auch meine mit dünnen, durch Watte filtrierten Aufschwemmungen angestellten Versuche schlugen gänzlich fehl. Es bildete sich ein sehr starker Niederschlag, der sich auch bei Zusatz größerer Mengen von Natr.-Hyposulfit fast gar nicht löste, so daß am Schluß des Versuches die Quantität des zu untersuchenden Materials größer war als zu Anfang. Ganz ähnlich erging es mir mit dem Verfahren von Ficker; von einer Einengung des Untersuchungsmaterials war keine Rede.

Da Stuhlaufschwemmungen wegen ihrer großen Menge von suspendierten Bestandteilen immer einen voluminösen und schwer löslichen Niederschlag geben müssen, sah ich später von einer Lösung desselben ganz ab, und brachte das ausgefällte Sediment entweder direkt oder meistens nach vorheriger Filtration auf die Platten. Zu diesem Zwecke

brauchte ich ein Fällungsmittel, welches die Bakterien nicht schädigt und ihr Wachstum nicht hemmt. Meine nach dieser Richtung hin angestellten Versuche ergaben, daß sich hierzu besonders Eiweißstoffe eignen, welche sich durch Tannin oder Eisensalze (Ferrisulfat, Liqu. ferri oxychlorati) leicht ausfällen lassen. Schließlich ergab sich, daß man mit Eisenoxychlorid allein Kotaufschwemmungen auszufällen vermag, und zwar in lockeren, sich schnell absetzenden Flocken, die sich gut filtrieren lassen und das Wachstum nicht schädigen. Der so gewonnene Niederschlag ist außerordentlich reich an Keimen, und kann daher nur verdünnt oder in sehr geringer Menge auf den Drigalski-Nährboden gebracht werden. Man kann auf diese Weise den Bacillennachweis führen, irgendwelchen Nutzen konnte ich aber bei dem ganzen Verfahren nicht erkennen. Man bekommt ganz dieselben Bilder auf den Platten, ob man Stuhlaufschwemmung oder in entsprechend geringeren Mengen den Stuhl selbst oder das Sediment verwendet, namentlich ändert sich das hier allein in Frage kommende Verhältnis der Typhus- zu den Kotbakterien in keiner Weise. Derartige Ausfällungen sind nur da angebracht, wo es gilt, aus Flüssigkeiten, z. B. Wasser mit geringerer Keimzahl, die Bakterien zu konzentrieren. Zu diesem Zweck ist denn auch das einfache und praktische Verfahren mit Eisenoxychlorid und die Filtration des Niederschlages bei gleichzeitig im hiesigen Institut angestellten Versuchen mit Vorteil verwendet worden.

Für die äußerst keimreiche Stuhlaufschwemmung eignet sich nur ein elektives Ausfällungsverfahren, mit welchem man die Typhusbakterien von den übrigen trennen kann.

Ein solches ist das bereits erwähnte von Windelbandt und gleichzeitig von Altschüler (4) angegebene sogenannte biologische Verfahren, welches in ähnlicher Weise auch von Schepilewski (7), Hagemann (9) und Adami (17) ausgeführt wurde. Es besteht in Zusatz von Typhusserum zum Wasser, die agglutinierten Bacillen werden durch Sedimentieren oder Zentrifugieren gewonnen und auf Platten ausgesät. Die Erfolge bei Wasseruntersuchungen waren glänzende, wenn man nach den angeführten enormen Zahlen urteilen darf. Dieses Verfahren hat Chantemesse (31) für Faecesuntersuchungen in der Weise modifiziert, daß er etwas Typhusstuhl in 10 ccm Peptonwasser für 6—7 Stunden in den Brutschrank stellte, dann filtrierte und dem Filtrat einige Tropfen Typhusserum zusetzte. Nach  $\frac{1}{4}$  Stunde wurde zentrifugiert, und der Bodensatz direkt oder verdünnt zur Plattenaussaat verwandt. Die auf diese Weise erzielten günstigen Resultate kann ich leider nicht bestätigen; der Bacillennachweis gelang mir nur dann, wenn sich auch auf gleichzeitig angelegten Kontrollplatten Typhuskolonien fanden. Nicht besser war der Erfolg, wenn ich größere Stuhlmengen (bis zu 10 ccm) in 200 bis 500 ccm Peptonwasser aufschwemmte, dann sofort oder nach 7-stündigem Wachstum im Brutschrank filtrierte und wie vorher weiter behandelte. Mit etwas mehr Erfolg haben anscheinend Ficker und Hoffmann und ebenso Klinger die Koffeinanreicherungslösung ausgefällt. Nach Bassenge (32) hat sich das Verfahren für Milchuntersuchungen nicht bewährt, und nach Sobernheim (26) hat es sich auch für den Nachweis von Typhusbacillen im Wasser in der Praxis nicht behaupten können.

Einen gewissen Nutzen hat die Methode jedoch, wenn man die von den oben beschriebenen Anreicherungsplatten gewonnene Bakterienaufschwemmung damit ausfällt. Ich ging dabei so vor, daß ich das höchstens 100 ccm betragende Bakteriengemisch zunächst filtrierte, um et-

waige Agarbröckelchen zu beseitigen, dann in einem Meßcylinder mit hochwertigem Serum im Verhältnis von 1 : 100—500 versetzte, und nach  $\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen leicht zentrifugierte, bis sich eben Bodensatz bildete. Die Flüssigkeit wurde abgegossen, das Sediment mit der Platinöse in etwas Bouillon übertragen, zum Zerteilen der Häufchen mit Glasperlen geschüttelt und schließlich auf Drigalski-Agar ausgesät. Es gelingt zwar nicht, die Typhusbacillen auf diese Weise auch nur annähernd rein zu bekommen, besonders dickere Stäbchen gelangen stets mit in den Bodensatz, doch habe ich fast immer eine größere Anzahl von Typhuskolonien auf den so beschickten Platten feststellen können.

Schließlich habe ich auch die von Ficker und Hoffmann für die Untersuchung von typhusverdächtigen Wässern angegebene Methode auf meine Stuhlaufschwemmungen angewendet, indem ich diesen, genau nach der Vorschrift vorgehend, 1 Proz. Nutrose,  $\frac{1}{2}$  Proz. Koffein und Kristallviolett 1 : 100000 zusetzte. Das Verfahren scheint für Wasseruntersuchungen recht brauchbar zu sein, die guten Resultate der genannten Autoren sind durch v. Jaksch und Rau (38) und Ströszner (37) bestätigt worden. Für Stuhlaufschwemmungen eignet es sich nicht; schon Ficker und Hoffmann hatten hierbei keine Erfolge zu verzeichnen, sie fanden, daß die Faecesbakterien sich beträchtlich vermehrten und empfehlen daher das Verfahren für Kanalwässer nicht. Ich kann dem nur beistimmen, denn meine zahlreichen auch mit dünnen und filtrierten Aufschwemmungen angestellten Versuche hatten nur bei starkem Typhuszusatz (2 Oesen pro Liter) positive Resultate. Genaue Zählungen ergaben regelmäßig eine Abnahme der Typhusbacillen und eine beträchtliche Vermehrung der Darmbakterien, von einer Anreicherung kann also keine Rede sein.

Uebrigens ist es eine altbekannte Tatsache, die vor kurzem von Conrádi (42) erneut bestätigt wurde, daß der Typhusbacillus auch ohne Koffein bei 37° sich den Wasserbakterien gegenüber sehr im Vorteil befindet, und sie schließlich ganz verdrängt, während er, wie Eijkman (43) gezeigt hat, von Coli- und überhaupt Faeceskeimen stark antagonistisch beeinflusst wird, was bei dem *Vibrio cholerae* nicht der Fall ist, worauf die leichte Anreicherung des letzteren mit beruhen dürfte.

Weiterhin lenkte sich meine Aufmerksamkeit noch auf einige andere Methoden, welche die aktive Beweglichkeit der Typhusbacillen für ihren Nachweis auszunutzen suchen, und auf der chemotaktischen Wirkung von Salzen und Nährstoffen beruhen. Nach dieser Richtung hin sind zuerst Pfeffer, dann Ali-Cohen, Pasquale, Gabritschewski u. a. vorgegangen, ferner Hume (36), der seinen Nährboden zu diesem Zweck modifiziert hat, und namentlich Hayashikawa (20) zeigte, daß man auf diese Weise zum Ziel kommen kann.

Er impfte hängende Tropfen von Gelatine von 7 mm Durchmesser in der Mitte mit einem Bakteriengemisch oder Typhusstuhl, ließ auf erwärmtem Objektisch vorsichtig flüssig werden und nach einiger Zeit wieder erstarren; trennte er nun die Ränder des Tropfens ab, so fand sich in der damit geimpften Harngelatine Typhus häufig fast in Reinkultur vor, da die beweglichen Bakterien immer dem nähr- und sauerstoffreichen Rande zustrebten, die unbeweglichen aber in der Mitte liegen blieben. Während sich dieses Verfahren seinem Autor auch bei praktischen Stuhluntersuchungen bewährt haben soll, sind die meisten derartigen Versuche nicht über den Rahmen des Experimentes hinausgelangt.

Bei meinen Versuchen, welche ich namentlich mit Kapillaren anstellte, hatte ich keinen Erfolg. Gelang es auch durch Koffein, die sonst so störenden Coli-Bakterien zurückzuhalten, so ließen sich doch besonders

bei Verwendung eines Glasrohres, welches etwa 50 kapillar auslaufende seitliche Spitzen trug, Diffusionsströme nicht vermeiden.

Eine größere praktische Bedeutung hat das von Cambier (14, 15) angegebene Filterverfahren. Es beruht auf dem Umstande, daß bewegliche Bakterien in geeigneten Nährflüssigkeiten die Filterwände zu durchdringen vermögen, während die unbeweglichen Arten erst später im Filtrat erscheinen, indem sie durch die Poren hindurchwachsen, Verhältnisse, welche von Nordtmeyer, v. Freudenreich, Kübler und besonders von E. Pfuhl (13) und v. Esmarch (12) klargestellt worden sind. Cambier fand, daß durch Chamberland-Kerzen (Marke F) Typhusbacillen in Bouillon bei 37° unter Umständen schon nach 8 Stunden hindurchdrangen. Um die beweglichen Coli-Arten zurückzuhalten, verwendet er eine Nährflüssigkeit, die aus einer 3-proz. Peptonlösung besteht, unter Zusatz von je 12 ccm von 1-proz. Natronlauge und gesättigter Kochsalzlösung zu 100 ccm. Die stark alkalische und salzige Lösung soll die Coli-Bacillen unbeweglich machen, die Typhusbacillen dagegen, wenn auch etwas langsamer, meist in Reinkultur durchtreten lassen.

Nach dieser Methode werden seit 3 Jahren die Paris versorgenden Quellen angeblich mit gutem Erfolg auf Typhusbacillen untersucht, indem zunächst einige Hektoliter Wasser durchfiltriert werden, und dann das Filter mit den anhaftenden Bakterien in die Nährlösung hineingestellt wird, mit der auch der Innenraum des Filters gefüllt ist.

Auch die Ergebnisse von Stuhluntersuchungen waren anscheinend günstige. Wie Bienstock (16) bestätigt, findet sich der Eberthsche Bacillus fast in Reinkultur auf den mit der Nährlösung beschickten Drigalski-Platten vor.

Nach Gèzes (22) scheint das Verfahren für Wasseruntersuchungen nicht ungeeignet zu sein. Rietsch (30) urteilt schon weniger günstig, und für Faeces ist es nach Ansicht aller Nachuntersucher Biffi (18), Lesieur (21), Kirsch (19) und Jacqué (5) nicht geeignet. Bemängelt wird besonders die ungenügende Wirkung der Nährlösung auf das *Bact. coli*, welches häufig eher im Filtrat erschien als der Typhusbacillus und dann alles überwucherte. Es fragte sich nun, ob sich diesem Uebelstande nicht durch Anwendung von Koffein abhelfen und das Verfahren sich auf diese Weise brauchbarer gestalten ließe. Leider waren meine Resultate keine günstigen, ich will daher im folgenden nur kurz darüber berichten.

I. 500 ccm physiologischer Kochsalzlösung werden in einen Glaszylinder gebracht und geimpft mit einer Aufschwemmung von einer Typhus- und 2 Coli-Agarkulturen, dazu  $\frac{1}{4}$  Proz. Koffein. Dann wird eine sterilisierte Chamberland-Kerze mit Bouillon gefüllt hineingesetzt. Nach 18 Stunden bei 37° wird ein Tropfen auf Drigalski-Platte ausgesät. Resultat: Reichlich Typhuskolonien in Reinkultur.

II. 500 ccm wie früher angefertigte Stuhlaufschwemmung,  $\frac{1}{4}$  Proz. Koffein, 2 Oesen Typhuskultur. Nach 18 Stunden Aussaat. Resultat: 3 Arten von Kolonien, etwa  $\frac{2}{3}$  Typhus,  $\frac{1}{3}$  andere bewegliche Stäbchen.

III. Derselbe Versuch. Typhus fast in Reinkultur, Agglutination schon in der Bouillon mikroskopisch und makroskopisch.

Bevor ich die Kerze einsetzte, habe ich das Koffein  $\frac{1}{2}$  Stunde einwirken lassen. Die Filter wurden nach dem Gebrauch  $\frac{1}{2}$  Stunde ausgekocht, dann im Trockenschrank  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 150° gehalten und nach 4—5-maligem Gebrauch ausgeglüht. Bouillon wurde so lange nachgefüllt, bis die Außenfläche des Filters feucht wurde, also alle Poren gefüllt waren; dies erscheint nötig, um die Bakterien anzulocken, das Durchtreten zu erleichtern, und andererseits das Eindringen der Kotflüssigkeit

zu verhindern. Letztere muß im Filter und außerhalb gleich hoch stehen.

Obige Versuche zeigen, daß es in der Tat möglich ist, bei reichlichem Typhuszusatz auf diese Weise zum Ziele zu kommen; verringerte ich denselben, so wurden die Resultate schlechte trotz zahlreicher Modifikationen. Diese bestanden in Erhöhung und Verringerung des Koffeinzusatzes, in Zusatz von Kristallviolett zur Bouillon und zur Aufschwemmung, Füllen der Filter mit Gelatine. Auch mit anderen, z. B. Berkefeld- und Kitasato-Filtern — von letzteren brachte ich bis zu einem Dutzend auf einem kleinen Blechgestell vereinigt in die Aufschwemmung — hatte ich keine besseren Erfolge. Um das, wenn auch nicht sehr erhebliche Sauerstoffbedürfnis des *Bact. typhi* auszunutzen, wurde die Aufschwemmung mit einer dicken Schicht Paraffin. liquid. bedeckt, und in die Bouillon während der ganzen Versuchsdauer ein feiner Sauerstoffstrom geleitet, jedoch ohne sichtlichen Nutzen. Der Hauptgrund für diese Mißerfolge liegt jedenfalls in dem nachteiligen Einfluß, den das Koffein auch gerade auf die Beweglichkeit des *B. typhi* ausübt, welches in  $\frac{1}{4}$ -proz. Koffeinbouillon fast völlig unbeweglich wird und häufig lange Fäden bildet. Der Zeitunterschied zwischen dem Durchdringen und Durchwachsen der Filterwände kann also immer nur ein geringer sein, und die Platten zeigen denn auch deutlich, daß alle möglichen anderen Bakterien gleichzeitig mit dem *B. typhi* im Filtrat erscheinen.

Demnach ist das Cambiersche Verfahren auch mit Verwendung von Koffein nicht zu empfehlen.

Die Ergebnisse meiner Arbeit sind, kurz zusammengefaßt, folgende:

1) Das Ficker-Hoffmannsche Verfahren ermöglicht zwar eine unter Umständen erhebliche Anreicherung, aber nur eine relative, da für gewöhnlich nur eine Hemmung der Stuhlakterien, nicht aber eine Vermehrung der Typhusbacillen stattfindet. Infolge der umständlichen und schwierigen Ausführung und des nicht seltenen Ueberwucherns nicht gehemmter Bakterienarten ist die Verwendung des Verfahrens in der Praxis wenig vorteilhaft.

2) Direkter Zusatz des Koffeins zum Drigalski-Agar erwies sich als nicht zuverlässig genug, ebenso ein mit Natrium salicylicum versetzter Nährboden.

3) Empfehlenswert ist dagegen die Verwendung des Koffeins nach Art der Lentz-Tietzschens Methode. Die Resultate sind ähnlich den mit Malachitgrün erzielten, das Verfahren ist einfacher und sicherer als das Hoffmann-Fickersche, doch läßt die Anreicherung wegen der nicht zu vermeidenden Hemmung des *Bact. typhi* noch zu wünschen übrig.

4) Wo es darauf ankommt, schnell und billig zu arbeiten, wird daher das einfache Verfahren nach v. Drigalski oder Endo weiterhin seinen Platz behaupten, für genauere Untersuchungen dagegen, z. B. bei Rekonvaleszenten, empfiehlt es sich, die neueren Methoden einzuführen.

5) Es gelang nicht, größere Stuhlmengen für die Untersuchung nutzbar zu machen, als dies bei den Plattenversuchen der Fall ist. Alle zu diesem Zweck mit den verschiedenen Fällungsmethoden (nach Schüder und Ficker, mit Eisenoxchlorid und Typhusserum) angestellten Versuche hatten keine günstigen Resultate. Auch das von Ficker und Hoffmann für Wasseruntersuchungen ausgearbeitete Verfahren, sowie die mit Koffein modifizierte Cambiersche Methode erwies sich nicht als brauchbar.

Zum Schluß sage ich Herrn Geheimrat Gärtner für das meinen Arbeiten entgegengebrachte Interesse meinen verbindlichsten Dank.



## Literatur.

- 1) Roth, Versuche über die Einwirkung des Trimethylxanthins auf das Bacterium typhi und coli. (Arch. f. Hyg. 1904. p. 199.)
- 2) Ficker u. Hoffmann, Ueber neue Methoden des Nachweises von Typhusbacillen. (Hyg. Rundsch. 1904. p. 1.) — Weiteres über den Nachweis von Typhusbacillen. (Arch. f. Hyg. 1904. p. 229.)
- 3) Friedel, Typhusuntersuchungen des Laboratoriums der kgl. Regierung zu Koblenz. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1905. Heft 3.)
- 4) Kloumann, Beitrag zur Frage der Wirkung des Koffeins auf Typhus- und Colibakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1904. p. 312.)
- 5) Jacqué, Le procédé de Cambier pour la recherche du bacille typhique. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1904. p. 301.)
- 6) Jorns, Ueber die Brauchbarkeit des Malachitgrün-Nähragars zum Nachweise von Typhusbacillen. (Hyg. Rundsch. 1904. p. 713.)
- 7) Schepilewsky, Ueber den Nachweis der Typhusbakterien im Wasser nach der Methode von Dr. A. W. Windelbandt. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 394.)
- 8) Altschüler, Eine Typhusanreicherungs-methode. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 741.)
- 9) Hagemann, Zum Nachweis von Typhuserregern im Wasser. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 743.)
- 10) Ficker, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im Wasser durch Fällung mit Eisensulfat. (Hyg. Rundsch. 1904. p. 7.)
- 11) Schüder, Zum Nachweis der Typhusbakterien im Wasser. (Zeitschr. f. Hyg. 1903. p. 317.)
- 12) v. Esmarch, Ueber kleinste Bakterien und das Durchwachsen von Filtern. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. p. 561.)
- 13) Pfuhl, E., Ergebnisse einer erneuten Prüfung einiger Kieselgur- und Porzellanfilter auf Keimdichtigkeit. (Festschr. f. Koch. p. 75. Jena 1903.)
- 14) Cambier, Nouvelle contribution à la recherche du bacille typhique. (Compt. rend. T. CXXXIII. No. 26. p. 1226.)
- 15) — —, Méthode de recherche du bacille d'Eberth. (Rev. d'hyg. 1902. p. 64.)
- 16) Bienstock, Die Bekämpfung des Typhus in Paris. (Hyg. Rundsch. 1903. p. 105.)
- 17) Adami and Chopin, On a simple method of isolating from water forms which agglutinate with typhoid serum. (Journ. of med. research. Vol. XI. 1904. p. 469.)
- 18) Biffi, In di un nuovo metodo d'isolamento del bacillo del tifo. (La Riforma med. 1902. No. 3.)
- 19) Kirsch, Ueber Cambiers Verfahren zur Isolierung von Typhusbacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. p. 733.)
- 20) Hayashikawa, Ueber die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis, nebst Bemerkungen über Anreicherungsversuche mittels der aktiven Beweglichkeit der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Heilk. 1903. [Inn. Med.] p. 19.)
- 21) Lesieur, Du procédé de Cambier pour l'isolement du bacille d'Eberth. (Journ. de physiol. et de pathol. générale. T. IV. 1902. p. 672.)
- 22) Gèzes, De la recherche du bacille d'Eberth dans les eaux de boissons. Lyon 1902.
- 23) Courmont et Lacomme, La caféine en bactériologie. (Journ. de physiol. et de pathol. générale. 1904. No. 2.)
- 24) Loeffler, Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 36. (Vereinsbeil.)
- 25) Lentz u. Tietz, Eine Anreicherungs-methode für Typhus- und Paratyphusbacillen. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 49.)
- 26) Sobernheim, Erfahrungen mit den neueren Methoden der bakteriologischen Typhusdiagnose etc. (Dtscher Medizinalbeamtenver. Bericht über die 3. Hauptvers. zu Danzig. p. 104—124.)
- 27) Klinger, Ueber neuere Methoden zum Nachweis des Typhusbacillus in den Darmentleerungen. [Inaug.-Diss.] Straßburg 1904.
- 28) Herberich, Einige Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit moderner Methoden zum Nachweis von Typhusbacillen. [Inaug.-Diss.] Würzburg 1904.
- 29) Petkowitsch, Beitrag zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusbakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1904. p. 304.)
- 30) Rietsch, Sur la séparation du typhique et du coli par la bougie Chamberland (procédé Cambier). (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. No. 23.)
- 31) Chantemesse, Le gélo-diagnostic de la fièvre typhoïde et des eaux typhogènes. (Bull. de l'Acad. de méd. Séance du 20 Mai 1902. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. u. Rev. d'hyg. 1903. p. 1128.)
- 32) Bassenge, Ueber das Verhalten der Typhusbacillen in der Milch und deren Produkten. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. p. 675.)

- 33) Grünbaum and Hume, Note on media for distinguishing *B. coli*, *B. typhosus* and related species. (Brit. med. Journ. Vol. I. 1902. p. 1473.)
- 34) Marschall, Die Bedeutung des Endoschen Nährbodens für die bakteriologische Typhusdiagnose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1905. p. 347.)
- 35) Clauditz, Untersuchungen über die Brauchbarkeit des von Endo empfohlenen Fuchsinagars zur Typhusdiagnose. (Hyg. Rundsch. 1904. p. 718.)
- 36) Hume, Experiments on the detection of *B. typhosus* in infected material. (Thompeon Yates and Johnston Laborat. Report. Vol. V. 1903.)
- 37) Ströszner, Typhusbacillen in dem Wasser eines Hausbrunnens. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1905. p. 22.)
- 38) v. Jaksch u. Rau, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im fließenden Moldauwasser etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 584.)
- 39) Ruata, Das Verfahren von Endo zur Differenzierung des *Bacillus* von Eberth vom *Colibacillus*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1904. p. 576.)
- 40) v. Drigalski, Ueber Ergebnisse bei der Bekämpfung des Typhus nach R. Koch. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 776.)
- 41) Macconkey, Note on a new medium for the growth and differentiation of the *B. coli communis* and *B. typhi abdominalis*. (Lancet. 1900. July.)
- 42) Konrádi, Ueber die Lebensdauer pathogener Bakterien im Wasser. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 203.)
- 43) Eijkman, Ueber thermolabile Stoffwechselprodukte als Ursache der natürlichen Wachstumshemmung der Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 436.)
- 44) Zieleczky, Biochemische und differentialdiagnostische Untersuchungen einiger Bakterien mittels Phenolphthalein. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. No. 10.)
- 45) Omelianski, Beiträge zur Differentialdiagnostik einiger pathogener Bakterienarten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 1.)
- 46) Wolff, Die Differentialdiagnose des Typhusbacillus vom *Bacterium coli* auf Grund der Säurebildung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 645.)

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

### Inhalt.

- Bosc, F. J.**, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). III., p. 36.
- Braun, M.**, Notiz zur Entwicklung der *Taenia tenuicollis* Rud., p. 54.
- Buerger, Leo**, The macroscopic identification of colonies of the pneumococcus, p. 20.
- Bulloch, William and Twort, F. W.**, On the virulence of *Bacillus mallei* obtained from human sources, p. 29.
- De Waele, H. und Sugg, E.**, Experimentelle Untersuchungen über die Kuhpockenlymphe, p. 47.
- Heller, Otto**, Versuche zur Schutzimpfung gegen Cholera mit Choleranukleoproteid, p. 106.
- Helly, Konrad**, Weitere Versuche über Exsudatzellen und deren Beeinflussung durch Bakterien, p. 94.
- Kraus, R. und Pfibram, E.**, Ueber Beziehungen der Immunkörper zur präzipitogenen Substanz des Blutserums (Bakterienagglutinine), p. 72.
- Kroncker, Ernst**, Zur Biologie der Typhus-Coligruppen, p. 14.
- Landsteiner, Karl und Reich, Mathias**, Ueber die Verbindungen der Immunkörper, p. 83.
- v. Löte, Josef**, Ueber ein Symptom der experimentellen Lyssa (das sogenannte prämonitorische Fieber), p. 32.
- Reischauer**, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen in den Darmentleerungen mit Verwendung der neueren Anreicherungsverfahren, p. 116.
- Rosenblath, W.**, Ueber einen eigenartigen Fall von Blutfleckenkrankheit, p. 21.
- Sacharoff, G.**, Ueber Injektionen von Diphtherieantitoxin bei Tieren, welche mit normalem Pferdeserum vorbehandelt waren, p. 99.
- Sittler, Paul**, Die Sterilisation elastischer Katheter. (Forts.), p. 108.
- Sorgente, P.**, Weitere Untersuchungen über den Meningococcus, p. 1.
- Theohari, A. und Babes, A.**, Ueber ein gastrotoxisches Serum, mit einem Studium des Chemismus des Magens und der von diesem Gastrotoxin veranlaßten histologischen Veränderungen. (Forts.), p. 62.
- Turró, E. und Pi y Suñer, A.**, Der Mechanismus der natürlichen Immunität auf physiologischer Grundlage, p. 55.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

3<sup>o</sup> Mémoire.

La variole et son parasite (*Plasmodium variolae*).

Par F. J. Bosc, Professeur à l'Université de Montpellier.

Avec 2 planches et 12 figures.

(Fortsetzung.)

Etant donné que la prolifération se fait à la fois aux dépens des cellules normales périphériques, des cellules basales prismatiques et aussi des cellules malades hypertrophiées qui forment la masse centrale; étant donné, d'autre part, que la vésiculation et l'utriculisation sont d'autant plus rapides que la cellule plus malade arrive plus vite à la dégénérescence, il est certain que la dégénérescence atteindra plus rapidement les cellules centrales nées des cellules malades néoplasées, tandis que les cellules néoformées de la périphérie devront passer par les phases d'hypertrophie sombre, d'hypertrophie demi-claire, d'hypertrophie claire, d'utriculisation ... En outre, à mesure que l'on va de périphérie vers le centre, les cellules basales sont de plus en plus malades, de sorte que les cellules qui proviennent directement de celles-ci sont de plus en plus rapidement transformées en cellules claires.

Ainsi s'explique la forme en éventail constituée par la partie cellulaire claire de la vésico-papule; et comme la vésicule s'agrandit aux dépens de l'utriculisation des cellules claires elle prendra aussi la forme générale d'un éventail, tout au moins à son début (fig. 2).

Le processus d'agrandissement de la vésicule est ralenti par la rencontre de globes épidermiques et de tractus cornés; mais les amas de grandes cellules claires (*hc*, *hc* fig. 3) enfermés entre deux tractus de cellules cornées (*tra* fig. 3) au voisinage de la vésicule, peuvent dégénérer et se vésiculiser avant que le tractus qui les sépare de la grande vésicule soit complètement désagrégé et on aura ainsi des vésicules secondaires qui s'ouvrent bientôt dans la vésicule générale, mais d'une façon irrégulière. Dans les parties superficielles, la vésicule s'agrandit aux dépens des cellules kératinisées, cellules végétales à parois épaisses, cellules soufflées en dégénérescence kérato-hydropique sèches et souvent dépourvues de noyau, enfin cellules lamelleuses des tractus épais de la surface. Ces parties résistantes ne sont détruites que lentement, partiellement et d'une façon très irrégulière de sorte que le bord supérieur de la vésicule est souvent tapissé de cloisonnements irréguliers (fig. 2 et 3) bien vus par Simon dès 1848 et qui forment une sorte de réseau alvéolaire déchiqueté avec des travées plus ou moins volumineuses se désagrégeant progressivement dans la vésicule.

La vésicule se fait donc d'abord aux dépens des cellules épithéliales et la vésiculation est en rapport avec la dégénérescence granulo-aqueuse des grandes cellules, et la dégénérescence primitive vitro-colloïdale plus ou moins étendue; c'est la dégénérescence granulo-aqueuse avec transformation utriculaire qui est le facteur essentiel de la formation de la vésicule et de son accroissement.

Dans cette vésico-papule constituée, les cellules utriculaires qui bordent la cavité renferment le plus souvent plusieurs noyaux et il peut en être de même des grandes cellules claires de la plus grande partie de la prolifération, y compris les cellules jeunes en hypertrophie demi-claire des bourgeonnements épithéliaux profonds (*ndo*, *mul* fig. 2). Il peut exister ainsi 7, 8, 10 noyaux vésiculeux et hydropiques ou aplatis homogènes. On constate encore sur les bords de la grande vésicule ou des petites vésicules secondaires de grands plasmodies multinucléés qui ont l'aspect de „riesenzellen“ (*Unna*) et identiques à ceux que nous avons décrits et figurés dans la vésico-papule vaccinale de la génisse (106). Nous les décrirons tout à l'heure avec plus de précision en étudiant la vésico-pustule).

3) Vésico-pustule. Elle est constituée par la néoformation épithéliale mais également par une prolifération conjonctive arrivée à son développement maximum. La prolifération des cellules conjonctives a complètement dissocié le derme, le tissu cellulaire sous-cutané et les fibres musculaires superficielles, englobant les glandes sudoripares augmentées de volume et remplies de cellules proliférées hypertrophiées et atypiques. C'est cette néoformation de cellules conjonctives qui forme la partie indurée

profonde de la pustule dont le développement devient encore plus considérable que celui de la partie épithéliale et qui possède la même valeur spécifique et présente la même évolution lésionnelle que cette dernière.

La vésicule qui s'était développée dans l'épaisseur de la prolifération épithéliale, s'agrandit excentriquement en éventail et aussi dans la partie profonde de la prolifération et d'abord dans la région centrale de celle-ci où les lésions présentent la marche la plus rapide. Comme la nappe épithéliale néoplasique du centre pénètre irrégulièrement le tissu dermique, la vésicule pénétrera aussi dans ces proliférations profondes puis quand les cellules épithéliales seront détruites, la vésicule s'agrandira aux dépens de la prolifération des cellules conjonctives qui ont subi le même processus d'hypertrophie claire, de plasmolyse et de dégénérescence granulo-aqueuse. La vésicule s'agrandit encore latéralement d'abord dans la prolifération épithéliale à mesure de sa transformation claire puis dans la partie conjonctive sous-jacente. Cette ulcération progressive du chorion infiltré évolue avec une exsudation de lymphes de plus en plus considérable, la diapédèse de mono- et de polynucléaires et c'est l'ensemble de ces lésions qui constitue la vésico-pustule dont l'agrandissement aux dépens des cellules normales périphériques est arrêté (fig. 2 et 3).

a) Partie épithéliale. Elle a atteint son maximum de développement mais la vésiculation en a détruit la plus grande étendue. Toute la nappe centrale à grandes cellules claires est entièrement détruite (*co* fig. 3, *nc* fig. 2); il ne persiste à la surface qu'un toit formé de lamelles et de cellules cornées (*t* fig. 3, *s* fig. 2). La cavité en s'agrandissant vers la périphérie a creusé et détruit presque toute la partie moyenne de la prolifération malpighienne et l'axe des bourgeonnements épithéliaux (*pve*, *vesi* fig. 2) tandis que la destruction de la prolifération conjonctive se poursuit non seulement vers la profondeur mais s'étend à la périphérie et décolle les bourgeonnements épithéliaux (*po*, *po'* fig. 2). Ces derniers, vésiculés dans leur partie centrale et décollés à la périphérie, forment des sortes de moignons plus ou moins volumineux qui sont comme suspendus dans la vésicule, rattachés par un ou plusieurs points à la nappe cellulaire latérale (*bou* fig. 2), ou bien isolés (*bo*, *cd* fig. 3) ou encore comme suspendus à des cloisons alvéolaires kératinisées en relation avec le toit (*la*, *la* fig. 3). Tout à fait à la périphérie il existe des bourgeons épithéliaux qui ne s'accroissent plus de sorte que la transition avec l'épithélium normal est plus brusque; ces bourgeons sont formés par une ligne basale de cellules prismatiques sombres (*b*, *h*, *hot* fig. 2) et par plusieurs couches de cellules petites et sombres parce que la transformation claire hypertrophique des cellules s'est ralentie. A mesure que l'on va vers le milieu de la pustule, ces cellules deviennent plus volumineuses et plus claires, dans la partie moyenne, tandis qu'elles se kératinisent rapidement vers la surface. La partie moyenne à cellules demi-claires (*m*, *h*, *hot* fig. 2) et claires (*o* fig. 2) s'enfonce comme un coin dans la prolifération sombre périphérique; mais en allant vers le centre, elle s'étale vite atteint le tissu conjonctif et se fond dans les restes de la nappe centrale. Cette zone de cellules demi-claires ou claires est traversée par des tractus (*tx*, *txo* fig. 2, *tra*, *trac* fig. 3); elle est formée par des cellules de plus en plus volumineuses et claires qui subissent au voisinage de la vésicule une hypertrophie colossale, présentent une paroi kératinisée, sont désorientées et sont parsemées de sphères, parfois des globes épidermiques. Ces grandes cellules s'utriculisent et forment les cellules végétales (*ve* fig. 2, *veg* fig. 3) à paroi épaisse et homogénéisée, et qui, par désagrégation de cette paroi, s'ouvrent les unes dans les autres et constituent des structures aréolaires qui se détruisent dans la cavité générale (*ves* fig. 2, *la* fig. 3). Cette destruction des cellules utriculaires ne se fait pas d'une façon absolument régulière à la périphérie de la vésicule; l'accroissement de celle-ci peut être ralenti en certains points par la rencontre de tractus kératiques et il se forme en outre des foyers de désintégration cellulaire et des vésicules secondaires (*pve* fig. 2, *ves* fig. 3) qui peuvent s'agrandir et dissocier irrégulièrement une partie de la prolifération épithéliale avant de s'ouvrir dans la pustule proprement dite (*vesi* fig. 2).

Les cellules utriculaires (cellules végétales) irrégulièrement ouvertes dans la cavité de la pustule constituent ainsi des sortes d'anses ou de golfes plus ou moins profonds, larges ou déchiquetés (voir en *ves*, *no* fig. 2), bordés par des amas de noyaux (*no* fig. 2) ou par de vastes plasmodes multinucléés qui ressemblent à d'énormes cellules géantes.

Les cellules utriculaires non encore ouvertes renferment, pour la plupart, des noyaux multiples; ce n'est d'ailleurs pas seulement dans la zone des cellules végétales qu'on observe la multiplication des noyaux mais aussi dans les cellules claires qui bordent les vésicules secondaires (*ndo*, *pve* fig. 2) et parfois dans presque toutes les cellules des bourgeonnements épithéliaux à grandes cellules hypertrophiées (*bou* fig. 2). C'est ainsi que la figure 4 représente un bourgeon épithélial dont les cellules bordantes encore jeunes et demi-claires renferment un gros noyau et parfois deux (*bor* fig. 4), les cellules au dessus en hypertrophie claire plus prononcée contiennent 2, 3 et 4 noyaux (*hy* fig. 4);

à mesure que l'on s'élève, les cellules en hypertrophie claire colossale peuvent renfermer 5, 6 et même 8 noyaux; ces grandes cellules s'utriculisent, les noyaux le groupent ordinairement vers le centre, puis elles s'ouvrent les unes dans les autres et dans la petite vésicule ainsi formée les noyaux demeurent disposés sur le bord en groupes séparés ou bien ils tapissent la paroi (*no* fig. 2) ou bien encore il se constitue un plasmode à noyaux très nombreux. Ce plasmode paraît formé au premier abord par la coalescence du protoplasma de plusieurs cellules multinucléées; en réalité il nous paraît s'agir de l'hypertrophie protoplasmique et nucléaire colossale d'une même cellule épithéliale. On peut affirmer, qu'il ne s'agit pas de l'agglutination de leucocytes dans l'intérieur d'une cavité due à la réunion des cellules utriculisées.

Sur les bords de la cavité ou au voisinage des vésicules secondaires, on observe une ou plusieurs rangées et parfois un amas de cellules ayant subi une dégénérescence vitro-colloïde consécutive à un processus hypertrophique plus ou moins considérable (*collo* fig. 2, *gm*, *r*, *r* fig. 3, *vitr* fig. 4). Ces cellules homogènes, fortement colorées, perdent leurs filaments de passage; leur noyau s'homogénéise et elles forment une masse compacte qui s'arrondit et diminue peu à peu de volume pour disparaître dans le liquide de la pustule (*vitr* fig. 4). Ces lésions montrent que le virus peut posséder une action dégénérative brutale sur des cellules encore jeunes, et cela non seulement au moment où il envahit l'épithélium (nécrose initiale de Weigert) mais encore au stade de papule et de pustule.

L'examen des parties superficielles de la pustule et en particulier du toit montre au dessous des lamelles cornées en élimination à l'extérieur (*lac* fig. 2, *corn* fig. 3), des tractus de cellules aplaties en kératinisation totale (*tr*, *tra*, *trac* fig. 3, *tx*, *tr*, *txo* fig. 2) et entre eux des cellules volumineuses et de structure un peu spéciale à cause de l'adjonction d'un processus actif de kératinisation à une dégénérescence granulo-aqueuse. Les unes sont aplaties avec un centre plus dilaté et clair (*g* fig. 2), d'autres d'aspect globuleux, sont dépourvues de noyau, présentent un protoplasma sec, corné, fortement coloré sur les bords et se dégradant vers un centre clair, ballonné; le sont des cellules cornées soufflées (*r* fig. 2, *r* fig. 3). Au voisinage de la cavité les cellules très volumineuses sont complètement utriculisées par un processus de dégénérescence granuleuse et devenues rondes, globuleuses, elles sont limitées par des parois très épaisses, homogènes, en coalescence avec celles des cellules voisines. Ces cellules rondes sont ordinairement de grand volume, font saillie dans la cavité (*bal* fig. 3), peuvent même se détacher de la paroi pour nager dans le liquide, par petits groupes ou par unités (*bad* fig. 3); elles renferment dans leur cavité des noyaux multiples, parfois au nombre de 6, 8, parfaitement ronds, aplatis, discoïdes, homogènes, hyperchromatiques puis métachromatiques et du volume d'une hématie (*bal* fig. 3, *bad* fig. 3 et fig. 6, pl. I). L'on peut suivre tous les termes de transition entre les grandes cellules claires en hypertrophie colossale, les cellules végétales ou cellules utriculisées à noyaux multiples vésiculeux et ces très grandes cellules globuleuses à noyaux homogènes par dégénérescence colloïdale et à paroi épaisse, homogène et qui correspondent aux cellules en dégénérescence ballonierende, de Unna. Ces grandes cellules globuleuses ne sont autre chose que des cellules utriculisées et qui à cause de leur situation superficielle ont subi dans leur protoplasma bordant et leurs noyaux un processus de dégénérescence kérato-colloïde marqué (*bal* fig. 3).

Les figures 2 et 3 nous donnent une vue d'ensemble de ces lésions cellulaires et de leur disposition: la grande cavité qui a détruit tout l'épithélium central, pénètre dans la partie moyenne de la prolifération (*o* fig. 2, *hc* fig. 3); les cellules les plus périphériques petites et sombres (*d* fig. 2) deviennent volumineuses et demi-claires (*m* fig. 2) puis claires (*o* fig. 2, *cla* fig. 3) et constituent de très grandes cellules multinucléées qui s'utriculisent, prennent l'aspect de cellules végétales (*ve* fig. 2, *veg* fig. 3) qui s'ouvrent dans la grande cavité (*ves* fig. 2). Des vésicules secondaires (*pve* fig. 2, *ves* fig. 3) creusent irrégulièrement les masses de cellules épithéliales néoplasiques tandis que leur partie profonde est décollée du tissu conjonctif sous-jacent en voie de dégénération (*po'*, *po* fig. 2). Le toit formé de lamelles cornées au centre s'épaissit de plus en plus vers ses bords où il présente des cellules cornées soufflées (*r*, *r* fig. 2 et 3) et, au dessous, de grandes cellules globuleuses (*bal* fig. 3).

b) Partie conjonctive. Contrairement à ce qu'ont soutenu la plupart des auteurs la prolifération des cellules conjonctives constitue une partie très importante de la néoformation variolique spécifique. Cette formation conjonctive est constituée par une prolifération des cellules fixes qui infiltrent, dissocient puis remplacent les travées dermiques et pénètre le tissu sous-cutané. Le tissu conjonctif épais et dur du chorion est remplacé par une néoformation purement cellulaire et ces cellules présentent des lésions dont la marche est identique à celle que nous venons d'indiquer pour les cellules épithéliales. Après une hypertrophie de plus en plus grande le protoplasma devient clair, réfringent; la cellule devient colossale, globuleuse et cette grande cel-

lule variolique subit une dégénérescence granulo-aqueuse et finit par se désagréger dans le liquide d'œdème. C'est par ce processus que la cavité vésiculaire après avoir détruit les cellules épithéliales se poursuit, vers la profondeur, aux dépens des grandes cellules conjonctives et cette destruction est le facteur essentiel des cicatrices indélébiles.

Si l'on examine une coupe en allant du centre vers la périphérie on constate que la néoformation conjonctive forme au centre un placard large et profond de jeunes cellules qui pénètre très profondément et englobe les glandes sudoripares; vers la périphérie, la nappe devient moins uniforme et la distribution de la néoformation cellulaire se fait surtout au voisinage des vaisseaux de façon à former des nodules périvasculaires qui sont la lésion initiale (*nod, co fig. 1, na fig. 2*). La grande nappe cellulaire qui est consécutive à la réunion des nodules périvasculaires (*in fig. 2*) est parcourue par de nombreux vaisseaux atteints d'endopérivasculite (*cap fig. 2*) et son volume est encore accru par l'accumulation de lymphes d'abord dans les espaces conjonctifs puis dans les

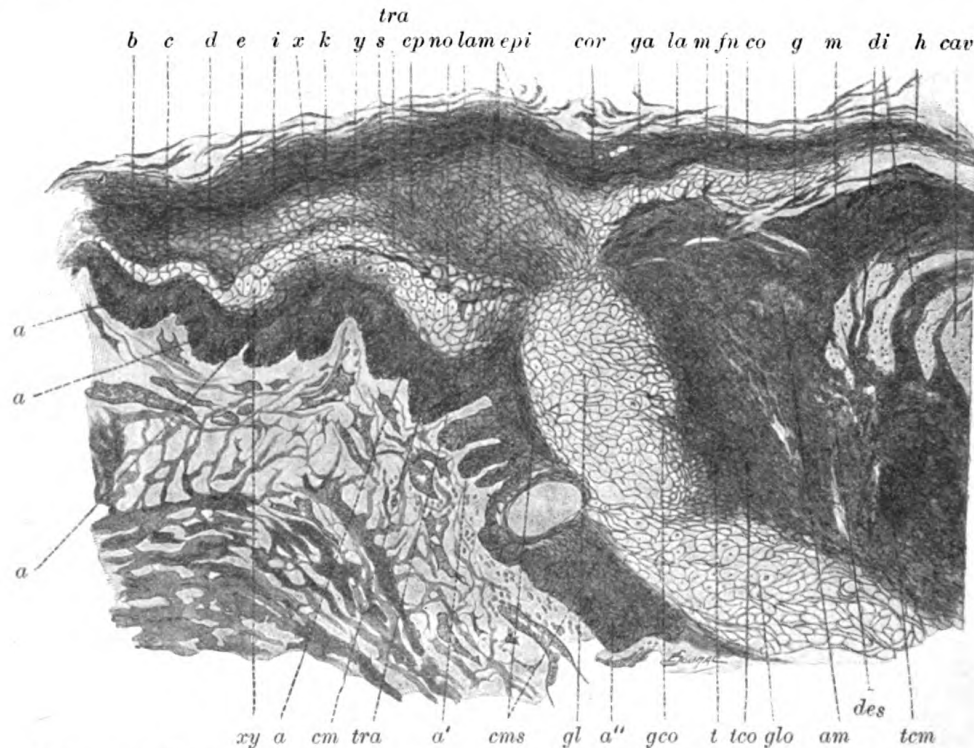


Figure 6. Pustule cornée avortée de la dernière poussée éruptive, au niveau des membres inférieurs.

espaces intercellulaires. Cet œdème va en augmentant puis les cellules hypertrophiées et claires se désagrégeront dans le liquide qui constituera la lymphe variolique.

Les nodules périvasculaires jeunes se développent au niveau d'un capillaire dont les cellules endothéliales proliférées subissent une hypertrophie qui les fait saillir dans la lumière (*va fig. 7, va fig. 8*). Les cellules conjonctives de l'espace périvasculaires normalement peu apparentes et rares ont proliféré, augmenté de volume (*de, de fig. 8, peri fig. 7*); elles forment un manchon de périvasculite ou s'amassent en nodule (*fig. 7 et 8*). Dans les figures 7 et 8 on assiste au début de cette néoformation périvasculaire: les espaces conjonctifs qui entourent le vaisseau se dilatent (*es, es fig. 7 et 8*); leurs cellules de revêtement deviennent saillantes (*de, de, de fig. 8*), émettent de fins prolongements, puis leur protoplasma s'accroît et la cellule séparée de la trame conjonctive à laquelle elle n'est plus réunie que par ses prolongements devient libre dans l'espace lymphatique (*cel, cet fig. 7, de fig. 8*); sous l'influence de la prolifération cellulaire de plus en plus active, les espaces périvasculaires se dilatent, entrent en communication avec les espaces lymphatiques voisins dont les cellules fixes prolifèrent à leur tour en même temps qu'ils sont envahis par la prolifération voisine. Le tissu dermique est ainsi de plus en plus pénétré et dissocié et réduit à une trame

délicate dont les mailles renferment des cellules conjonctives néoformées de plus en plus nombreuses. Dans les figure 7 et 8, la trame conjonctive présente encore quelques travées assez épaisses (*tra* fig. 8, *de* fig. 7), les cellules apparaissent encore aplaties contre la trame (*ce* fig. 7), puis de plus en plus détachées avec des prolongements multiples (*cel*, *cet* fig. 7) elles s'hypertrophient, deviennent globuleuses (*g* fig. 7) avec un protoplasma clair à spongioplasma finement réticulé et à noyau vésiculeux. Ces grandes cellules claires qui se vacuolisent et dont le noyau volumineux peut être lobulé ou bourgeonnant (*g*, *g* fig. 7, *ce*, *ce* fig. 8) sont identiques à celles que j'ai décrites dans la clavelée sous le nom de grandes cellules clavelées (103): elles méritent le nom de grandes cellules conjonctives varioliques. Entre ces cellules et dans le liquide d'œdème on constate des plasmazellen, des mononucléaires de type variable: lymphocytes petits (*ly* fig. 7) ou grands, mononucléaires moyens (*mon* fig. 7) et grands à protoplasma incolore; mastzellen (*mst* fig. 7 et *mas* fig. 8) et quelques myélocytes à granulations basophiles (*mono* fig. 7). A cette période, on ne ren-

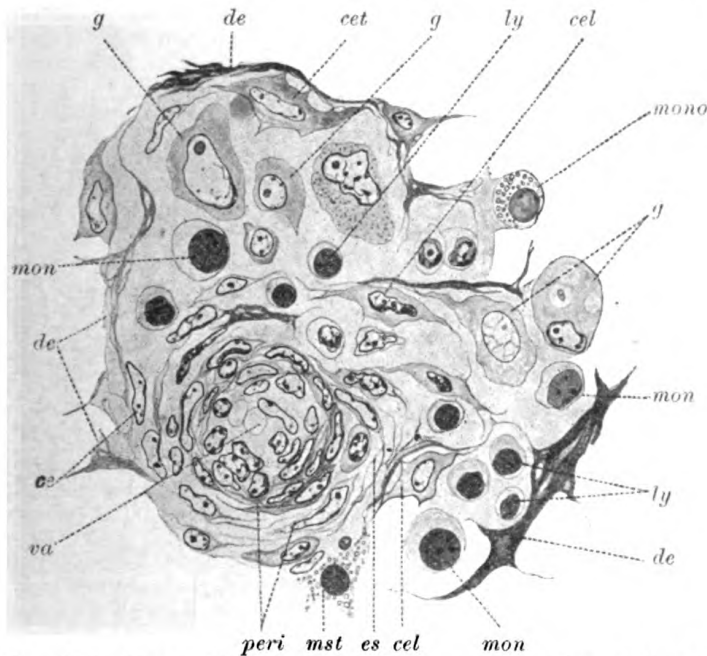


Figure 7. Néoformation conjonctive variolique intradermique. *de* restes des tractus conjonctifs dermiques; *ce* *cel* cellules fixes en voie d'hypertrophie et accolées à la trame; *cet* cellule fixe fortement hypertrophiée; *g* *g* cellules fixes en hypertrophie colossales et libres dans la lymphe; *ly* *ly* lymphocytes; *mon* *mon* mononucléaires moyens; *mono* mononucléaire éosinophile; *vas* vaisseau atteint d'endopérivascularité intense.

contre, pas plus dans la néoformation conjonctive que dans l'épithéliale, aucun leucocyte polynucléaire. Les espaces lymphatiques distendus par la lymphe sont en rapport avec des vaisseaux lymphatiques augmentés de volume, ainsi que Renaud (23) l'avait noté et dont l'endothélium est saillant et proliféré.

La réunion des nodules périvasculaires constitue le grande nappe conjonctive vasculaire entièrement formée par la prolifération cellulaire traversée par des vaisseaux de nouvelle formation (fig. 8). Au fur et à mesure de cette prolifération, la trame conjonctive disparaît, remplacée par les prolongements anastomosés de cellules et par quelques cellules fusiformes ou étoilées. La figure 8 donne une bonne représentation de la néoformation conjonctive arrivée à ce point: elle est parcourue par des capillaires (*va*, *va*) à grandes cellules endothéliales (*vas* fig. 8), entourés par de grosses cellules à noyau volumineux qui se disposent suivant la direction du vaisseau, s'allongent, deviennent fusiformes, sont tassées et unies par des prolongements courts, de façon à former un manchon périvasculaire. Les plus externes se réunissent avec les grandes cellules varioliques par des prolongements longs et grêles. Entre les vaisseaux, les cellules conjonctives anastomosées forment une nappe continue: les unes sont petites, irrégulières, à pointes multiples, à prolongements nombreux (*x*, *x* fig. 8); d'autres deviennent volu-

mineuses, puis colossales (*xa* fig. 8) avec un énorme noyau vésiculeux et elles sont non seulement unies entre elles, mais leurs prolongements les unissent à une très fine trame conjonctive. Dans les mailles limitées ainsi on observe quelques lymphocytes (*ly* fig. 8), des mononucléaires moyens (*mon* fig. 8), et un nombre parfois considérable d'éosinophiles (*eos*, *eos* fig. 8). En *kar* (fig. 8) il existe une volumineuse cellule, en karyokinèse typique. Dans la partie tout à fait centrale de cette prolifération en nappe, c'est-à-dire la plus ancienne, les cellules devenues volumineuses, se gonflent, deviennent globuleuses sur leur plus grande étendue, perdent une partie de leurs prolongements les autres devenant œdématisés et flous dans la lymphe interstitielle. La cellule peut ainsi devenir énorme et subir une transformation utriculaire (*ce*, *ce*, *ce* fig. 8). Dans les parties périphériques de la pustule, à une période avancée, la derme est surtout infiltré par des cellules à type de plasmazellen qui, nées des cellules conjonctives proliférées par division directe mais aussi par mitose, émettent des prolongements et prennent la

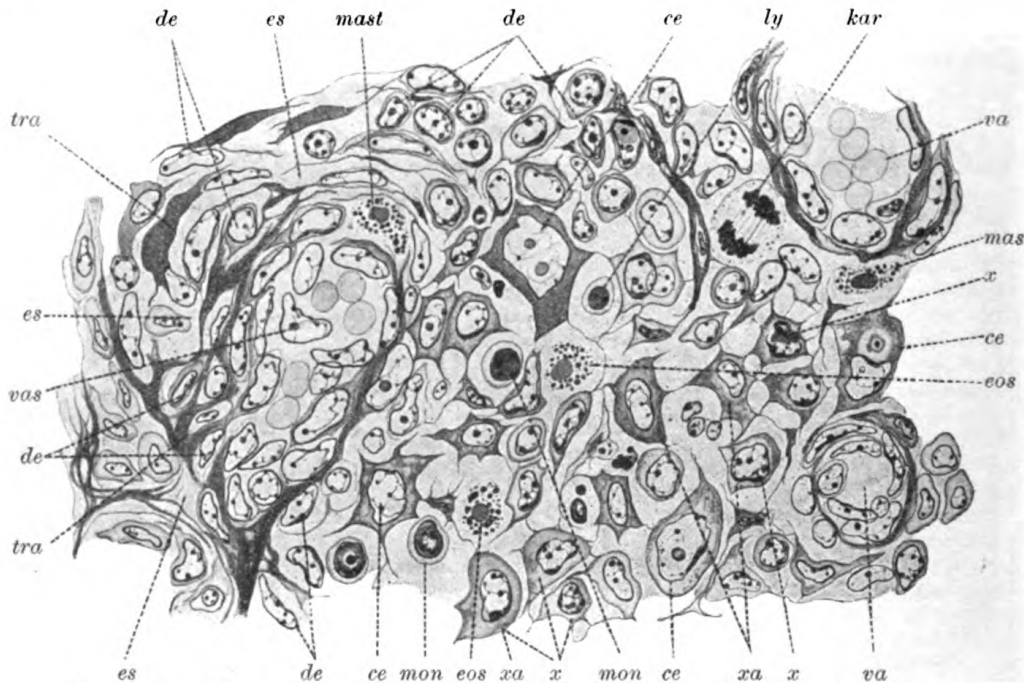


Figure 8. Néof ormation conjonctive variolique en nappe. *va va* vaisseau atteint d'endopérivascularite prononcée, à tendance oblitérante en *vas*; *ce ce ce* grandes cellules conjonctives varioliques; *x x x* cellules conjonctives en hypertrophie progressive et anastomosées par de fins prolongements; *de de* cellules en hypertrophie au début de leur hypertrophie; *mas mas mast* mastzellen; *kar* grande cellule mononucléaire en karyokinèse; *ly* lymphocyte; *mon* mononucléaire moyen.

part la plus importante au processus de cicatrisation. On peut suivre entièrement la formation et l'évolution des plasmazellen: les cellules fixes des espaces conjonctifs s'hypertrophient, deviennent saillantes, mais au lieu de continuer à s'hypertrophier et d'émettre des prolongements, elles se divisent pour former des cellules à protoplasma fortement coloré, dense, à noyau excentrique rayonné; elles deviennent très nombreuses et après avoir augmenté légèrement de volume elles émettent des prolongements, s'allongent, présentent un protoplasma fibrillaire et peuvent se transformer en fibre conjonctive adulte. Unna avait déjà indiqué que les plasmazellen sont surtout abondantes avec la formation de la pustule.

Les grandes cellules claires du centre qui touchent à l'épithélium arrivées au maximum de leur hypertrophie claire et de la vacuolisation, se désagrègent dans le liquide d'œdème et ce processus gagne en profondeur et excentriquement. Il se produit ainsi une ulcération progressive du tissu conjonctif qui participe à l'agrandissement de la vésicule et par un processus identique à celui que nous avons décrit pour la prolifération épithéliale.

Le fond de l'ulcération constitue le plancher de la vésico-pustule; ce plancher qui est recouvert par une couche épaisse de débris granuleux de leucocytes et de cellules



plus ou moins dégénérés, est creusé irrégulièrement et présente des dépressions et des saillies avec des effilochures ordinairement en rapport avec la persistance de petits vaisseaux disséqués et thrombosés dont les parois résistent un peu plus longtemps à la dégénérescence (*vas* fig. 2), ou avec des restes de travées lamelleuses du derme. Audessous de cette zone de nécrose, on retrouve une zone de grandes cellules varioliques, hydropiques en voie de désintégration séparées par des espaces remplis de lymphé et de leucocytes surtout polynucléaires. Ces leucocytes polynucléaires n'existent en très grand nombre que dans cette partie de la prolifération conjonctive en voie de désagrégation; ils n'envahissent la profondeur qu'au fur et à mesure de la transformation des cellules et des progrès de l'ulcération. Dans la prolifération conjonctivo-vasculaire profonde, non encore dégénérée, il existe dans les vaisseaux et dans les espaces intercellulaires surtout des leucocytes mononucléaires mélangés à des polynucléaires, et dans les néoformations périvasculaires les plus périphériques formées surtout de plasmazellen on ne trouve que des mononucléaires moyens et grands et des lymphocytes. L'invasion des polynucléaires correspond à la désintégration des cellules de la néoformation épithéliale ou conjonctive; elle joue un rôle de phagocytose de nettoyage au même titre qu'à cette même période de la clavelée (103). Dans certains cas, les cellules éosinophiles sont très nombreuses de même que les grandes cellules basophiles.

La couche de débris granuleux et de polynucléaires qui recouvre le plancher de la pustule est parcourue par un réseau de fibrine qui peut être très dense, pénètre dans les vaisseaux à parois dégénérées et dans les espaces intercellulaires; parfois il remplit toute la cavité jusqu'au toit.

Les glandes de la peau sont atteintes par le virus. Les glandes sébacées présentent les mêmes lésions que les cellules de l'épiderme: les cellules bordantes et des cils de sac prolifèrent, font retour au type malpighien (*gs* fig. 1) et cette prolifération centrée par les anciennes cellules sébacées montre les lésions d'hypertrophie claire, de désorientation et de dégénérescence granulo-aqueuse ou colloïde. On y constate également des sphérules, des inclusions cellulaires et des cellules multinucléées. Les cellules des follicules pileux prolifèrent aussi, comme l'avu Councilman (92).

Les glandes sudoripares participent au processus de prolifération avec hypertrophie et transformation atypique des cellules toutes les fois que la néoformation conjonctive a pénétré jusque dans le tissu cellulaire sous-cutané. Enfermés dans la nappe des cellules conjonctives de nouvelle formation, les tubes glandulaires apparaissent triplés et quintuplés de volume avec leur cavité dilatée à cellules hypertrophiées, disposées sur plusieurs rangs et parfois remplie par des cellules atypiques, du type néoplasique. Renaut (23) avait déjà noté que lorsque l'infiltration cellulaire envahit les tissus profonds autour des glandes sudoripares, l'épithélium de ces dernières prend, dès le début, les caractères de l'épithélium des glandes en activité.

Les vaisseaux sanguins néoformés, qui forment en somme la charpente de la nappe conjonctive, présentent des lésions très prononcées d'endopérivasculite. Les cellules endothéliales sont hypertrophiées, claires, saillantes, parfois comme pédiculées dans la lumière et elles présentent des mitoses assez fréquentes. Autour des vaisseaux, les cellules néoformées, par prolifération des cellules fixes, s'orientent suivant les parois vasculaires, se rapprochent, s'allongent et forment un manchon plus ou moins épais, mélangées de mononucléaires et de plasmazellen. Ces dernières peuvent, au moment de la pustulation et de la réparation, s'étirer et se transformer en cellules fusiformes qui constitueront une zone de périvasculite de plus en plus dense. Le processus d'endartérite paraît parfois très accusé avec tendance à l'oblitération au niveau des artères plus volumineuses de la profondeur. Les capillaires et les artérioles, au fur et à mesure qu'ils sont atteints par le processus de dégénérescence de la néoformation conjonctive présentent une dégénération de leur paroi et une thrombose fibrineuse avant de se désagréger dans la cavité de la pustule.

Les vaisseaux lymphatiques sont dilatés; ils renferment des cellules endothéliales très saillantes, des mononucléaires de grande taille et des lymphocytes et on voit se développer autour d'eux, comme autour les vaisseaux sanguins, des néoformations conjonctives nodulaires.

Contenu de la vésicule. La vésicule du début formée aux dépens de la prolifération épithéliale renferme un liquide clair presque entièrement dépourvu de cellules et peu coagulable car il ne renferme pas ou peu de leucocytes (mononucléaires). Dans la vésicule arrivée à son grand développement le liquide est devenu opalin et il renferme des mononucléaires, des polynucléaires en faible quantité, des cellules épithéliales dissociées et en particulier des cellules en dégénérescence vitreuse de la nécrose initiale, des débris de cellules en dégénérescence granulo-aqueuse, et des granulations très abondantes et de tout volume. L'on voit, par suite, que la vésicule ne présente

pas les caractères d'une inflammation microbienne banale à polynucléose exclusive. Au stade de pustule, le liquide devient blanc jaunâtre, purulent et il renferme avec de la fibrine, une grande quantité de polynucléaires neutrophiles qui proviennent d'une diapédèse active au niveau des vaisseaux de la partie superficielle de la néoformation conjonctive en voie de désagrégation (plancher purulent de la pustule). Dans le liquide de la pustule on trouve encore des cellules épithéliales ou conjonctives à tous les stades de la dégénérescence, les unes vésiculeuses et claires, d'autres en transformation kérato-colloïde, ou bien globuleuses et à noyaux discoïdes homogènes.

Si on examine des coupes de pustule bien fixées, on voit que dans les pustules non ouvertes les cavités aréolaires qui existent sous le toit et qui sont dues à la destruction partielle des parois des cellules épithéliales kérato-hydropiques, et des tractus ne renferment souvent qu'un liquide clair avec quelques polynucléaires et des débris granuleux. Sur les parties latérales de la pustule et vers la surface, on trouve les grandes cellules utriculaires à parois très fortement kératinisées, devenues globuleuses (ballonierende) avec des noyaux discoïdes (*bal* fig. 3); parfois elles se détachent dans le liquide où elles apparaissent comme des pseudo-kystes (*bad* fig. 3); ou bien elles font partie de petits groupes cellulaires isolés qui peuvent être centrés par un globe épidermique et bordés de ces grandes cellules globuleuses ou de cellules en dégénérescence colloïde totale (*gm* fig. 3). Vers les parties latérales profondes on trouve le réseau irrégulièrement déchiqueté des cellules utriculaires ouvertes, des noyaux disséminés ou en amas des plasmodes multinucléés que nous décrirons plus loin, des cellules colloïdes dissociées et à un étate de réduction variable, des restes de cellules vacuolisées, tous ces éléments enfermés dans un réseau plus ou moins serré de fibrine. Plus on va vers le centre et vers la profondeur et plus le contenu de la pustule contient des polynucléaires, des débris de leucocytes et des granulations. Ces granulations sont de volume très variable et plus ou moins colorées: elles sont formées par les débris des cellules kératinisées ou en dégénérescence colloïde, mais surtout par les débris des noyaux des leucocytes. Ces leucocytes subissent le même processus dégénératif général que les cellules de la prolifération: leur protoplasma devient réfringent, puis se vésiculise tandis que la chromatine dissoute forme un nombre variable de boules puis de grains qui se disséminent dans le leucocyte utriculisé pour être vidés ensuite dans la lymphé, la membrane plissée du globule blanc demeurant encore apparente. Le réseau fibrineux est tantôt à peine apparent, tantôt très serré; il peut être disposé en longs filaments qui tombent du toit en forme d'arcades pour former une couche plus dense au niveau du plancher de la vésicule. Ce réseau peut pénétrer entre les cellules épithéliales dégénérées, dans la cavité ouverte des cellules végétales, dans les grandes cellules globuleuses (ballonierende). Des amas de microcoques existent dans le liquide de la vésico-pustule et dans les parties superficielles ulcérées et nécrosées de la néoformation conjonctive.

#### Pustules à dégénérescence hyalo-fibrinoïde généralisée.

Certaines pustules se présentent avec une altération diphthéroïde généralisée de leurs éléments cellulaires correspondant à une dégénérescence vitro-colloïde qui fige la cellule à un degré plus ou moins avancé d'hypertrophie et qui peut être mélangée à un processus d'utriculisation ou de kératinisation. Suivant en effet que la dégénérescence vitreuse s'exerce d'emblée ou plus tardivement, elle peut être totale ou partielle, mais elle porte sur l'ensemble des cellules. Les cellules épithéliales sont, en général, hypertrophiées; elles ont un protoplasma opaque, vitreux, souvent fendillé, cassé, prenant mal la couleur, avec une métachromatie plus ou moins marquée; les filaments de passage sont allongés, épaissis, homogènes, cassants, souvent brisés. Les filaments se désagrègent peu à peu, les cellules se dissocient, s'arrondissent, forment des masses d'aspect colloïde. Les noyaux subissent une hypertrophie prononcée et ils aboutissent peu à peu à une homogénéisation complète.

Dans certaines pustules les cellules épithéliales ont subi une plasmolyse de leur protoplasma périphérique tandis que la partie centrale présente une transformation colloïde avec condensation des filaments de passage. On a ainsi des figures constituées par un réticulum de fines granulations formées par la substance cimentante et la partie périphérique de la cellule dégénérée et dans ces mailles qui représentent les parois cellulaires on trouve un bloc colloïde qui s'arrondit puis se réduit en granulations. Nous avons étudié longuement un semblable processus au niveau des cellules de la pustule vaccinale de la génisse (106).

#### Pustules à dégénérescence kératique (P. avortées).

Les papules qui surviennent à la fin de l'éruption généralisée et surtout lorsque l'immunisation est rapide, peuvent évoluer avec un minimum de réaction inflammatoire, demeurer petites, dures et présenter, par transparence, une petite vésicule sous une

épaisse couche cornée. L'examen microscopique montre que l'on est en présence d'une pustule qui après avoir évolué comme l'élément éruptif ordinaire a été arrêtée dans cette évolution par l'intervention d'une transformation kératique intense. On constate en effet, sur les bords, une prolifération papillomateuse de l'épithélium à cellules sombres, avec quelques karyokinèses (*a, a, a* fig. 6), mais à mesure que l'on avance vers le centre la prolifération profonde est refoulée par la nappe des grandes cellules claires qui au lieu de s'utriculiser et de s'ouvrir pour former la vésicule sont kératinisées, sèches (*xy, xy* fig. 6), cornées mais complètement claires. Entre ces grandes cellules cornées claires et les cellules profondes encore vivaces il existe 2 à 3 rangées de cellules lamelleuses, qui suivent les ondulations des proliférations épithéliales bourgeonnantes (*b, x, cm, cms* fig. 6). Les grandes cellules claires deviennent globuleuses et peuvent atteindre un grand volume; elles ont un tout petit noyau homogène, hyperchromatique (*xy, no* fig. 6) ou sont dépourvues de noyau (*e* fig. 6) et elles sont parcourues par des travées de cellules aplaties et sombres (*d, ep* fig. 6) qui correspondent aux tractus des vésiculations ordinaires. Vers le centre, la prolifération épithéliale profonde est de plus en plus repoussée et écrasée contre le tissu conjonctif par la masse de plus en plus grande des cellules globulo-cornées (*gl, glo* fig. 6). Au centre, les grandes cellules subissent une dégénérescence colloïdo-cornée qui les rapetisse, les réduit à de petits blocs homogènes (*t, tco* fig. 6); celle-ci se congloèrent en une masse cornée en apparence homogène, fendillée (*m* fig. 6) et qui s'effrite par endroits (*des* fig. 6) entraînant la formation de fentes, puis de cavités irrégulières presque complètement sèches, et dans lesquelles on ne trouve pas de globules blancs.

A la surface, il existe d'abord une couche de cellules lamelleuses (*h* fig. 6), puis, au-dessous, plusieurs couches superposées de cellules claires, soufflées à paroi épaisse (*co* fig. 6), traversées par des tractus de cellules lamelleuses. La figure 6 donne un aspect très exact de ces sortes de pustules; elle nous dispensera d'une plus longue description.

#### Lésions fines des cellules.

Les cellules épithéliales bordantes des proliférations papillomateuses périphériques et celles qui bordent les bourgeonnements voisins du centre n'ont plus la forme prismatique ni la disposition régulière de la couche génératrice normale. Leurs modifications sont dues à leur prolifération active, à l'hypertrophie rapide et inégale des cellules situées immédiatement au-dessus et à leur mélange, même sur la ligne bordante, avec des cellules qui sont arrivées très rapidement à l'hypertrophie claire, qui sont parfois globuleuses et très volumineuses et à de nombreuses karyokinèses désorientées. Les mitoses déjà notées par Guarneri (36, 43, 54) peuvent faire une saillie prononcée ou même présenter une sorte de migration dans la prolifération conjonctive.

Le protoplasma des cellules jeunes est constitué par un spongioplasma serré et par un hyaloplasma granuleux; il est fortement coloré mais devient plus clair autour d'un noyau hypertrophié et riche en chromatine (cellules en hypertrophie sombre). A mesure que l'on s'élève au-dessus de la couche bordante, les cellules augmentent rapidement de volume, deviennent arrondies ou bien irrégulières par compression réciproque; leur protoplasma est encore sombre au voisinage de la membrane mais de plus en plus clair à mesure que l'on s'approche du noyau. Cette partie claire, vue à un fort grossissement et qui paraît distendue la cellule; est formée par un spongioplasma très fin à mailles laches distendues par un hyaloplasma brillant, clair, réfringent; vers la périphérie le spongioplasma devient plus apparent et se continue avec des filaments de passage. Cette structure du spongioplasma a été vue, en partie, par Unna (17, 50) qui montre sa disposition en une charpente filamenteuse. Le noyau est augmenté de volume, globuleux; le réseau de chromatine d'abord serré et épais présente un ou plusieurs points de liquéfaction, puis se fragmente pour se condenser ensuite, dans un suc nucléaire incolore et réfringent, en une ou plusieurs boules renfermant un ou plusieurs nucléoles dilatés. D'après Councilman (92), le début de la lésion cellulaire se ferait par le noyau qui deviendrait gonflé, vésiculeux avec une masse de chromatine volumineuse et réfringente. Nos recherches nous ont montré que le virus produit, à la fois, des modifications du noyau et du protoplasme, la lésion la plus typique se montrant d'abord dans le protoplasma. Le processus nucléaire des cellules atteintes par le virus variolique est d'ailleurs exactement identique à celui que j'ai décrit dans la clavelée (103) et dans la vaccine (106). Nous verrons que le début des lésions est intranucléaire au niveau des cellules dont le noyau contient des inclusions varioliques.

Ces cellules en hypertrophie demi-claire augmentent encore de volume et deviennent complètement claires (*m* fig. 2, fig. 4); leur protoplasma ne se colore plus que tout à fait à leur périphérie, le reste est clair, réfringent, comme saillant et ce hyaloplasma est parcouru par le réticulum filamenteux spongioplasmique de plus en plus fin (*cla*

fig. 4, *a*, *a* fig. 12). Au lieu de se continuer à la périphérie avec les filaments de passage, le spongioplasma vient se confondre avec une membrane cellulaire épaissie, homogène, fortement colorée par l'hématoxyline ferrique et qui a subi en même temps que les filaments de passage raréfiés, une dégénérescence kérato-colloïde (voir fig. 2, 3, 4 et 12). Souvent les filaments de passage et le protoplasma bordant ont subi une coalescence complète et les cellules apparaissent séparées par une membrane fortement colorée et homogène. Le réticulum spongioplasmique est surtout d'une grande délicatesse au voisinage du noyau; en ce point il subit de même que le hyaloplasma, un début de plasmolyse qui aboutit à la formation de l'espace périnucléaire (*x*, *xa* fig. 4). Ce dernier apparaît en effet non comme une cavité mais comme formé par une substance liquéfiée. Le noyau atteint un très grand volume; il est vésiculeux, clair avec une à 2 boules centrales ou appliquées contre la membrane de chromatine dissoute (*x*, *x* fig. 1, pl. I). Ce sont là les grandes cellules en hypertrophie claire totale, avec liquéfaction du protoplasma périnucléaire (*g* fig. 1 pl. I, *a*, *a* fig. 12, *hc* fig. 3, *m*, *m* fig. 5).

Cette plasmolyse centrale progresse excentriquement: le hyaloplasma moins dense et moins réfringent, perd son aspect solide et coagulé, se dissout, transsude hors de la cellule en partie, et laisse apparaître le réticulum spongioplasmique à mailles d'autant plus larges qu'on s'approche du centre. Ces mailles sont détruites par places vers la périphérie, de façon à former de grandes vacuoles. Cette plasmolyse aboutit à la destruction du protoplasma, quelques restes du réticulum demeurant attachés à la membrane cellulaire épaissie et homogénéisée. En même temps que se produisait la transformation claire du protoplasma central, il se faisait, en effet, une dégénérescence kérato-colloïde de la partie bordante du protoplasma et des filaments de passage. Cette partie périphérique condensée, fortement colorée se fond avec celle des cellules voisines pour constituer une coalescence des membranes, ou bien les parois demeurent séparées par un petit intervalle (cellules à double contour).

La cellule ainsi modifiée constitue une cavité utriculaire limitée par une épaisse paroi (*veg* fig. 3 et 4, *g* fig. 1 pl. I) et renfermant quelques effilochures de spongioplasma attachées à la membrane, un liquide à granulations irrégulières et un noyau hydropique. Dans le cas de coalescence des membranes, qui se produit plus rapidement vers la surface, les cellules constituent une sorte de réseau qui ressemble à celui des cellules végétales (fig. 1, 3 et 4), suivant la comparaison de Cornil (18) reprise par Leloir (21). Le noyau a subi la distension hydropique maximum: le bloc de chromatine dissoute s'est étalé, très flou, de moins en moins colorable, le nucléole étant peu apparent et bientôt invisible; puis la membrane très amincie et distendue disparaît peu à peu ou bien se plisse et se ratatine. Ce sont là les grandes cellules en dégénérescence utriculaire.

Les grandes cellules en hypertrophie claire totale et les cellules utriculisées peuvent renfermer des noyaux nombreux, ordinairement amassés au centre. On en compte jusqu'à sept et huit (*hy* fig. 4, *bal* fig. 3, *ndo* fig. 2): ils sont volumineux, en transformation vésiculaire progressive, avec d'énormes nucléoles étalés. Ces cellules épithéliales multinucléées sont exactement semblables à celles que j'ai décrites pour la vaccine où elles peuvent atteindre dans la pustule de la génisse un volume colossal et constituer d'énormes plasmodes (109). On suit très nettement la progression entre les cellules claires multinucléées et les plasmodes à figure de cellule géante. Ceux-ci, qui sont très nombreux dans la vésico-pustule de variole ne sont pas dûs à la fusion de plusieurs cellules. Le début de la multiplication nucléaire commence en effet dans des cellules de prolifération récente, au niveau de la partie bordante des bourgeons épithéliaux du centre (*mul*, *bou* fig. 2); les noyaux deviennent plus nombreux à mesure que la cellule s'hypertrophie (fig. 4). La figure 4 en *ce*, *bor*, *cla*, *hy* et la figure 5 en *s* montrent qu'il s'agit d'une multiplication par bourgeonnement du noyau d'une cellule unique; certaines de ces cellules subissent une hypertrophie colossale; leur protoplasma s'étale, présente des bords ondulés qui lui donnent un aspect amiboïde et lorsque les parois des cellules utriculaires voisines se détruisent, il peut s'étendre dans une large cavité aréolaire formée par la réunion de plusieurs cellules utriculisées. Cette masse plasmodiale peut devenir homogène, fortement colorable et présenter l'aspect de la dégénérescence colloïde. Le noyau vésiculeux énorme à digitations multiples ou les noyaux séparés subissent les mêmes lésions que celles du noyau de la cellule utriculaire, ou bien s'homogénéisent et disparaissent dans la masse colloïdale du protoplasme.

Les cellules utriculaires de la partie superficielle de la pustule présentent une transformation kérato-colloïde plus intense de leur périphérie et la coalescence des membranes homogénéisées est plus prononcée que partout ailleurs, tandis que la dégénérescence granulo-aqueuse donne naissance à une large cavité. Cette cellule à parois très épaisses s'arrondit et quand elle vient au contact de la cavité vésiculaire elle devient complètement globuleuse, en forme de ballon. En même temps

que la périphérie subissait une transformation colloïdo-cornée, les noyaux multiples au lieu de subir la transformation vésiculeuse, s'homogénéisaient, diminuaient de volume, prenaient fortement les couleurs, pour présenter plus tard des réactions métachromatiques et avaient en définitive l'apparence de petites masses discoïdes plates du diamètre d'une hématie (*n* fig. 6 pl. I). Parfois une partie du protoplasma au lieu de subir une plasmolyse rapide présentait une dégénérescence colloïde ou hyaline, de sorte qu'on peut constater dans la cavité cellulaire des blocs homogènes plus ou moins volumineux.

Ce sont là les grandes cellules utriculaires globuleuses (kystiformes) à noyaux discoïdes qui peuvent s'isoler dans le liquide de la pustule (*bad* fig. 3) et présenter, grâce à leur forme globuleuse, à l'épaisseur de leur paroi, à la présence de masses égales, arrondies, nombreuses constituées par les noyaux dégénérés, l'aspect d'un kyste sporulé (pseudo-kystes). Ces lésions correspondent à la dégénérescence „ballonartige“ de Unna et de Buri.

L'association dans une même cellule de la transformation colloïdale et de la dégénérescence granulo-aqueuse entraîne un aspect spécial d'une partie de la pustule: la dégénérescence aqueuse peut s'exercer à la périphérie et la transformation colloïde au centre: il en résulte la formation d'une sorte de réticulum à larges mailles, granuleux, dû à la dégénérescence granuleuse des filaments de passage et du bord cellulaire, renfermant des masses colloïdales arrondies, de volume variable (*gn* fig. 4). J'ai longuement décrit un processus semblable dans mon mémoire sur la vaccine (106) auquel je renvoie. Ces masses se détruisent peu à peu dans la cavité vésiculaire et le réticulum est assez fin pour qu'on puisse le prendre pour des filaments de fibrine plus ou moins dégénérée.

Les grandes cellules claires et utriculaires par leur hypertrophie énorme et très inégale se compriment, se désorientent et aboutissent à la formation de sphérules et de globes épidermiques. Les cellules intermédiaires aux groupes des cellules claires en hypertrophie colossale sont plus ou moins comprimées, se disposent en bulbe d'oignon tandis que leur diminution de nutrition entraîne une transformation cornée plus rapide avec vésiculation de leur partie centrale ou bien totale. J'ai insisté longuement sur les phénomènes dans mes mémoires sur la clavelée (103) et la vaccine (106) et ils sont identiques à ceux qui se produisent avec une intensité encore plus grande dans l'épithélioma malpighien. Les cellules centrales du globe peuvent subir une dégénérescence colloïde et la figure 5 nous montre des lésions sphérulaires typiques avec dégénérescence colloïdo-cornée (*col*, *collo* fig. 5), avec de grandes cellules claires déprimées, des cellules en croissant plus ou moins kératinisées (*cro* fig. 5); la dégénérescence colloïde peut envahir le noyau unique (*sp*, *m* fig. 5) ou multiple (*noy* fig. 5) dans une grande cellule claire. L'on peut observer aussi des invaginations et des inclusions de cellules épithéliales au même titre que dans le cancer.

Nous avons déjà insisté beaucoup sur la dégénérescence vitreuse ou vitro-colloïde des cellules qui est bien due à l'action du virus variolique et qui peut constituer la lésion initiale de la papule limitée aux cellules les premières atteintes (*dip* fig. 1) ou bien qui peut atteindre successivement toutes les cellules d'une papule ou d'une vésico-papule, ou bien apparaître par places, à diverses périodes de l'évolution de l'élément éruptif (fig. 3, 4, 5). Quand une dégénérescence intense saisit les cellules déjà hypertrophiées les filaments spongioplasmiques intracellulaires et les filaments de passage apparaissent figés homogènes, avec des cassures irrégulières; il s'agit là d'une dégénérescence vitreuse proprement dite (fig. 4). Dans d'autres cas, les cellules atteintes sont homogènes, mais fortement colorées avec disparition du réseau spongioplasmique et elles forment un bloc épais qui tend à s'arrondir de plus en plus: c'est la dégénérescence colloïde ou vitro-colloïde très fréquente, et qui est générale ou partielle, atteignant, dans le dernier cas, tantôt la membrane et la périphérie du protoplasme, tantôt le centre de la cellule. Plus on va vers la surface de la pustule et plus la transformation kératique devient prononcée et se mélange à la dégénérescence colloïde ou aqueuse pour donner naissance à des lésions kérato-colloïdes ou kérato-hydropiques. La dégénérescence kérato-colloïde a son expression la plus nette dans les grandes cellules utriculaires kystiformes que nous avons déjà étudiées (ballonierende de Unna). La transformation kérato-hydropique aboutit à la formation des cellules cornées soufflées: des cellules en hypertrophie claire en forme de fuseau qui évoluent dans les couches superficielles sont saisies par une kératinisation qui les durcit dans leur partie périphérique et surtout dans leurs extrémités allongées qui deviennent cornées et sombres tandis que le centre est globuleux, clair, mais sec et comme soufflé, ou ne renferme que très peu de liquide. La kératinisation progresse, le noyau est réduit à un point puis disparaît, la paroi devient plus épaisse (fig. 2, *r*): ces cellules constituent alors réellement les cellules soufflées qui se tassent et constitueront les assises cellulaires du toit de la vésicule les plus résistantes à la dégénération. Ce processus qui aboutit aux grandes cellules soufflées atteint son maximum d'intensité au niveau des

petites pustules cornées avortées que nous avons décrites: toutes les cellules après être arrivées aux stades d'hypertrophie demi-claire et d'hypertrophie claire colossale sont fixées sous forme de sacs rigides et desséchés par une kératinisation intense (fig. 6).

Pour Ranvier, l'éléidine a complètement disparu de la partie centrale de la pustule et les cellules du stratum cornéum ne subiraient pas de kératinisation. D'après Borrel, il y aurait au contraire dans les couches superficielles, production d'une grande quantité de grains d'éléidine. Nos recherches nous ont montré que le processus de kératinisation est extrêmement actif; l'éléidine est abondante, à la surface sous forme de granulations irrégulières dispersées dans le protoplasma cellulaire au même titre que dans la clavelée et la vaccine.

On trouve donc dans la pustule variolique des processus de dégénérescence variés: granulo-aqueuse, vitreuse, colloïde, kératique qui peuvent s'exercer d'une façon isolée, mais qui le plus souvent se combinent de façon à donner aux lésions cellulaires une physiologie tout à fait spéciale. On obtient ainsi ces types de lésions que nous avons caractérisés, sous les noms de: hypertrophie sombre, hypertrophie demi-claire, hypertrophie claire colossale, transformation utriculaire, cellules utriculaires globuleuses kystiformes à noyaux discoïdes (dégénérescence ballonierende), cellules soufflées (dégénérescence kératique ou kérato-hydropique), cellules en dégénérescence vitreuse, vitro-colloïde; cellules à dégénérescence aqueuse périphérique et colloïde centrale ... etc.

Nous avons suffisamment indiqué les fines lésions des cellules conjonctives qui subissent les mêmes stades d'hypertrophie claire, de plasmolyse, de dégénérescence utriculaire que les lésions épithéliales. Ce sont les mêmes phénomènes de formation d'un hyaloplasma très réfringent dans un réticulum ténu de spongioplasma, la même fonte du hyaloplasma, la même distension vésiculeuse du noyau. Gonflés dans le liquide d'œdème, les prolongements de ces cellules deviennent volumineux, étalés, de moins en moins visibles et disparaissent. Nous avons indiqué également des lésions semblables des cellules endothéliales et leurs divisions mitotiques.

De l'ombilication. A propos de la pustule vaccinale (106) j'ai étudié longuement le mécanisme de l'ombilication qui serait dû à la dépression du centre du toit par amincissement progressif de ce dernier, de sa partie centrale vers les bords dont les couches de plus en plus nombreuses de cellules cornées soufflées jouent le rôle d'une lame élastique. A mesure que la partie centrale se désagrège, elle s'effondre, le reste continuant à former dôme de par la résistance des bords; l'ombilication devient de plus en plus apparente jusqu'au moment où les couches lamelleuses de la partie effondrée se désagrègent et laissent suinter de la lymphe qui forme croûte.

Les tractus filamenteux qui vont du toit au plancher de la pustule, déjà vus en 1848, par Simon, sont impuissants à retenir le centre du toit dont le reste serait distendu par le liquide, car les filaments sont constitués par de la fibrine non résistante ou de restes du réseau fragile formé par la dégénérescence cellulaire. On ne peut pas admettre davantage l'intervention d'une glande sudoripare; Rindfleisch qui avait émis cette hypothèse fait intervenir surtout la destruction du chorion au centre de la pustule. Une expérience d'Auspitz et Basch montre d'ailleurs nettement que l'ombilication n'est pas due à des adhérences entre le toit et le plancher car l'injection de liquide dans les pustules ombiliquées fait disparaître l'ombilication. Elle aurait dû au contraire exagérer cette dernière.

Cornil (18, 24) fait intervenir la dessiccation „qui entraîne une dépression de l'épiderme au centre alors que la périphérie est encore solide“. Mais la dessiccation est insuffisante car l'ombilication apparaît avant toute dessiccation. Renaut, Forster expliquent la dépression centrale par la prolifération marquée de la périphérie alors que le centre se vacuolise. D'après Unna (17, 50) l'ombilication serait due à la dégénérescence réticulée et à l'œdème plus prononcé à la périphérie de la pustule; sous la pression de l'œdème périphérique les papilles disparaissent tandis qu'au centre elles sont non seulement préservées mais œdémateuses et se projettent dans la vésicule. Weigert (13, 16) a attribué l'ombilication à la dégénérescence diphthéroïde des cellules du centre de la papule qui empêche la distension de cette partie centrale par l'exsudat, tandis que vers les bords, la dégénérescence aqueuse des cellules permet l'accumulation de lymphe.

Nous avons montré que dans la pustule variolique le centre du plancher dermique est le plus profondément ulcéré, ce qui va contre l'hypothèse de Unna, et que la dégénérescence diphthéroïde n'est pas un obstacle à la vésiculation centrale mais la favorise de sorte que nous ne pourrions pas admettre l'interprétation de Weigert.

Nous admettrons donc que l'ombilication est due à l'amincissement progressif du toit du centre vers les bords épais et résistants; le centre de plus en plus aminci finit par s'affaisser en un point d'abord très limité puis plus étendu tandis que les parties

périphériques résistent comme un ressort élastique jusqu'au moment où la désagrégation du centre permet le suintement de la lymphe. Il faut en outre qu'il n'y ait par une tension trop forte du liquide de la vésicule sans quoi la pustule bombe comme une bulle de pemphigus. C'est à la grande quantité de liquide qu'il faut attribuer l'absence d'ombilication des grosses pustules arrondies susceptibles de prendre le volume d'un petit pois.

#### Elimination, cicatrisation.

La période ultime de l'évolution de la pustule variolique est identique à celle de la clavelée et de la vaccine: elle est caractérisée par l'élimination totale de la néoformation. La pustule de variole s'élimine en totalité.

A partir du 7<sup>o</sup> jour après leur début, les éléments éruptifs pustuleux ne s'accroissent plus, la zone indurée périphérique se ramollit et c'est à ce moment que la prolifération conjonctive formée de grandes cellules varioliques subit une dégénérescence granuleuse dans la lymphe interstitielle très abondante. La cavité pustuleuse s'agrandit donc aux dépens de la néoformation conjonctive tandis que les polynucléaires apparaissent et deviennent de plus en plus abondants à mesure que la dégénération des proliférations épithéliale et conjonctive s'accroît. Les capillaires subissent des thromboses avec dégénérescence rapide de leurs parois. Quand la destruction nécrotique a atteint les parties les plus profondes des néoformations qui pénètrent comme des coins dans le derme lamelleux ou le tissu cellulaire sous-cutané, il en résulte des anfractuosités remplies de granulations, de cellules et de leucocytes dégénérés, de fibrine et d'amas microbiens.

La réparation ne se fait pas par des bourgeons charnus qui comblent l'ulcération progressivement de bas en haut, comme dans les inflammations ordinaires; dans la variole, comme dans la clavelée et la vaccine, l'ulcération profonde laissée par l'élimination de la néoformation cellulaire n'est pas comblée. Les plasmazellen que nous avons vues exister en très grand nombre dans les parties périphériques se transforment en cellules allongées et en fibres conjonctives dures qui forment un tissu de cicatrice qui suit les anfractuosités de l'ulcération laissée par l'élimination de la pustule. Il est à remarquer d'ailleurs que toutes les lésions de néoformation de type néoplasique qui s'éliminent par dégénérescence et qui présentent des infiltrations intenses de plasmazellen ne présentent pas de cicatrisation par bourgeonnement mais par formation fibreuse au niveau des limites de l'élimination. Il en est ainsi dans les maladies bryocytiques, dans certaines formes de tuberculose, dans l'actinomycose et dans un certain nombre de processus chroniques.

Dans les varioles bénignes l'éruption disparaît sans laisser de traces: la croûte tombée on aperçoit une saillie rougeâtre, squammeuse qui s'efface peu à peu en perdant sa coloration. Dans ces cas, la vésiculation a été seulement intraépithéliale; le tissu dermique congestionné avec infiltration modérée de plasmazellen fait une saillie qui diminue à mesure que ces derniers cellules font retour du type fibreux. Lorsqu'il s'agit de ces petites pustules cornées que nous avons décrites il ne peut pas y avoir non plus de cicatrice: les éléments malpighiens proliférés, kératinisés et comprimés sur le derme mettront longtemps à s'exfolier laissant enfin une surface cutanée normale.

(Forts. folgt.)

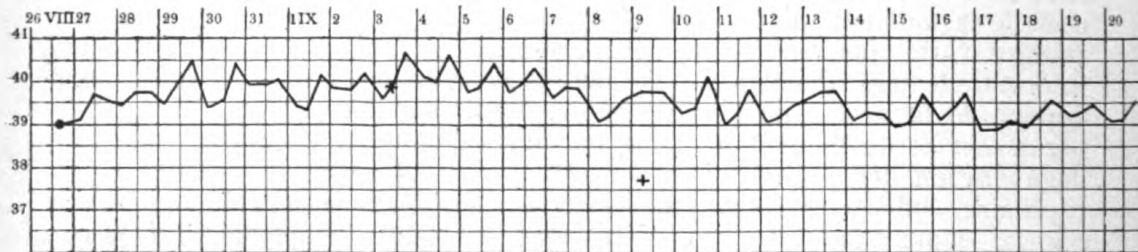
*Nachdruck verboten.***Experimentelle Untersuchungen über die Kuhpockenlymphe.**

[Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik der Universität zu Gent und des Laboratoriums des „Hôpital Civil“.]

Von **H. De Waele** und **E. Sugg.**

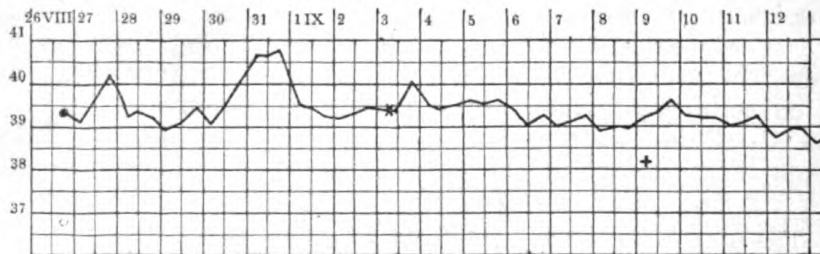
Mit 18 Kurven.

(Schluß.)

**A. Die filtrierte Oedemflüssigkeit.****I. Kalb 43, Serie B.**

26. Aug. 1904. Subkutane Injektion (in die Flanke) der Oedemflüssigkeit des Kalbes 39, Serie B., welche um die Hälfte mit physiologischer Flüssigkeit verdünnt ist und durch das große Chamberland-Filter filtriert ist.

Am 3. Sept., d. h. nach 8 Tagen, wurde das Tier mit Brüssler und Schweizer Lymphe geimpft. Man beobachtete nur eine unscheinbare Eruption am 7. Tage, sie bestätigte sich als charakteristisch, aber immerhin leicht am 8. Tage und zeigte eine verkürzte Evolution.

**II. Kalb 44, Serie B**

26. Aug. 1904. Subkutane Injektion von 150 ccm Oedemflüssigkeit des Kalbes 37, Serie B, um die Hälfte verdünnt mit Wasser und durch das kleine Modell des Chamberland-Filter filtriert.

Am 3. Sept., also nach 8 Tagen, wird das Tier mit Brüsseler und Schweizer Lymphe geimpft. Auch hier tritt der Erfolg verzögert und in geringem Grade auf.

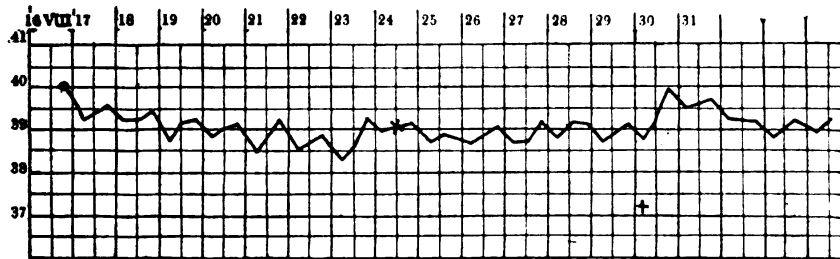
**III. Kalb 40, Serie B.**

16. Aug. 1904. Subkutane Injektion von 180 ccm Oedemflüssigkeit des Kalbes 39, Serie B, um die Hälfte mit Wasser verdünnt, und mit dem großen Chamberland-Filter F filtriert.



Am 24. Aug., also nach 8 Tagen, wird das Tier mit Brüsseler Lymphe geimpft. Die Eruption erfolgt verzögert und gering.

IV. Kalb 41, Serie B.



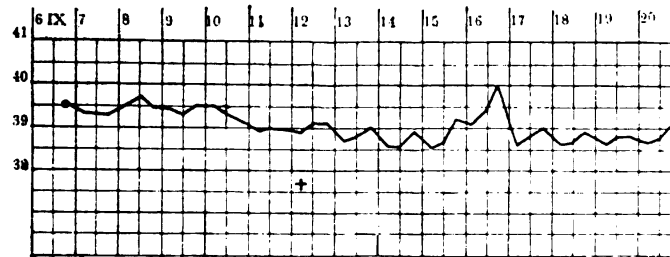
Am 16. Aug. 1904. Subkutane Injektion von 40 ccm Oedemflüssigkeit des Kalbes 39, Serie B., um die Hälfte mit Wasser verdünnt und durch das gewöhnliche Berkefeld-Filter filtriert.

Am 24. Aug. 1904, also nach 8 Tagen, wird das Tier mit Brüsseler Lymphe geimpft. Die Eruption erfolgt verzögert und gering.

B. Oedemflüssigkeit, auf Eis aufbewahrt, mit einem Zusatz von Thymol.

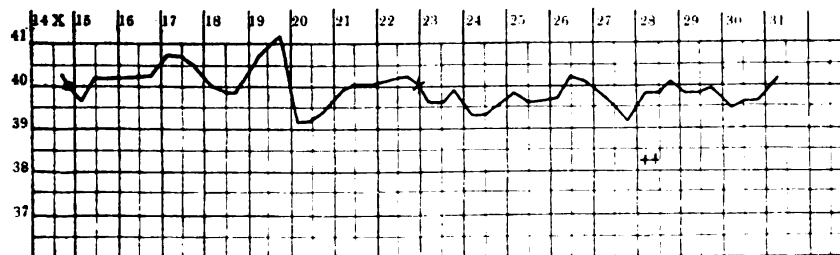
Die am 13. Aug. 1904 entnommene Flüssigkeit wird am 16. Sept. durch das Plattenverfahren geprüft und ergibt nur wenige Kolonien eines Bacillus und eines Diplokokken.

V. Kalb 45, Serie B.



Einimpfung in die Haut eines Rindes am 16. Sept. ruft am 5. Tage drei geringe Bläschen hervor.

VI. Kalb 47, Serie B.



Ein neuer Versuch derselben Art wird am 7. Okt. 1904 wiederholt und bleibt negativ.

Die Flüssigkeit wurde dann am 14. Okt. in einer Quantität von 50 ccm subkutan dem Kalbe 48, Serie B, injiziert.

Ohne weitere lokale Erscheinungen, als geringe Anschwellung, die nach 4 bis 5 Tagen verschwindet, beobachtet man am 3. und besonders am 5. Tage nach der Injektion eine Temperatursteigerung.

Die Kontrollimpfung wurde am 22. Okt., also 8 Tage nach der Injektion, ausgeführt. Die Erscheinungen sind auch hier verzögert und schnell vorübergehend.

Wir wissen nun aber aus zahlreichen, in der Literatur niedergelegten Versuchen, z. B. von Beclère, Chambon und Ménard, daß bei Tieren vom 7. bis zum 12. Tage während eines immunisierenden Vorganges eine abgekürzte späte Entwicklung der Vaccine beobachtet wird.

Die Bemerkung von von Pirquet, nach welcher eine Revaccination nur eine sehr geringe und frühzeitige Wirkung hervorruft, bezieht sich besonders auf Beobachtungen am Menschen, und zwar für den Fall, daß die Immunität schon vollständig erreicht ist.

#### H. Der Inhalt der Säckchen.

Kurz nachdem Nocard und Roux das Mikrobium der Rinderperipneumonie mittelst der in die Bauchhöhle von Kaninchen gebrachten Kollodiumsäckchen entdeckt hatten, begann Copeman analoge Versuche mit der Vaccine.

Er vermischte Bouillon mit glycerinierter Lymphe, füllte sie in Kollodiumsäckchen und ließ sie 8 bis 15 Tage in der Bauchhöhle von Kaninchen und Hunden. Oft zerbrachen die Säckchen; die ganz gebliebenen enthielten Staphylokokken und andere Mikroorganismen. Sie enthielten ferner Bildungen, welche der Autor als sporulierte Zoogloen bezeichnete, deren Kontur sich mit Methylenblau färbt. Damals war Copeman für die Sporozoentheorie eingetreten.

Wie es auch sein mag, jedenfalls ergab der Inhalt der einverleibten Säckchen eine positive Vaccination, während die Bouillonkulturen im Brutschrank, die zur Kontrolle angelegt waren, immer bei intrakutaner Impfung inaktiv blieben.

Bei unseren Versuchen haben wir die Schilfsäckchen den Kollodiumsäckchen vorgezogen, da sie haltbarer und leichter sterilisierbar sind. Es erscheint selbstverständlich, daß die Bouillon, der eine beträchtliche Menge Vaccine zugefügt ist, noch verimpfbar ist, kurz man operiert mit einer Verdünnung von Lymphe und konnte ein positives Resultat nach Copeman erwarten.

Unsere Versuche hatten zunächst den Zweck, festzustellen, ob sich unter diesen Verhältnissen der *Streptococcus vaccinalis* entwickeln würde. Nach zwei negativen Resultaten beim Kaninchen stellten wir unsere Versuche nicht weiter mit Kaninchen oder Hunden an, sondern mit einem empfänglicheren Tiere, dem Kalb. Wir führten die Säckchen unter die Haut des Kalbes ein, nachdem wir durch Ablösen der Haut eine Tasche gebildet hatten. Wir verwendeten immer so schwache Verdünnungen von Vaccine, daß eine Impfung mit einem Tropfen dieser Mischung durch Skarifikation negativ blieb.

Wir greifen jetzt wieder auf die Versuche des Kapitels F zurück, und zwar in derselben Reihenfolge.

#### I. Kalb 42, Serie B.

##### Untersuchung des Säckcheninhalts:

Bei der mikroskopischen Untersuchung finden wir zahlreiche Mikrokokken und wenige Streptokokken. Die Kultur auf Agar ergab zahlreiche Kolonien von Streptokokken und einzelne Staphylokokkenkolonien.

Zwei Streptokokkenkolonien, die auf der Agarkultur isoliert wurden, ließen sich bis zu einer Verdünnung von 1 auf 200 durch das Serum von Pockenfall 112 agglutinieren.

II. Kalb 7, Serie B.

Untersuchung des Säckcheninhalts:

1) Säckchen mit frischer Brüsseler Lymphe enthielten Streptokokken und Staphylokokken. Die Streptokokken wurden auf Agar isoliert.

Wirkung des Blutserums von vacciniertem Kalb 13, Serie B

auf den Streptococcus	Brüss. Lymphe alte a	Brüss. Lymphe alte b	Brüss. Lymphe frische a	Brüss. Lymphe frische b	Brüss. Lymphe frische c	Brüss. Lymphe frische d	Lymphe a	Lymphe b
Verdünnung: 1: 6	++	++	++	++	++	++	++	++
1: 12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 25	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1: 50	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 100	+++	+++	++	++	++	++	++	++
1: 200	++	++	+	+	+	+	+	+
1: 400	+	+						
1: 800	-	-						
Kontrollversuch	-	-	-	-	-	-	-	-

Wirkung des Blutserums von vacciniertem Kalb 36, Serie B

auf den Streptococcus	Brüss. Lymphe alte a	Brüss. Lymphe frische a	Brüss. Lymphe frische b	Brüss. Lymphe frische c	Brüss. Lymphe frische d	S. Lymphe a	S. Lymphe b
Verdünnung 1: 6	++	++	++	++	++	++	++
1: 12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 25	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1: 50	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 100	+++	+++	++	++	++	++	++
1: 200	++	++	+	+	+	+	+
1: 400	+	+					
1: 800	-	-					
Kontrollversuch	-	-	-	-	-	-	-

Wirkung des Blutserums vom Pockenfall 112

auf den Streptococcus	Brüss. Lymphe alte a	Brüss. Lymphe frische a	Brüss. Lymphe frische b	Brüss. Lymphe frische c	Brüss. Lymphe frische d	S. Lymphe a	S. Lymphe b
Verdünnung 1: 6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 12	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1: 25	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1: 50	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 100	+++	+++	++	++	++	++	++
1: 200	++	++	+	+	+	+	+
1: 400	+	+					
1: 800	-	-					
Kontrollversuch	-	-	-	-	-	-	-

2) Säckchen mit alter Brüsseler Lymphe enthielten Streptokokken und wenige Staphylokokken. Isolierung der Streptokokken auf Agar.

3) Von den Säckchen mit alter Lymphe enthielten die einen Streptokokken in Reinkultur, die anderen Streptokokken und wenige Staphylokokken. Isolierung der Streptokokken auf Agar.

Identifizierung dieser Streptokokken.

### III. Kalb 38, Serie B.

Mikroskopische Untersuchung des Inhalts der beiden ersten Säckchen:

Die trübe Flüssigkeit, die in den Säckchen geblieben ist, zeigt uns bei der Untersuchung im hängenden Tropfen zahlreiche Streptokokken und isolierte Mikrokokken, manchmal als Diplokokken angeordnet.

Die Agarkultur ergibt zahlreiche Kolonien von Streptokokken und Staphylokokken. Zwei Streptokokkenkolonien (a und b) wurden wieder verimpft und die Streptokokken identifiziert.

#### Wirkung des Blutserums des vaccinierten Kalbes 38 Serie B.

auf den Streptococcus	K 38 a	K 38 b
Verdünnung 1: 6	+++	+++
1: 12	+++	+++
1: 25	+++	+++
1: 50	+++	+++
1: 100	++	++
1: 200	+	+
1: 400	—	—
1: 800	—	—
Kontrollversuch	—	—

### IV. Kalb 46, Serie B.

Wir hatten hier Schilfsäckchen einverleibt, von denen die einen Lymphe M, die andern Lymphe W enthielten, verdünnt mit Bouillon, wie vorher beschrieben. Wir

#### Wirkung des Blutserums vom Pockenfall 112.

auf den Streptococcus	Lymphe M			Lymphe W
	1	2	3	1
Verdünnung 1: 6	+	—	—	+++
1: 12	+++	—	—	+++
1: 25	+++	—	—	+++
1: 50	+	—	—	++
1: 100	—	—	—	++
1: 200	—	—	—	—
1: 400	—	—	—	—
1: 800	—	—	—	—
Kontrollversuch	—	—	—	—

#### Wirkung des Blutserums vom Pockenfall 113.

auf den Streptococcus	Lymphe M			Lymphe W
	1	2	3	1
Verdünnung 1: 6	++	—	—	+++
1: 12	+++	—	—	+++
1: 25	+++	—	—	+++
1: 50	+	—	—	++
1: 100	—	—	—	++
1: 200	—	—	—	—
1: 400	—	—	—	—
1: 800	—	—	—	—
Kontrollversuch	—	—	—	—

entfernten diese Säckchen am 3. Tage und züchteten daraus Streptokokken, die mittelst verschiedener Sera identifiziert wurden.

VII. Kalb 48, Serie B.

Die mikroskopische Untersuchung des Falles ergab uns folgende Resultate:

Säckchen mit Lymphe M: Zahlreiche Diplokokken, kurze Streptokokken und zahlreiche mittellange Bacillen, ziemlich dick, oft paarweise gelagert, einige mit Vakuolen durchsetzt, wenig beweglich.

2) Säckchen mit Lymphe W: Zahlreiche Diplokokken, kurze und lange Streptokokken, zahlreiche mittellange Bacillen, die manchmal lange Fäden bilden.

Die Agarkultur des Inhalts dieser Säckchen lieferte nach 24 Stunden zahlreiche Kolonien von Streptokokken, Staphylokokken und Bacillen.

14 Streptokokkenkolonien, die aus dem Inhalt des Säckchens mit Lymphe M auf Agarkultur gewachsen waren, wurden weiterverimpft.

Ebenso wurden 13 der aus der Lymphe W stammenden Kolonien weiterverimpft.

Die Untersuchung im hängenden Tropfen verschiedener in Bouillon verimpfter Kulturen zeigte zwei Arten von Streptokokken: Die einen, am zahlreichsten, von gewöhnlicher Größe, die anderen von doppeltem, sogar dreifachem Volumen.

Wir werden später sehen, daß alle die Kolonien der zweiten Art durch das Serum von vaccinierten Kälbern und Pockenfällen nicht agglutinierbar sind.

Selbst eine genaue Untersuchung der Eigentümlichkeiten in der Kultur läßt diese Kolonien nicht vor dem Agglutinationsversuche unterscheiden. Diese Eigentümlichkeiten, Dimensionen der Kolonie, Schnelligkeit des Wachstums, Wachstum in Bouillon mit gleichmäßiger Trübung oder Sedimentierung, gehen ineinander über, je nach der stärkeren oder geringeren Alkaleszenz ihrer Umgebung, und zeigen weder die erste noch zweite Art von Streptokokken mit einer genügenden Konstanz.

Kurze Streptokokkenketten von 2, 3, 5 Individuen und andere lange Ketten von 30 und 40 ergaben bei der Kultur große und auch kleine Kolonien. Mehrfach lieferte ein Bouillonröhrchen nach 18 Stunden in verschiedenen Agarröhrchen nur in jedem einzelnen Röhrchen untereinander identische Kolonien, aber verschiedene in den verschiedenen Röhren. Aus diesen Fällen ließ sich beweisen, daß diese Unterschiede auf der verschiedenen Reaktion der Nährböden beruhten.

Identifizierung der aus der Lymphe M gezüchteten Streptokokken.

Von 14 abgeimpften Kolonien zeigten 6 die Eigentümlichkeiten des Streptococcus vaccinalis gegenüber dem Serum eines vaccinierten Tieres, zwei Fälle blieben zweifelhaft und 6 andere lieferten ein negatives Resultat.

Wirkung des Blutserum des vaccinierten Kalbes 36, Serie B

auf die Strept. aus Lymphe M	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m	n	o
Verd. 1: 6	+++	-	++	++	-	+++	-	+	++	++	+++	+++	-	-
1: 12	+++	-	++	++	-	+++	-	+	++	+	+++	+++	-	-
1: 25	++	-	+	+	-	++	-	-	++	+	++	+++	-	-
1: 50	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	++	-	-
1: 100	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
1: 200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1: 400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1: 800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kontrollversuch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

### Identifizierung der aus der Lymphe W gezüchteten Streptokokken.

Von 13 abgeimpften Kolonien wurden 5 durch das Serum eines vaccinierten Tieres agglutiniert und 8 gaben ein negatives Resultat.

#### Wirkung des Blutserums des vaccinierten Kalbes 36, Serie B,

auf die Strept. aus Lymphe W	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m	n
Verd. 1: 6	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	+++	—	—	+++	+
1: 12	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	—	—	+++	—
1: 25	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	—	—	+++	—
1: 50	—	—	—	—	—	++	++	+++	+++	—	—	++	—
1: 100	—	—	—	—	—	++	+	++	++	—	—	++	—
1: 200	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	+	—
1: 400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 800	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrollversuch	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wir haben schon vorher gesagt, daß die Verdünnung der Lymphe, mit der die Säckchen gefüllt wurden, eine so hochgradige war, daß die Verimpfung in die Haut ohne Erfolg blieb.

Wir haben ferner versucht, Kulturen von denjenigen Streptokokken, die in den Säckchen zurückgeblieben waren, einzupflegen; auch da blieb das Resultat negativ.

Wenn man nun die Resultate zusammenfaßt, so ergibt sich, daß:

1) Die Empfänglichkeit des Kaninchens für Vaccine großen individuellen Verschiedenheiten unterworfen ist. Das Kaninchen widersteht großen Dosen des Pockengiftes und reagiert nicht durch Eruptionen, aber es geht schließlich an Kachexie zu Grunde.

2) Die Empfänglichkeit der Ziege für Vaccine ist viel geringer als diejenige des Kalbes; ferner ruft die Entwicklung der Vaccine bei der Ziege das Auftreten von agglutinierenden Substanzen nur in sehr geringer Quantität in dem Serum des Tieres hervor.

3) Das Filtrat von Vaccine durch das Chamberland-Filter F ist nicht nur unwirksam bei der gewöhnlichen Verimpfung auf ein Kalb, sondern dieses Filtrat führt, auch in großer Menge unter die Haut injiziert, keine Immunisierung herbei.

4) Das 3—7 Tage lange Verweilen von Säckchen, die eine kleine Quantität Vaccine enthalten, unter der Haut des Kalbes, immunisiert dieses gegen eine spätere Impfung (in der gewöhnlichen Frist der intrakutanen Impfung oder der subkutanen Injektion). Das Vaccinogift muß also Substanzen liefern, die auch ohne jeden Druck durch eine Membran diffundieren und im stande sind, die Immunität hervorzurufen.

Dieses sehr wichtige Ergebnis lenkt die Aufmerksamkeit erstens auf die Möglichkeit, ein Tier zu immunisieren, ohne es im eigentlichen Sinne zu infizieren, und zweitens auf die Wichtigkeit dieser diffundierbaren Substanzen.

5) Diese Substanzen scheinen in gewisser Menge in der Oedemflüssigkeit vorhanden zu sein, welche man bei reichlicher, tiefer Impfung oder bei dicht aneinander vorgenommenen subkutanen Injektionen erhält.

In der Tat führt auch die Injektion dieser von ihren Mikroben befreiten Oedemflüssigkeit zu einem geringen Grade der Immunität.

6) Bei der Kultur der in Schilfsäckchen unter die Haut eines Kalbes gebrachten Vaccine erhält man konstant eine reichliche Entwicklung von Streptokokken neben Staphylokokken und einigen Bacillenarten.

Die Streptokokken lassen sich fast alle als *Streptococcus vaccinalis* identifizieren. Diese Kulturen sind nicht im stande, die nach der Verimpfung gewöhnlichen Veränderungen der Haut hervorzurufen.

*Nachdruck verboten.*

## Der Mechanismus der natürlichen Immunität auf physiologischer Grundlage.

Von

Prof. **R. Turró**,  
Direktor des Laboratoriums der Acad.  
de ciencias Médicas de Cataluña.

und

**A. Pi y Suñer**,  
Professor an der medizinischen Fakultät  
zu Barcelona.

Aus dem Spanischen übertragen von Dr. Alfred Berliner, Berlin.

(Schluß.)

Einige Erfahrungsbeispiele werden uns zeigen, daß dem in der Tat so ist.

Eine 8-proz. Traubenzuckerbouillon<sup>1)</sup> gestattet uns, sofort bei gesunden Individuen Reinkulturen virulenter Pneumokokken zu isolieren. Bei diesen Leuten kommt es trotzdem zu keiner Pneumonie, d. h. also, das infektiöse Element wirkt bei ihnen nicht infizierend. Sobald aber ein schädigender Eingriff, etwa einer Erkältung oder eine koagulierende Einwirkung, sagen wir ein Trauma, die bakteriolytische Kraft der Plasmaelemente, auf denen die Verteidigung beruht, abschwächt oder gar aufhebt, so nistet sich der *Pneumococcus* ein, vermehrt sich, und die Pneumonie bricht plötzlich aus.

Das gesunde Zahnfleisch erscheint auch, ohne aseptisch zu sein, im allgemeinen spiegelnd. Eine Stomatitis mercurialis genügt, um die Lebenskraft des Gewebes so zu schädigen, daß die Mikroben sich in Form eines grauen Saumes einstellen können. Müßte man sich nicht hier fragen, warum dieser Fall nicht schon vorher eintritt? Es ist allgemein bekannt, daß das sonst unschädliche Bier in einigen Fällen eine Gonorrhöe in das akute Stadium überführt, daß bei empfänglichen Individuen ein Glas kalten Wassers eine Angina erzeugen kann. Von alters her reden wir in solchen Fällen von einem „locus minoris resistentiae“ für die Infektion. Diese Erfahrungstatsache, die sich allgemeiner Beliebtheit erfreut, ist auch experimentell bestätigt worden (Nocard, Roux, Grawitz etc.).

Wenn nun noch ein Jahrhunderte alter Erfahrungssatz, der völlig unangetastet dasteht, uns die Ueberzeugung aufnötigt, daß das lebende Gewebe sich gegen eine Bakterieninvasion verteidigt, so muß es ein aussichtsloses Beginnen für die herrschenden Theorien sein, wollten sie eine so für sich selbst sprechende Beobachtung mit Stillschweigen übergehen. Wenn sich die Gewebe passiv und reaktionslos gegen die In-

1) Turró, R., La glucose dans les cultures du pneumocoque. (Journ. de physiol. et pathol. générale. 1904. No. 4.)

fektionskeime verhalten, also wie ein Gelatinenährboden, so müßten sie in Fäulnis übergehen. Will man lediglich ihre Strukturverhältnisse als ihre Verteidigungswaffe gelten lassen, d. h. ihr physiologisches Verhalten, das ein Eindringen der Keime verhindert, so treibt man nur ein Spiel mit leeren Worten, um die großen Lücken auszufüllen, die die landläufigen Theorien übrig gelassen haben. Wenigstens gilt dies von der Hornschicht der äußeren Hautdecken, denn es gibt kaum wieder einen so ausgezeichneten Nährboden für Bakterien, die auf ihnen vegetieren, ohne sie infizieren zu können; wenn diese nicht in die Zellen eindringen, so geschieht dies nicht etwa, weil die physiologischen Bedingungen ein Eindringen unmöglich machen, denn wenn sie sich an der Oberfläche vermehren können, so können sie auch per continuitatem tiefer dringen. Ebenso wenig sind aber diejenigen Gewebe, die, wie die Magendarmepithelien, die Zellen des Respirations-, Vaginal- und Urethraltraktus nicht gerade in direkten Kontakt mit den Bakterien stellen, für Keime zugänglich. Zur Stütze dieser Anschauung bedarf es kaum noch des Hinweises auf die Arbeiten von Grawitz und die älteren Lehren von Vernouille über das „latente Verhalten der Bakterien“; obwohl die klinischen Kriterien klar und deutlich für sie sprechen, wurden sie doch von den herrschenden Anschauungen unterschätzt und für bedeutungslos gehalten.

Wenn Nieren, Milz, Leber etc. unter normalen Umständen von Infektion frei bleiben, so verdanken sie es nicht einer physikalischen Unzugänglichkeit für Bakterien, sondern dem Umstande, daß sie gleich den Epithelien des Darmkanals bakteriolytische Eigenschaften haben, die in ihnen einen ungeeigneten Nährboden schaffen; eine Abschwächung dieser Eigenschaften reicht schon hin, um der Infektion Zutritt zu verschaffen, obwohl die Bakterien nicht leichter eindringen können als zuvor. Kurzum, die rein empirische Beobachtung lehrt uns, daß lediglich mittels physiologischer Kräfte sich diese Zellanhäufungen, die wir als Gewebe bezeichnen, gegen die Infektionskeime verteidigen.

Bisher sahen wir also, daß sich in vitro die Gegenwart bakteriolytischer Enzyme der Zellplasmen nachweisen ließ, vorausgesetzt, daß man für ihre Löslichkeit in Kochsalzlösung Sorge trug; wir sahen weiterhin, daß, je löslicher ein Plasma im Lösungsmittel ist, um so größer auch seine Energie beim Zusammentreffen mit Bakterien erscheint.

Nachdem der eine von uns dieses Problem vom rein chemischen Standpunkte aus studiert hat, ist es angezeigt, es auch auf das Gebiet physiologischer Forschung zu übertragen, und zwar, indem wir folgende Frage formulieren: Können isotonische NaCl-Lösungen, die uns zur Evidenz die bakterizide Wirkung der Plasmasubstanzen gezeigt haben, ebenso auch nach Injektion im lebenden Organismus wirken? Können sie weiterhin im Plasma bakterizide Kräfte freimachen, so, daß die Schutzkräfte des Tierkörpers gegen eine Infektion verstärkt werden? In den folgenden Zeilen wollen wir hierfür experimentelle Belege beibringen.

## II.

Bereits im Januar 1904 haben wir vorläufig mitteilen können, daß Injektionen mit großen Dosen Kochsalzlösung Kaninchen eine temporäre Immunität gegen Milzbrandgift verleihen<sup>1)</sup>. Wir werden in der Folge so ausführlich, wie es seine Bedeutung verlangt, dieses Phänomen studieren.

1) Cf. Centralbl. f. Bakt. etc. 1904. No. 1.



Injiziert man erwachsenen Kaninchen subkutan 100 ccm einer isotonischen NaCl-Lösung auf 1 kg Körpergewicht und überläßt dann die Tiere 24 Stunden sich selbst, so zeigt sich, daß sie nunmehr gegen die Impfung mit einem Tropfen einer 24 Stunden alten Milzbrandkultur immun sind, welche Kontrolltiere im Zeitraum von 24—50 Stunden tötet. Der Einstich erfolgt in das subkutane Gewebe des Oberschenkels. Die lokale Reaktion äußert sich deutlich in Temperatursteigerung und Schwellung, Symptome, die zwischen dem zweiten und dritten Tage nachlassen. Wir verteilen die Injektion auf die linke und rechte Körperhälfte, um die Resorption einer so großen Flüssigkeitsmenge zu beschleunigen.

Die durch die Injektion der Kochsalzlösung geschaffene physiologische Wirkung erreicht zwischen 22 und 28 Stunden ihren Höhepunkt. Impft man das Virus erst nach 2 Tagen ein, so erliegt das Tier bereits einer Pyämie, jedoch etwas später als die Kontrolltiere; nach 3 Tagen fehlt aber bereits jede Widerstandskraft, und es stirbt ebenso schnell wie die Kontrolltiere. Daraus folgt, daß die mittels der Kochsalzinjektionen geschaffene Immunität vergänglich und flüchtig ist und sich absolut nicht mit der durch Schutzpockenimpfung erlangten vergleichen läßt, von der sie schon ihrer ganzen Natur nach verschieden ist. Die Immunität hängt eben einzig und allein von der physiologischen Wirkung der Kochsalzinjektionen ab: Ist diese geschwunden und hat der Organismus seine normalen Funktionen wieder angenommen, so erlischt seine Widerstandskraft resp. die der Einimpfung des Virus sich entgegensetzenden Schutzkräfte. Damit die physiologische Wirkung eintreten kann, braucht der Körper 22 bis 28 Stunden, denn wenn Gift und Kochsalzlösung den Kaninchen gleichzeitig einverleibt werden, so sterben die Tiere gleichzeitig mit den Kontrolltieren; das Nämliche tritt ein, wenn man alle 10 Stunden weitere 20 ccm injiziert; ebenso ist es, wenn die Impfung nach 10 Stunden bereits vorgenommen wird.

Der physiologische Effekt der Kochsalzinfusion, welcher zu seinem Erscheinen eines gewissen Zeitraumes bedarf, muß ausbleiben, wenn der normale Ablauf der Funktion im Organismus gestört wird. Eine Subkutaninjektion von 2 g Spiritus, Aether und Chloroform genügt, um die Wirkung der Infusion aufzuheben, denn die Kaninchen sterben gleich den Kontrolltieren an der Impfung mit dem Gifte. 1 g einer Opiumlösung zeitigt die gleiche Wirkung. Schädigungen des subkutanen Bindegewebes des Oberschenkels mittels verdünnter Milchsäurelösung oder mechanischer Traumen heben gleichzeitig die Präventivwirkung der NaCl-Lösung auf. In einem unserer Fälle trat, als wir beim Einstoßen der Spritzenadel in eine kleine Vene stießen, eine ganz leichte Blutung auf, die sich durch eine rötliche Färbung der beim Zurückziehen aus der Schwellung hervorsickernden Flüssigkeit kenntlich machte: Sie genügte aber schon, um die Immunisierung zu nichte zu machen.

Das Alter der Tiere spielt in der Wirksamkeit der Kochsalzinjektionen gleichfalls eine Rolle. Noch nicht 2 Monate alte Kaninchen sind nicht so widerstandsfähig wie solche über 3 Monate, deren Körpergewicht 700—900 g oder mehr beträgt. Ganz junge Tiere erliegen sämtlich der Giftwirkung.

Eine besonders bemerkenswerte Beobachtung wollen wir hier noch anführen. Kaninchen, die man an der Innenfläche der zentralen Partie der Ohren impft, in der Ansicht, die lokale Reaktion besser beobachten zu können, sterben im allgemeinen mehr oder weniger nach den Kontrolltieren. Man macht hier einen feinen, ganz oberflächlichen Einschnitt

und kann dann nach 8 Stunden durch Kompression der Ränder an der Einstichstelle etwas seröse Flüssigkeit auf dem Deckgläschen auffangen; dieselbe wird fixiert, mit wässriger Gentianaviolettlösung gefärbt, nach Gram behandelt und nach Entfärbung mit Alkohol zuletzt mit 1-proz. Eosinlösung gegengefärbt. Die Untersuchung der Präparate zeigt, daß eine große Zahl Bakterien bereits die Fähigkeit verloren hat, den basischen Farbstoff festzuhalten; sie befinden sich in voller Bakteriolyse, denn ihr Cytoplasma erscheint verdünnt und hat einen leicht rötlichen Farbenton angenommen. In diesem Zeitraum ist die Einwanderung von Leukocyten fast gleich null, und die Bakterienverdauung vollzieht sich lediglich durch das Serum. Nach 24 Stunden sind die Entzündungsvorgänge bereits ganz deutlich; macht man den Eingriff in der oben beschriebenen Weise, so zeigt sich jetzt, daß die Bakterien in großer Zahl im Serum aufgelöst sind, daß die polynukleären Zellen die Reste der von der Verdauung übrig gebliebenen Bacillen eingekapselt enthalten, vorwiegend sehr dünne, mehr oder weniger veränderte Stäbchen. Alle diese Beobachtungen, auf die wir hier nur kurz hindeuten wollen, lassen für das mit präventiven Kochsalzinjektionen behandelte Kaninchen eine Defensivkraft erkennen, die es unter normalen Bedingungen nicht besitzt. Ist das Tier tot, so müssen sich die gleichen Bilder, jedoch noch deutlicher, bei mikroskopischer Untersuchung des Milzabstriches zeigen. Tatsächlich sieht man neben normal gestalteten Bacillen, welche die Gramsche Färbung festgehalten haben, eine große Zahl anderer, deren Cytoplasma in vollster Bakteriolyse begriffen und so dünn geworden ist, daß es sich kaum sichtbar machen läßt. Zweifelsohne deuten diese Erscheinungen auf bakteriolytische Kräfte innerhalb dieser Säftemasse, die normalerweise das Kaninchen nicht besitzt. Verfolgt man aufmerksam die einzelnen Stadien des oben geschilderten Prozesses, so lassen sich 2 Phasen unterscheiden: Zunächst die Verdauung der Bakterien durch die Säftemasse, als deren Produkt eine chemisch reizende Materie erscheint; letztere leitet dann weiterhin die Entzündung des Ohres ein, erweitert die Gefäße, schädigt die Endothelien und ruft die ganze Serie von Erscheinungen auf den Plan, die die endgültige Abwicklung des Prozesses zur Folge haben. Die Phagocytose ergibt sich aus der ursprünglich rein humoralen Entstehung des Prozesses; darauf ist es auch zurückzuführen, daß die Bakterienverdauung seitens der Leukocyten um so leichter erfolgen wird, je besser das Feld für die Phagocyten durch Ansammlung von chemischen Substanzen vorbereitet ist.

Die Milzbrandbacillen mit verschmälertem Protoplasmaleib, die wir 8, 24 und 48 Stunden nach der Impfung am Ohr bei unseren mit Kochsalzinjektionen vorbehandelten Kaninchen antrafen, sind keineswegs abgestorben, obwohl sie sich mit basischen Farbstoffen nicht mehr färben. Aussaaten in Bouillon zeigen uns nämlich, daß sie ihre Charaktere, die sie in den Organsäften besaßen, wieder annehmen und einer Regeneration fähig sind, wenn man sie durch eine Reihe von Nährböden schickt.

Um das Letztgenannte noch einmal kurz zusammenzufassen, so zeigt uns die mikroskopische Untersuchung, daß selbst in Fällen, wo die mit Kochsalzlösung behandelten Tiere an Milzbrand starben, sei es infolge ihrer Jugend, sei es infolge der Impfung an einem so wenig lebensfähigen Gewebe, wie der Ohrknorpel es ist, die Tiere größere bakteriolytische oder Schutzkräfte besitzen als unter natürlichen Verhältnissen.

Nach den Experimenten über die Steigerung des Organwiderstandes gegen Milzbrand mittels kopiöser Kochsalzinjektionen haben wir auch die Streptokokkeninfektion in den Bereich unserer Untersuchungen gezogen. Wir bestimmten zunächst die Virulenz einer aus einer Phlegmone stammenden Streptokokkenspecies, indem wir 4 Tropfen in die Ohrvene eines Kaninchens impften. Am 6. Tage starb das Tier, und mit den neuen Kulturen aus diesem impften wir eine Serie von 6 Kaninchen, die 24 Stunden mit Kochsalzinjektionen vorbehandelt waren, mit einer gleichen Dosis und an denselben Punkten, desgleichen 2 Kontrolltiere. Die Kontrolltiere starben zwischen dem 5. und 6. Tage, die übrigen blieben am Leben, eines ausgenommen, das nach 14 Tagen starb, wie die Kulturen aus Leber- und Herzbeutel Flüssigkeit zeigten, an den Folgen der Infektion. Das Experiment wurde mehrfach mit anderen Streptokokkenstämmen wiederholt, die aus einer Phlegmone und einer Diphtherie isoliert waren, immer mit dem gleichen Resultat, daß die Mehrzahl der Tiere am Leben blieb, während die wenigen, welche zu Grunde gingen, eine bemerkenswerte Verzögerung gegenüber den Kontrolltieren aufwiesen.

Um die immunisierende Wirkung der Kochsalzinjektionen möglichst auffällig verfolgen zu können, haben wir Erysipel am Ohr erwachsener Kaninchen erzeugt, bald mit sehr virulenten, bald mit etwas abgeschwächten Kulturen. Unsere Experimente hatten dabei folgendes Ergebnis:

1) Streptokokken geringer Virulenz rufen bei Kaninchen, die mit Kochsalzlösung vorbehandelt waren, eine Reaktion hervor, welche am 2. Tage Halt macht, am 3. verschwindet. Bei den Kontrolltieren hingegen treten die Symptome viel stärker auf, es kommt zu einer starken Schwellung mit seröser Exsudation, die bis zum 4. Tage zunimmt, um zwischen dem 6. und 7. Tage zu verschwinden.

2) Impft man Kaninchen, die mit NaCl-Lösung vorbehandelt waren, mit einer 5mal stärkeren Dosis wie die Kontrolltiere, so kommt es doch zu keiner so ausgebreiteten Entzündung wie bei den letzteren.

3) Die Impfung mit 1—3 Tropfen einer virulenten Kultur in das Ohr vorbehandelter Kaninchen ruft eine weit weniger heftige Entzündung wie bei den Kontrolltieren hervor: Bei den letzteren sinkt das an Erysipel erkrankte Ohr wie leblos herab; es bilden sich Bläschen, die eine wässrige Flüssigkeit absondern, und es kommt zu einer starken Schwellung der Haut. Bei den vorbehandelten Tieren ist der Herd mehr zirkumskript, die gesamten Erscheinungen sind weniger ernst; trotzdem kommt es ebenso leicht bei ihnen zur Allgemeininfektion, wenn auch die lokalen Symptome eher benign zu nennen sind. Immerhin tritt der Tod später ein als bei den Kontrolltieren.

Alle Einzelheiten, die wir bisher über Aufhebung oder Abschwächung der immunisierenden Wirkung von Salzlösung bei bacillärer Infektion angeführt haben, treffen ebenso für die Streptokokkeninfektion der Tiere zu, und wir können uns daher Weiterungen ersparen. Das Gleiche ist auch bei der Bakteriolyse der Kettenkokken der Fall. Der Verdauungsvorgang in der Flüssigkeit spielt sich ganz deutlich ab: Die Glieder der Kette zerfallen, beginnen sich im Serum aufzulösen und verschwinden schließlich ganz, und dieser Vorgang, der sich bereits vor der Phagocytose beobachten läßt, nimmt nach ihrem Erscheinen seinen Fortgang. Stellt man Parallelversuche über die Verdauungsvorgänge bei den mit Kochsalz vorbehandelten Kaninchen und bei Kontrolltieren an, so läßt sich ganz deutlich verfolgen, daß die ersteren eine weitaus größere bakteriolytische Kraft besitzen.

## III.

Wir haben bereits oben gesagt, daß die Steigerung der Widerstandskraft oder der Verteidigungsmittel bei den mit Kochsalzinjektionen vorbehandelten Tieren auf der physiologischen Wirkung der Injektionen beruht. Ohne allen Zweifel steigert nicht die Salzlösung an sich den Widerstand der Organe, sondern die von ihr ausgehende Einwirkung auf die Zellplasmen. Von dieser Wirkung ist uns bereits bekannt, daß sie sich in einer Auflösung äußert; ihr verdankt das Zellplasma seine stärkere Löslichkeit, dergestalt, daß es Substanzen an die umgebende Flüssigkeit und schließlich an die Zirkulation abgibt. Wenden wir nunmehr unsere in vitro erhobenen Feststellungen, daß ein Plasma um so stärker bakteriolytisch wirkt, je leichter es löslich ist, auf die gesteigerte Widerstandskraft unserer mit NaCl-Lösung behandelten Kaninchen an, so heißt dies, daß die Steigerung auf einem Freiwerden größerer Mengen von Alexinen oder bakteriolytischen Enzymen aus dem Zellplasma beruht, und aus dieser Schlußfolgerung ergibt sich für uns die Aufgabe, der Lösung folgender physiologischer Probleme näherzutreten:

1) Tritt eine Steigerung der molekularen Konzentration ( $\Delta$ ) nach den Salzinjektionen auf als Folge einer vermehrten Plasmolyse?

2) Wächst die bakteriolytische Kraft des Serums und der Körpersäfte im allgemeinen zugleich mit der Lösung von Proteinsubstanz?

Die physiologische Wirkung der Kochsalzinjektion.

Unserem Nachweis, daß in der Tat eine Abspaltung von Plasma-substanz nach den Kochsalzinjektionen erfolgt, liegen 8 Beobachtungen zu Grunde; 4mal haben wir an Hunden, 6mal an Kaninchen experimentiert

	$\Delta$	Albumin	NaCl
Hund No. 1. Gewicht: 6,5 kg			
Vor der Injektion	0,6	60,8 Prom.	
24 Stunden nach der Injektion (400 ccm)	0,63	62,4 „	unverändert
Hund No. 2. Gewicht: 8 kg			
Vor der Injektion	0,75	56,3 „	
24 Stunden nach der Injektion (400 ccm)	0,62	59,8 „	„
Hund No. 3. Gewicht: 5,5 kg			
Vor der Injektion	0,54	58,8 „	
24 Stunden nach der Injektion (400 ccm)	0,26	64,7 „	„
Hund No. 4. Gewicht: 11 kg			
Vor der Injektion	0,58	61,5 „	
24 Stunden nach der Injektion (500 ccm)	0,59	63,6 „	„

## Kontrollkaninchen No. 1 und 2.

No. 1	0,56	} Durchschnitt 0,58	52,4 Prom.	
„ 2	0,60		56,7 „	

## Mit Kochsalz vorbehandelte Kaninchen.

No. 3 (200 ccm)	0,59	} Durchschnitt 0,62	50,8 Prom.	unverändert
„ 4 (200 „)	0,61		54,1 „	„
„ 5 (100 „)	0,63		53,2 „	„
„ 6 (200 „)	0,68		48,4 „	„

Als Gesamtergebnis ergibt sich aus diesen Experimenten eine beträchtliche Steigerung der molekularen Konzentration als Folge der Kochsalzinjektionen. Der Albumingehalt weist bei den Hunden eine Steigerung auf; bei den Kaninchen ist dies nicht der Fall. Was die Menge an NaCl anbelangt, so blieb sie bei Hunden wie Kaninchen unverändert dieselbe; die

Bestimmung geschah mittels Titration. Aus unseren Resultaten folgt deutlich, daß die Annahme einer Plasmolyse auf Richtigkeit beruht, wir brauchen nur die bei der Bestimmung des Albumingehaltes gewonnenen Zahlen zu vergleichen; dieselbe geschieht durch Erwärmen mit einer Mischung von Acid. picronitr. und Acid. citr. Da sich nach der Kochsalzinjektion beim Hunde eine Vermehrung des Albumins herausstellt, so muß dieses Plus aus dem Plasma herkommen, das nunmehr die Proteinsubstanzen im Serum vermehrt. Die Kryoskopie genügt vollauf, um uns eine solche Absprengung von Plasmasubstanz zu bestätigen, wobei wir allerdings für die Kaninchen auf diese Angaben verzichten müssen; das ständige Sinken des Gefrierpunktes zeigt uns bei ihr, daß eine größere molekulare Konzentration eingetreten ist, die wohl kaum auf die Albuminmoleküle zu beziehen ist, sondern wohl eher auf seine viel kleineren und zahlreicheren Derivate. Der Wert von  $\Delta$  wäre einzig noch durch die anorganischen Salze zu beeinflussen; von ihnen ist das wichtigste das Chlor-natrium; die übrigen Bestandteile finden sich im Serum in so verschwindender Menge, daß sie selbst bei etwaigen quantitativen Schwankungen für die Gefrierpunktsbestimmung außer acht zu lassen sind. Wir sagten bereits, daß das NaCl bei den injizierten Tieren einen konstanten Wert darstellt; bei den übrigen dürften Differenzen seiner Menge die sonstigen Befunde kaum beeinflussen. Demnach beweist die Kryoskopie bei unseren Versuchen, daß eine Zersetzung von Proteinmolekülen zweifelsohne vorliegt, ein Freiwerden großer Mengen von Albumin, also eine evidente Plasmolyse.

Wie man sieht, decken sich unsere Resultate teilweise mit denen Löpfers: Dieser Forscher beobachtete, daß bei Verdünnung des Blutes bisweilen der Gefrierpunkt steigt, während die Chloride unverändert bleiben. Dagegen behauptet er, daß die Albuminmengen sinken. Wenn nun auch unsere Ergebnisse in diesem Punkte beim Hunde abweichende sind, so läßt sich dieser Unterschied doch leicht erklären, wenn man berücksichtigt, daß Löper seine Beobachtungen unmittelbar nach Ausführung der blutverdünnenden Injektion anstellte. Wir dagegen haben sie erst 24 Stunden später ausgeführt, ein Zeitraum, der für den Eintritt der Plasmolyse völlig hinreicht.

Die physiologische Wirkung der Kochsalzinjektionen besteht demnach in einem Freiwerden löslicher Substanz im Plasma; sie vermehrt die bakteriziden Kräfte der Zellen, denen sie die Mittel zur besseren Verteidigung verschafft. Sie steigert aber auch in der Säftemasse die aus dem Plasma bezogenen und modifizierten Proteinsubstanzen. Wenn das Kaninchen sich vorübergehend besser gegen eine Streptokokken- und Milzbrandinfektion nach der Behandlung schützen kann als unter normalen Verhältnissen, so beruht dies eben darauf, daß jetzt seine Säftemasse und Gewebe sich einer bakteriolytischen Kraft erfreuen, die ihm vorher abging<sup>1)</sup>.

1) Löper teilt in der oben erwähnten Arbeit ein ganz besonders bemerkenswertes Phänomen mit. Nach ihm ist der Eintritt der Krise durch eine Steigerung der molekularen Dichte des Blutes gekennzeichnet, die späterhin in einer erhöhten Urat-Ausscheidung ihren Ausdruck findet, ferner in einer Verringerung der Albumine, die schließlich in eine Erhöhung umschlägt, während die NaCl-Mengen unverändert bleiben. Die Wirkung der Krise bei inneren Krankheiten und die künstliche Krise nach Salzinjektionen sind im Grunde genommen den gleichen physiologischen Vorgängen unterworfen.

### Ueber das Zustandekommen der bakteriolytischen Wirkung des Blutserums.

Die eben geschilderten Experimente lassen den Eintritt einer Plasmolyse nach Kochsalzinjektionen als unzweifelhaft erscheinen. Nunmehr erübrigt sich noch der Nachweis, daß ebenso wie in vitro auch im Blut Phänomene gleicher Art die bakteriolytischen Eigenschaften des Blutes steigern. Wir besitzen zwei Methoden, um die Größe der bakteriolytischen Kraft zu bestimmen, einmal Platinöse und Kolonieenzählung, dann aber das Wägungsverfahren. Die erstere ist allerdings feiner und genauer als die zweite, doch können auch bei ihr, wenigstens für den Milzbrandbacillus, Irrtümer unterlaufen, indem bei den Verdauungsversuchen in vitro einzelne Bacillen sich aus dem Fadenbereich losmachen und die Zahl der Bakterieneinheiten vermehren. Unsere Methode der Gewichtsbestimmung ist gröber als die erste, aber um den größeren oder geringeren Grad bakteriolytischer Energie abzuschätzen, leistet sie treffliche Dienste. Als Maßeinheit nehmen wir 0,25 g Milzbrandbacillen, die 24 Stunden zuvor auf Peptonagar ausgesät sind; die zum Versuche dienende Flüssigkeitsmenge beträgt 2 g. Die Flüssigkeit wird in einen der von mir angegebenen anaëroben Kolben eingelassen und unter 37° gehalten. Wir müssen hier bemerken, daß eine in unserem Kolben mit 2—3 Tropfen Bakterien hergestellte Aussaat, die die Oberfläche gleichmäßig bedeckt, eine Abstrichmenge liefert, die ungefähr 0,25 g beträgt; deshalb wählten wir dieses Gewicht. Wenn wir nun die bakteriolytische Kraft eines Serums prüfen wollen, so lassen wir 2 g desselben über die Oberfläche der Agarkultur laufen, mischen Flüssigkeit und Kultur, um schließlich das Gemisch mit einer Pipette zu aspirieren und in den luftleeren Kolben zu übertragen. Auf diesem Wege werden nicht nur die Manipulationen vereinfacht, sondern auch die Gefahren einer Infektion verringert.

Durch ein grundlegendes Experiment können wir nun den Nachweis führen, daß die Alexine des Serums aus dem Plasma stammen. Das Blut eines Kaninchens wird im luftleeren Kolben aufgesammelt und unter niedriger Temperatur gehalten: Nach 24 Stunden wird seine bakteriolytische Kraft mittels der Kolonieenzählungsmethode geprüft. Das obenstehende Serum nimmt man ab, um den zurückbleibenden Blutkuchen in gleichen Gewichtsteilen einer 1-proz. Kochsalz- und 4-proz. Fluornatriumlösung zu verteilen. Diese unter Sauerstoffabschluß herzustellende Mazeration enthält nach 3 Tagen und bereits früher bakteriolytische Enzyme, die wirksamer sind als die des Serums selbst. Verteilt man die Bacillen in einem bestimmten Quantum dieser Flüssigkeit, so zeigt sich, daß nach 6 Stunden auf je 10 Kolonien, die das Serum ergibt, hier nur eine kommt. Mittels Gewichtsbestimmung läßt sich nachweisen, daß binnen 24 Stunden die 0,25 g Milzbrandbacillen zu einer formlosen Masse zusammengesmolzen sind, während das Serum selbst so unvollkommen verdaut, daß nach 3 Tagen noch Bacillen in großer Zahl vorhanden sind, die sich als unverändert erweisen, denn sie halten die Gramsche Färbung fest.

Gleich dem Plasma, ist auch das Serum äußerst oxydationsfähig; nach kurzer Zeit verliert es daher seine bakterizide Kraft und verwandelt sich in einen ausgezeichneten Nährboden für Milzbrandbacillen; vermeidet man aber Luftzutritt, so hält es sich anscheinend fast unbegrenzt. Aus diesem Grunde wurden alle unsere Experimente unter Luftabschluß ausgeführt. In gleicher Weise wie das Plasma, wird auch die ursprüngliche Blutflüssigkeit, wenn auch nicht so intensiv, von Kochsalzlösung mit Fluornatriumzusatz zu einem guten Lösungsmittel umgestaltet. Das Serum des

Kaninchens besitzt, vom Gerinnsel getrennt, 3 Tage nach der Abscheidung eine ganz andere bakteriolytische Kraft als erst nach 24 Stunden: die erstere erweist sich bedeutend stärker als die letztere, und diese Unterschiede treten sowohl bei der Kolonieenzählung, wie bei der Wägungsmethode hervor. Fügt man einem Serum von bekannter bakteriolytischer Kraft mit einer Nadel kleinste Mengen von Fibrin zu, so kann man nicht allein die Auflösung derselben beobachten, sondern auch eine erhöhte Proteolyse für Bakterien.

Aus allen diesen Beobachtungen läßt sich entnehmen, daß ein Serum in stärkerem oder schwächerem Grade bakteriolytisch wirkt, je nachdem sich die in ihm gelöste Menge plasmatischer Substanz darstellt. Hierauf fußend, haben wir unsere Aufmerksamkeit dem Hundeserum zugewandt. Von diesem behauptet Nuttall, daß es für Milzbrandbacillen bakterizid wirkt; Denys war ursprünglich gleicher Ansicht, hat sie aber später nach den gemeinschaftlichen Arbeiten mit Havet etwas eingeschränkt. Lubarsch leugnet die Baktericidie; dasselbe behaupten Metschnikoff und Gengou.

In Kürze mögen hier unsere Experimente Raum finden. Das Hundeblood gerinnt äußerst schnell. Das Gerinnsel präsentiert sich als eine solide, recht feste Masse, wie wir es beim Kaninchen nicht sahen. Das leicht opaleszente Plasma bildet sich sehr viel später. Das Hundeblood mit 1 Proz. NaCl-Zusatz scheidet erst nach höchstens 2 Tagen ein immer noch dichtes und kompaktes Serum ab. So oft wir nun Hundebloodserum wenige Stunden nach dem Aderlaß untersucht haben, niemals zeigte es sich bakteriolytisch. Nach 24 Stunden ist es nur in ganz geringem Grade der Fall. Selbst nach 2 Tagen haben wir uns nicht ganz überzeugend davon überführen können, auch wenn man die Bacillenaufschwemmung 24 Stunden bei 37° in der Flüssigkeit verweilen ließ. Setzt man aber einem solchen inaktiven Serum nur das kleinste Quantum, vielleicht  $\frac{1}{5}$  Tropfen, einer Kochsalzhaltigen, oben als kompakt geschilderten Blutflüssigkeit zu, so kann man tatsächlich eine Bakteriolyse beobachten.

Aus diesen Experimenten ergibt sich, daß, wenn ein Hundeserum im allgemeinen sich inaktiv verhält, dies auf die Gerinnung der bakteriziden Substanzen zurückzuführen ist während der schnellen Bildung des Blutkuchens, und diese Substanzen lösen sich nicht leicht in der Blutflüssigkeit wieder auf. Vermehren wir durch Kochsalzzusatz ihre Löslichkeit, so können wir alsbald auch ihre bakteriolytischen Kräfte nachweisen. Wenn man den vom Serum abgetrennten Blutkuchen mit unserer Fluornatriumkochsalzlösung mazerieren läßt, so besitzt diese Flüssigkeit tatsächlich eine größere bakteriolytische Kraft, als wir sie beim Kaninchenkoagulum erreichen konnten. Auch am Hundeserum selber kommt eine auflösende Kraft zur Beobachtung, wenngleich sie wegen seiner physikalischen Eigenschaften sich langsamer äußert. Entnimmt man Hundeblood unter ganz aseptischen Vorsichtsmaßregeln und bedeckt im Kolben die Oberfläche mit sterilem Paraffin von 40° Schmelzpunkt, so erweist sich das Serum aller brauchbaren Kolben als höchstens bis zu 6 Tagen dauernd bakteriolytisch.

Alle diese Ergebnisse bestätigen uns, daß, wenn Hundeserum in vitro im allgemeinen inaktiv sich verhält, daraus noch kein Schluß auf fehlende bakterizide Eigenschaften unter physiologischen Verhältnissen gestattet ist, denn der Organismus enthält Alexine in gut gelöstem Zustande, die freilich unmittelbar nach der Blutentziehung in das Koagulum

übergehen. In diesem Zustande verhalten sie sich inaktiv; gelingt es uns aber, sie künstlich wieder aufzulösen, so wirken sie wie im lebenden Organismus nach dem Grundsatz „*Corpora non agunt nisi soluta*“.

Verschaffen wir einem Kaninchen ein temporär-refraktäres Verhalten gegen Milzbrandbacillen, so bringen wir ihm einen ähnlichen Zustand bei, wie der Hund ihn von Natur auf besitzt. Damit stimmt überein, daß das 24 Stunden nach Ausführung der Kochsalzinjektion gewonnene Kaninchenblut ebenso rasch gerinnt wie das des Hundes. Auch das Gerinnsel ist fest und hart. Erst nach 2 Tagen kommt es zur Abscheidung eines Serums, dessen bakteriolytische Kräfte sich geringer als die des normalen Kaninchens erweisen. Vom Standpunkte der allgemein üblichen Theorien muß dieses Phänomen ganz unbegreiflich und dunkel erscheinen; von unserem Gesichtspunkte aus ergibt es sich ganz natürlich, denn Alexine oder bakteriolytische Enzyme sind Eigenschaften, die das Zellplasma besitzt. Wir haben ferner durch unsere Untersuchungen nachgewiesen, daß infolge einer Plasmolyse die Menge gerinnungsfähiger Proteinstoffe im Serum steigt. Daraus ergibt sich logischerweise, daß die Koagulationsfähigkeit des Blutes in gleichem Verhältnis wie die Plasmolyse emporgeht. Diese Substanzen, die in das Koagulum übergehen, sind eben dieselben, die bakteriolytisch wirken, vorausgesetzt, daß sie in Lösung gehen können; in diesem Falle vermögen sie es nicht oder nur sehr wenig, und daraus resultiert die geringe bakterizide Kraft des Serums. Bei näherem Zuschauen sieht man auch ein, daß in gleichem Maße wie die bakteriolytische Kraft des strömenden Blutes wächst, die des Serums *in vitro* sinken muß, solange nicht die Enzyme des Gerinnsels wieder aufgelöst sind.

Wenn nun auch in der ersten Zeit die bakteriolytische Kraft des Kaninchenserums geringer ist als unter normalen Verhältnissen, so erlangt es doch nach Verlauf einiger Tage eine starke Energie in Berührung mit dem Koagulum, denn es besitzt die Eigenschaft des WiederauflöSENS in stärkerem Grade, wie das Hundeserum. Durch Mazeration mit der NaCl-Fluornatriumlösung bildet sich nach Ablassen des Serums eine äußerst wirksame Flüssigkeit. Das Gleiche ist bei dem Hundeserum der Fall, bei dem es nach Kochsalzinjektion zu einer Plasmolyse gekommen ist. Wäre es nun möglich, die Gesamtmenge der bakteriolytischen Enzyme bei diesen oder jenen Tieren zu bestimmen, so würden wir finden, daß sie in einem ganz bestimmten Verhältnis zur Plasmolyse steht. Da diese theoretischen Ausblicke sich praktisch nicht verwirklichen lassen, so müssen wir uns mit dem experimentellen Nachweis begnügen, daß ein Vergleich der Resultate aus normalem Kaninchen- und Hundeserum mit dem bei beiden Tieren durch Kochsalzinjektion gewonnenen, in letzterem Falle unter gleichen Voraussetzungen, eine stärkere bakteriolytische Energie erkennen läßt.

#### Schl u ß b e m e r k u n g e n .

Fassen wir jetzt ganz kurz die Hauptgesichtspunkte unserer Arbeit zusammen, so sehen wir, daß die Injektion mit Kochsalzlösung in großen Dosen die Widerstandskraft des Kaninchens gegen eine Milzbrand- oder Streptokokkeninfektion steigert. Das Gleiche dürfte bei anderen Infektionen der Fall sein. Man kann anfangs noch die Vorstellung haben, daß ein solches Phänomen etwas ganz Unglaubliches und Wunderbares darstellt. Forschen wir aber eingehend nach dem Zustandekommen der Erscheinung, so finden wir sie in der physiologischen Wirkung der Koch-



salzinjektionen begründet. Diese machen im Zellplasma eine Menge Alexine frei, die die bakterizide Kraft der Flüssigkeiten steigern und das Plasma unter Bedingungen stellen, welche im Falle einer gesteigerten Löslichkeit der Plasmen den Organwiderstand steigern. Wir setzen also voraus, daß die Plasmen aller Organe *in vitro* bakterizid wirken, vorausgesetzt, daß sie in Lösung gehen. Es ist dies ein so überaus klares Faktum, daß wir eine experimentelle Widerlegung für unmöglich halten. Auch die Steigerung des Organwiderstandes erklärt sich dann zur Genüge aus der plasmolytischen Wirkung der Kochsalzinjektion. Wir wollen offen anerkennen, daß die erste Entdeckung dieser Wirkung nicht von uns stammt; Ein unbestimmtes Gefühl lag sozusagen in der Luft, wie es in der Wissenschaft bei Wahrheiten der Fall zu sein pflegt, die, bereits für eine Veröffentlichung reif, nur noch einer definitiven Ausgestaltung bedürfen. Wir haben uns nur darauf beschränkt, sie von einem neuen Gesichtspunkte aus zu studieren und zu beweisen, indem wir sie mit den physiologischen Vorgängen bei der natürlichen Immunität in Beziehung brachten. Wir haben dabei gesehen, daß im Organismus ähnliche Prozesse vorkommen, wie *in vitro* bei Mazeration der Milzpulpa oder des Nierenparenchyms, die nur dann eine bakteriolytische Tätigkeit entfalten können, wenn sie löslich sind. Die natürliche Immunität — worunter wir den Gesamtwiderstand verstehen, den der Organismus einer Infektion entgegenstellt, nicht bloß sein refraktäres Verhalten — wird in letzter Linie verursacht durch den Mechanismus, welcher die Löslichkeit und damit die Aktivität der mit bakteriolytischen Eigenschaften ausgestatteten Plasmen besorgt. Das Meerschweinchen bildet für den Milzbrand einen nicht gerade guten Nährboden: Es setzt der Einwirkung des gefährlichen Parasiten einen schwachen, aber nachdrücklichen Widerstand entgegen. Schon stärker ist dieser beim Kaninchen. Er wächst beim Rinde und steigt graduell beim Ochsen und beim Menschen, um seinen Höhepunkt beim Hunde zu erreichen. Der geschilderte Grad der Immunität resp. die Verteidigungsmittel des Organismus sind im Grunde genommen abhängig von der bakteriolytischen Kraft der Zelle, und diese Kraft steht in direktem Verhältnis zur Löslichkeit: Wenn ein Gewebe seine Konsistenz vermehrt, dergestalt, daß seine Enzyme nur wenig diffusionsfähig sind, so verringern sich seine Verteidigungsmittel; gerinnt es ganz, so sind sie gleich null, und das Gewebe bleibt schutzlos. Wenn dagegen nichts die osmotische Kraft des Zellplasmas einschränkt, wenn es mit Leichtigkeit an die Körpersäfte mit proteolytischen Eigenschaften ausgestattete Substanzen abgibt, so werden sich nur schwer Infektionserreger in den Geweben ansiedeln und sich nur schwer in den Flüssigkeiten entwickeln können, wenn nur die bakteriziden Kräfte in direktem Verhältnis zur physiologischen Energie der Stammzellen stehen. So sehen wir denn, daß, wenn man künstlich die Löslichkeit des Kaninchenplasmas steigert, das Tier sich, solange der experimentelle Eingriff vorhält, dem Milzbrand gegenüber wie der Hund verhält. Ist die Wirkung des Eingriffes erloschen, so unterliegt das Kaninchen, während der Hund außerordentliche Verteidigungsmittel besitzt, leicht, indem es wieder seinen normalen physiologischen Tonus einnimmt.

Im Grunde genommen, ist der Mechanismus der natürlichen Immunität gerade das Gegenteil vom Mechanismus der Infektion; es sind zwei ganz entgegengesetzte Prozesse, denn der Organismus wird infiziert durch seine Koagulationsfähigkeit und verteidigt sich durch sein Lösungsvermögen.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber ein gastrotoxisches Serum, mit einem Studium des Chemismus des Magens und der von diesem Gastrotoxin veranlaßten histologischen Veränderungen.

[Aus dem Institute für Pathologie und Bakteriologie zu Bukarest  
(Direktor: Prof. Dr. V. Babes).]

Von

**A. Theohari,**  
ao. Professor der internen Pathologie  
an der Universität zu Jassy.

**A. Babes,**  
Professor der Chemie, Vorstand der  
chemischen Abteilung am Institute für  
Pathologie und Bakteriologie zu  
Bukarest.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Die Hauptzellen zeigen keine auf den Kern bezügliche sichtbare Veränderung, nur das Cytoplasma ist je nach den Fällen mehr oder weniger verändert. Bei manchen Tieren fehlen die Basalfäden, die Hauptzelle ist auf das Netzwerk verringert, das aber den ganzen Zellkörper einnimmt. Der Inhalt der Maschen ist klar. Die Doppelfärbung mittels saurem Safraninviolett zeigt die Abwesenheit der pepsinogenen Granulationen. An anderen Schleimhäuten ist die Strukturveränderung der Hauptzellen weniger deutlich, oder aber dieselbe ist allein auf eine bestimmte Anzahl von Hauptzellen beschränkt.

Im Drüsenlumen finden sich Spirillen, die übrigens auch im Innern der Randzellen vorhanden sind, während wir dieselben nicht ein einziges Mal im Innern der Hauptzellen nachweisen konnten.

Stärker als in der Magenschleimhaut ist die Kongestion in der Gegend der Dünndarmschleimhaut. Die Kapillaren sind stark erweitert; man sieht zahlreiche Gefäßrisse, insbesondere in der Gegend der gereizten Zotten. Die eingehendere histologische Untersuchung zeigt das Vorhandensein einer großen Menge mononukleärer Leukocyten in der Dicke der Schleimhaut; es sind hier nur wenig polynukleäre und nur etliche eosinophile Zellen.

Die intravenöse Einspritzung des schwachen gastro-toxischen Serums von der Ziege No. 3 lieferte die folgenden, kurz zusammengefaßten Ergebnisse: In einem Fall (Hund No. 22) veranlaßte eine einzige Einspritzung dieses Serums —  $4\frac{1}{2}$  ccm pro kg Tier — nach 5 Tagen den Tod des Tieres, bei welchem subakute Läsionen von hämorrhagischer Gastroenteritis gefunden wurden. In anderen Fällen (die Hunde No. 23, 24 und 25) bekamen die Tiere je zwei aufeinanderfolgende, durch 3—4-stündige Zwischenräume getrennte intravenöse Einspritzungen. Die niedergeschlagen hockenden Tiere hatten Erbrechen und Durchfall und zeigten, nachdem sie getötet wurden, sowohl im Magen wie im Darne eine große Menge Flüssigkeit und Schleim. Die Schleimhaut war ein wenig kongestioniert.

Die histologische Untersuchung der großen Blindgasse zeigt folgende Umwandlungen in der feinen Struktur der Drüsenzellen: Die Hauptzellen, deren Höhe stark verringert ist, haben einen gegen die Basis der Zelle zurückgedrängten Kern. Ihr Cytoplasma ist durch ein maschiges Netzwerk vertreten, dessen Inneres getrübt ist. Längs des Netzes sieht man fuchsinophile Granulationen in Kettenform. Im Innern der Maschen

sowohl wie im Innern der Drüsenlumina findet sich eine große Menge pepsinogener Granulationen, die mittels des sauren Fuchsinviolettverfahrens gut sichtbar werden.

Infolge der geringen Höhe der Hauptzellen, die keine Basalfäden zeigen, ist das Lumen der Drüsen recht beträchtlich (Fig. 4 und 5).

Infolge der Häufung der Granulationen an deren Peripherie erscheinen die Randzellen in der Form eines dünnen, mittels sauren Fuchsin gefärbten Randes, der einen hellen zentralen, ungefärbten Raum begrenzt. Der Kern ist ebenso wie die Granulation an die Peripherie geschoben. An einigen gelungenen Präparaten ist man im stande, das Sekretionsrohr einer Randzelle zu betrachten (Erik Müller), das zwischen den Hauptzellen bis zum Drüsenlumen verfolgt werden kann.

Die von uns angestellten Versuche, um die Eigenschaften des Serums gegen die Magenschleimhaut festzustellen, gestatteten uns, gleichzeitig die sichtbare Schwankung der Wirkung dieses Serums zu erkennen. Das, was verschiedene Forscher betreffend anderer anticellulären Sera festgestellt haben, gilt ebensogut auch für unser gastrotoxisches Serum. Nach 2maliger Einspritzung der Hundemagenschleimhaut bei der Ziege, mit einem Zwischenraum von 7—15 Tagen von der einen Einspritzung zur anderen, ist das Serum der Ziege bereits giftig; nach der 3. Einspritzung ist dasselbe sehr giftig und noch giftiger nach der 4. Annähernd 7 Wochen nach der letzten Schleimhauteinspritzung beginnt das Serum rasch schwächer zu werden. Dieses nun wirksam gewordene Serum erlangt von neuem eine noch größere Giftigkeit als zu Beginn, wenn neuerlich 3 Einspritzungen gemacht werden. Es erinnert dies an die ähnlichen von Calmette am hämolytischen Serum beobachteten Tatsachen.

Die im vorhergehenden geschilderten Tatsachen zeigen, daß wir tatsächlich ein spezifisches Serum gegen die Schleimhaut erzielt haben. Es ist dies Serum nur für die Hundespecies spezifisch, denn die intravenöse Einspritzung an Katzen lieferte keinerlei Erscheinungen. Das schwache gastrische Cytolysin reizt die Drüsensekretion des Magens und stimmt dies mit der von Cantacuzène (10), betreffend das Hämolysin, beobachteten Tatsache überein. Wir waren im stande, genau die feine Struktur der Magendrüsenzellen in der vom schwachen gastrotoxischen Serum veranlaßten Hypersekretion zu geben; die Zellmorphologie kann durchaus jener angereicht werden, die wir (20) als Folge der Pilocarpinjektionen feststellen konnten. Es ist schwierig, in dieser Arbeit in Einzelheiten einzuzugehen, namentlich über einen Gegenstand, den einer von uns bereits bearbeitet hat, und zwar bei Gelegenheit der Erforschung der freien Struktur der Magendrüsenzellen im Zustande der Ruhe und jener der Sekretionstätigkeit. Wir beschränken uns darauf, zu behaupten, daß in der sehr aktiven Hypersekretion die Hauptzellen sich mit pepsinogenen Granulationen anfüllen. Die Basalfäden sind nicht sichtbar, und zwar infolge deren sofortiger Umwandlung in neutrophile, pepsinogene Granulationen, indem sie durch ein Zwischenstadium von Kettchen acidophiler Granulationen passieren. Die erschöpften Hauptzellen, deren Höhe verringert ist, enthalten dann weniger Profermentgranulationen. Das recht beträchtliche Drüsenlumen enthält oft pepsinogene Massen. Die Randzellen mit deren hellem Zentralraum, deren Granulationen und den an die Peripherie geschobenen Körnern, mit dem weit klaffenden Sekretionskanal — was an bestimmten Zellen

wohl sichtbar ist — machen dann den Eindruck, als ob sie durch Flüssigkeit übermäßig ausgedehnt wären. In einigen Randzellen, dort wo die acidophilen Granulationen nur noch mittels einer dünnen roten Linie vertreten sind, hat man den Eindruck, daß man nicht nur eine Sackung, sondern sogar eine Verschmelzung einer Anzahl von Granulationen vor sich hat.

Durch das von uns beschriebene zellige Aussehen wird festgestellt, daß der Magen von einer großen Flüssigkeitsmenge ausgefüllt ist, die die Eigenschaften eines sehr wirksamen Magensaftes bietet.

Es ist also unzweifelhaft, daß das schwache gastrische Cytolysin die Magensekretion anregt; wir gaben das morphologische Substrat dieser sekretorischen Reizung.

Die massiven intravenösen Einspritzungen des gastrotoxischen Serums bei Hunden haben, wie wir gesehen haben, den beinahe blitzartig in wenigen Minuten eintretenden Tod des Tieres zur Folge. Die makroskopische Untersuchung der Organe zeigt das Vorhandensein einer stark ausgesprochenen Kongestion der Schleimhaut des Magenblindsacks und des Dünndarms, weniger kongestioniert ist die Schleimhaut des Pylorus. Die dunkel- oder bläulichrote Färbung des Dünndarms erstreckt sich bis zur Ileocökklappe. Die gegen den Dickdarm gerichtete Klappenfläche ebensowohl wie der Rest der Schleimhaut dieses Darmgewebes zeigt normale Färbung.

Das in geringen Mengen eingespritzte aktive, gastrische Cytolysin liefert dieselbe Kongestion der Schleimhaut des Magens und jener des Dünndarms bei der Ileocökklappe, zu der sich noch starke Darmblutungen gesellen. Die histologische Untersuchung zeigt in den Fällen raschen Todes Läsionen entlang den Randzellen, namentlich an der Schleimhautoberfläche. In jenen Fällen, in welchen das Tier einige Stunden überlebte, sind die mikroskopischen Veränderungen der Magenschleimhaut stark ausgesprochen. Wir wollen dieselben hier noch einmal kurz erwähnen. Man findet eine starke allgemeine Erweiterung der Kapillaren, die an einigen Stellen eingerissen sind. Die Kongestion ist noch ausgesprochener in der Gegend des Dünndarms und die Kapillareintrisse sind zahlreich an den Darmzotten. An der Pylorusschleimhaut ist keine sichtbare Kongestion vorhanden, ebensowenig an der Dickdarmschleimhaut. Die Alterationen finden sich namentlich an den Randzellen, deren normale acidophile Granulationen aufgelöst oder nur verwischt sind; in einer großen Anzahl dieser Zellen zeigt der Kern ein homogenes Aussehen; derselbe zeigt eine zwischenstufige Färbung von Hämatein und saurem Fuchsin. Im Innern vieler dieser Randzellen findet man Spirillen; auch im normalen Zustande finden sich zahlreiche Spirillen an der Schleimhautoberfläche des Hundemagens, ja man findet dieselben selbst in den Drüsenlumina in größerer oder geringerer Anzahl; allein wir sahen dieselben nie im Innern der normalen Randzellen. Unter dem Einfluß des gastrotoxischen Serums tritt eine chemische Aenderung der Zellen ein, die wahrscheinlich auf die Spirillen eine chemotaktische Wirkung ausüben. Diese geringfügige interessante Tatsache, das Vorhandensein von Spirillen in den Randzellen, beobachteten wir in sämtlichen Fällen, in welchen das Tier die Einspritzung des gastrischen Cytolysins um einige Stunden überlebte.

Die Hauptzellen bieten weniger beständige Strukturveränderungen

als die Randzellen. Man findet, aber nicht immer, Hauptzellen ohne Basalfäden, ohne pepsinogene Granulationen, die nicht mehr als ein einfaches Reticulum darstellen. Bemerkenswert ist, daß im interglandulären Gewebe keine Leukocyten auftreten, trotz der beträchtlichen, bereits beschriebenen Erweiterung der Kapillaren.

In der Gegend des Dünndarms finden sich viele mononukleäre Leukocyten. An manchen Stellen zeigen die Drüsengewebe das Aussehen einer funktionellen Ueberarbeitung oder selbst Entartungsläsionen.

Die an dem Verdauungskanal des Hundes infolge der Einspritzung von gastrischen Cytolysin beobachteten Erscheinungen zerfallen in zwei Reihen: Die einen stimmen überein mit unserem Wissen von den Cytolysinen im allgemeinen, die anderen hingegen sind schwerer zu deuten.

Die durch das schwache Gastrotoxin erzielte Sekretionssteigerung, sowie die von dem starken Serum veranlaßten Entartungsläsionen sind Dinge, die sich im voraus erwarten ließen. Wir bemerken hier noch einmal, daß, was die Randzellen betrifft, die degenerativen Läsionen unbestreitbar sind. Was aber die Hauptzellen angeht, so sagten wir schon oben, daß Läsionen nicht immer angetroffen werden, doch trifft man Zellen, die auf einfaches Reticulum reduziert sind. Allein, haben dieselben infolgedessen die Eigenschaft, Basalfäden zu erzeugen und Ferment abzusondern, eingebüßt? Ist deren Strukturänderung bleibend? Es ist dies eine Frage, auf die nicht durchaus bejahend geantwortet werden kann. Frühere Feststellungen ermächtigen uns trotz alledem anzunehmen, daß, wenn das Schwinden der Basalfäden einige Zeit gedauert hat, die Eigenschaft, Pepsin zu erzeugen, für die Hauptzellen ein für allemal verloren gegangen ist.

Neben diesen Feststellungen sind in unseren Versuchen noch andere vorhanden, die schwerer zu deuten sind. Wir haben gesehen, daß stets infolge der intravenösen Einspritzung des starken Cytolysins eine starke Kongestion auftritt mit Läsionen entlang der Schleimhaut des großen Blindsacks des Magens sowie an der Schleimhaut des Dünndarms; am Dickdarm ist nichts ähnliches beobachtet worden.

Diese Tatsache zeigt, daß vom funktionellen Gesichtspunkte aus ein inniges Verhältnis vorhanden ist zwischen der Schleimhaut der peptischen Region und jener des Dünndarms. Dieses Verhältnis besteht wohl darin, daß in der Schleimhaut dieser beiden Regionen chemisch gleichartige Substanzen vorhanden sind. Bei dem gegenwärtigen Zustande unserer Kenntnisse ist es nicht möglich, die Natur dieser gleichartigen Substanzen festzustellen, ob sich dieselben im Innern der Zellen befinden, oder aber Sekretionsprodukte darstellen. Das durch die Einspritzung des Gastrocytolysins veranlaßte Auftreten von Darmläsionen, die stets auf den Dünndarm beschränkt sind, bildet eine interessante Erscheinung, die sich nicht im voraus bestimmen läßt. Es beweist dies noch einmal den wesentlichen Unterschied zwischen Dünn- und Dickdarm, insofern es sich um deren Funktion handelt. Dieser letztere Abschnitt des Verdauungskanales bildet wohl bloß ein Reservoir für die Speiseabfälle, der auch fehlen könnte, wie dies jüngst von Metschnikoff behauptet wurde.

Schließlich wollen wir noch einige Worte über den Tod der Hunde

unter dem Einfluß des Gastrocytolysins hinzufügen. Es scheint unzweifelhaft, daß mittlere Dosen den Tod binnen wenigen Stunden durch Darmblutungen verursachen. Bei den großen Dosen, die den Tod innerhalb weniger Minuten eintreten lassen, handelt es sich wahrscheinlich um ein Serum, das für mehrere Gewebe toxisch ist; denn wenn man einem Hunde subkutan Hundemagenschleimhaut injiziert, so werden demselben nicht nur Drüsenzellen, sondern sämtliche Elemente einverleibt, die diese Schleimhaut bilden.

Indem wir nun im Besitze dieses spezifischen Serums gegen die Schleimhaut des Magenblindsacks waren, dessen Eigenschaften wir nun studiert haben, versuchten wir durch dessen Vermittelung chronische Läsionen der Magenschleimhaut zu erzielen. Einer von uns beschäftigte sich schon seit langem damit, auf experimentellem Wege Läsionen der Magenschleimhaut zu erzielen, und zwar um uns darüber klar zu werden, ob es möglich ist, ein sichtbares Verhältnis zwischen dem histologischen Typus der Schleimhaut auf der einen Seite und dem Chemismus des Magens auf der anderen festzustellen.

Wir glaubten, daß es mit Hilfe unseres spezifischen Serums gegen die Magenschleimhaut gelingen könnte, auf sichere Weise eine Reihe von Magenläsionen zu erzielen.

Wir haben bereits an einer anderen Stelle dieser Arbeit bemerkt, daß die wiederholten Einspritzungen des gastrotoxischen Serums zum Zwecke der Erzeugung chemischer Läsionen uns neben interessanten Tatsachen auch zahlreiche unerwartete Resultate geliefert haben. Die intravenöse Einspritzung wiederholter geringer Dosen wird vom Tiere gut vertragen; es zeigen sich keine deutlichen klinischen Erscheinungen. Vielmehr zeigt das Tier, dem wiederholt steigende Dosen Serum einverleibt wurden, Erbrechen, etwas blutige Diarrhöe, eine Uebergangsänderung seines Magenchemismus, der aber trotzdem normale Ziffern liefert. So geschah es mit dem Hunde No. 27, der infolge wiederholter Einverleibung von Gastrocytolysin dahin gelangt war, große Serumdosen zu vertragen, während andere, an das Serum nicht gewöhnte Tiere verendeten, das organisch gebundene Chlor, das ursprünglich 164 betrug, sank auf 31, um dann von neuem auf 124 zu steigen. An anderen Tieren zwang uns, wie wir dies bereits erwähnten, das Oedem oder die Eiterung der Halsgegend, die Einspritzungen wider unseren Willen in großen Zwischenräumen zu machen. Unter diesen Umständen hätte die Einspritzung einer etwas größeren Serumdosis den Tod des Tieres zur Folge haben können.

Infolge dieser beiden Tatsachen waren viele unserer Versuche zur Erzeugung chronischer Läsionen fruchtlos geblieben.

Die wenigen positiven Tatsachen, die wir zu beobachten im stande waren, sind zweierlei Art: Bei den einen ist die Magensekretion gesteigert, bei den anderen sind die Werte des Magenchemismus viel niedriger.

Die sekretorische Reizung ist unter zwei verschiedenen Umständen beobachtet worden, infolge subkutaner und nach intravenösen Einspritzungen.

Von 3 Tieren (Hund No. 3, 4 und 5), die wiederholte subkutane Einspritzungen von Cytolysin bekommen hatten, bot nur eins (Hund

No. 3) eine deutliche, dauernde, sekretorische Reizung; der Hund No. 5 hatte eine leichte Steigerung der freien Salzsäure (14 anstatt 0).

Der Hund No. 3 zeigte infolge der Einspritzung eine äußerst starke Gefräßigkeit; die Salzsäure steigt von 0 vor dem Versuch auf 73 und dann auf 84 mg (in 100 ccm Magensaft). Die sezernierte Flüssigkeit war sehr reichhaltig infolge der Einspritzungen.

Die histologische Untersuchung zeigt eine drüsenreiche Schleimhaut, die Drüsen sind übereinander geschichtet. Allein es handelt sich nicht um Zellwucherungen, um drüsige Neubildungen, indem man hier keine Zeichen von Kernteilung wahrnimmt, die sonst vorhanden sein müßten. Außer einigen Entartungsläsionen in einer geringen Anzahl Randzellen (die spirillenhaltig sind, Fig. 15), zeigen die Magenschleimhautschnitte Zeichen funktioneller Reizung (Fig. 14). Dieselbe äußert sich durch einen geringen hellen Raum um den Kern der Randzellen, durch Hauptzellen mit stark verringertem Basalteil, infolge der aktiven Umbildung der Basalelemente in acidophile Granulationen, schließlich durch dicke neutrophile Pepsinogengranulationen. Das Aussehen der Randzellen ist nicht das gleiche, entspricht aber beiläufig jenem nach Injektion von Pilocarpin oder nach intravenöser Einspritzung schwachen Gastrocytolysins (Hunde No. 23, 24, 25; Fig. 4 u. 5). Das Aussehen ist dasselbe, aber etwas gemildert.

Unter den zahlreichen Tieren, an denen wir die wiederholten intravenösen Einspritzungen des gastrischen Cytolysins vorgenommen haben, sind 2 vorhanden, die eine sekretorische Reizung aufwiesen (Hund No. 29 und 34). Die nach 55 Minuten erhaltene Flüssigkeit war sehr reichlich und der Wert der freien Salzsäure war auf 80 gestiegen, während derselbe vor dem Versuch gleich 0 war. Die histologische Untersuchung zeigt ein gleiches Aussehen wie die Schleimhaut des Hundes No. 3; dasselbe Verhalten der Haupt- und Randzellen, deren heller Zentralraum sehr ausgesprochen ist. Verschieden sind mehrere DrüsenSchläuche, die viel geräumiger sind als in der Schleimhaut des infolge der subkutanen Injektion hyperchlorhydriisch gewordenen Hundes.

Infolge der intravenösen Gastrocytolysineinspritzungen erzielten wir noch bei einem Hunde (No. 34) die sekretorische Reizung. Wie man dies im Abschnitte sehen kann, wo wir unsere Versuche näher beschrieben haben, stieg der Wert der Salzsäure, die wir nach der Methode Hayem-Winters bestimmten, von 0 auf 7. Uebrigens waren sämtliche Werte gesteigert, mit Ausnahme des fixen Chlors. Dosierte man die ungebundene Salzsäure bei Gegenwart von Phloroglucin-Vanillin (Methode Mintz), so erhöht man die Ziffer auf 95 mg HCl auf 100 ccm Magensaft. Dieses Nichtübereinstimmen stellt uns wieder vor die Frage nach der besten Methode zur Bestimmung des Magenchlors. Die Methode Hayem-Winter ist recht gut, wenn es sich darum handelt, die Gesamtmenge des Chlors (T) und des fixen Chlors (F) zu bestimmen, sie gibt jedoch zu niedrige Werte, wenn es sich um die ungebundene Salzsäure handelt und hat alsdann stark erhöhte Werte für die organisch gebundene Salzsäure zur Folge. Wir können hier nicht näher auf diese Frage eingehen und beschränken uns auf folgende Bemerkung: Wenn es gewiß ist, daß die Methode Hayem-Winter<sup>1)</sup> zu niedrige

1) Die Methode Hayem-Winter ist unfehlbar, solange im Magensaft keine freie Salzsäure vorhanden ist.

Werte für das ungebundene HCl gibt, so ist es ebensowenig bewiesen, ob nicht die Methode Mintz zu hohe Werte liefert. In der Tat ist es wahrscheinlich, daß die lockeren Verbindungen der Salzsäure mit organischen Substanzen bei Vorhandensein des Günzberg'schen Reagens auch die Purpurfärbung geben. Man kann also diese lockeren Bindungen ebenso wie die ungebundene Salzsäure als solche ansehen und dosieren; dies alles zeigt die Pupurreaktion bei Vorhandensein von Phloroglucin-Vanillin. Diese Frage des Magenchemismus wird von einem von uns in einer besonderen Arbeit klargestellt werden. Vorderhand schlagen wir auf Grund unserer Versuche folgendes Verfahren für die Dosierung der Magenchlorüre vor, das unserer Ansicht nach, wenn auch nicht das beste, so doch das minder schlechte ist:

Die kleine, von uns vorgeschlagene Aenderung besteht im folgenden: Man dosiert die Gesamtmenge des Chlors (Kapsel *a*) und das fixe Chlor (Kapsel *b*) genau so, wie in der Methode Hayem - Winter. Die Kapsel *b* wird ausgeschaltet. Andererseits wird in 5 ccm filtrierten Magensaftes die ungebundene Salzsäure nach der Mintz'schen Methode dosiert. Diese letztere Ziffer, die der Ziffer des fixen Chlors hinzugefügt wird, dann zusammen von dem Werte des Gesamtchlors abgezogen, gibt die Menge des organisch gebundenen Chlors. Außerdem können die 5 ccm, die zur Dosierung der freien Salzsäure gedient haben, noch zur Bestimmung der Gesamtsäure verwendet werden. In der Tat, wenn die Purpurreaktion sich nicht mehr erzielen läßt, gießt man Phenolphthalein hinzu und fährt fort, mit  $\frac{1}{10}$ -Natronlauge zu titrieren. Die ausschließlich erhaltene Ziffer, die der Ziffer der HCl hinzugefügt wird, gibt notgedrungen die Gesamtsäure des Magensaftes.

Dies ist das Verfahren, das wir zur Dosierung der Magenchlorüre verwenden. Es bietet dasselbe den beträchtlichen Vorteil, daß es eine vollständige Analyse des Magensaftes an sehr geringen Flüssigkeitsmengen möglich macht.

Indem wir nun diese lange Parantese schließen, bemerken wir noch einmal, daß die wiederholten Einspritzungen der Cytolysine es uns gestattet, bei Hunden eine Hyperchlorhydrie hervorzurufen.

Diese Sekretionssteigerung der freien Salzsäure hat als morphologisches Substrat den klaren Zentralraum der Randzellen mittels Anhäufung von Flüssigkeit an ihrer Gesamtausdehnung, sowie die sehr aktive Umbildung der Basalfäden in den Hauptzellen mit pepsinogener Granulation.

Die Hyperchlorhydrie ist hier nicht eine Folge der Wucherung bestimmter Zellelemente, sondern, wie die mikroskopische Untersuchung deutlich zeigt, haben wir es hier mit einer funktionellen Reizung der Rand- und Hauptzellen zu tun.

Es ist schwer, den experimentellen Determinismus festzustellen, der das Hervorbringen einer dauernden sekretorischen Reizung veranlaßt, ohne Einfluß des Gastrolsins. Versetzt man sich unter gleiche experimentelle Verhältnisse, so erzielt man manchmal Hyperchlorhydrie, manchmal aber ist dieselbe nicht zu beobachten.

Die zahlreichen von einem von uns über die Magenschleimhaut des Hundes angestellten Versuche haben uns zur Ueberzeugung geführt, daß nicht zwei Schleimhäute vorhanden sind, die sich ähnlich verhalten



sowohl in Betreff der Anzahl der Drüsen einer Präparatoberfläche, wie der Zahl der Zellen in jeder Drüse.

Die Tatsachen, die wir beobachten konnten, führen uns zur Annahme, daß ein Hund, wenn er hyperchlorhydrisch werden soll, schon vor den Versuchen eine drüsenreiche Schleimhaut besitzen müsse.

Diese auf das histologische Substrat der Hyperchlorhydrie Bezug habenden Feststellungen bieten eine gewisse prinzipielle Wichtigkeit. Sie beweisen, daß die gesteigerte Absonderung der Salzsäure eine funktionelle Störung sein kann, ohne Vorhandensein von Gastritis. In diesem Falle war die Zellreizung durch das spezifische Serum gegen die peptischen Zellen hervorgerufen worden. Es handelt sich also wahrscheinlich um eine direkte Wirkung auf die Haupt- und Randzellen. In anderen Fällen ist die Zellreizung — wie beim Menschen — entweder die Folge von Substanzen, die eine gesteigerte Magensekretion veranlassen, oder aber einer Sekretionsneurose des Magens. Bekannt ist der von Oesterreich beschriebene Fall, in welchem der Pat. während des Lebens deutliche Hyperchlorhydrie aufwies, während bei der Leicheneröffnung nicht die geringste Veränderung der Magenschleimhaut nachgewiesen werden konnte. Es bedeutet dies, daß keine groben Veränderungen vorhanden sind, indem die funktionellen Umwandlungen, ähnlich denjenigen, die wir vorhergehend beschrieben, nur an experimentellen Präparaten beobachtet werden können, an Tieren die geopfert und mittels cytologischer Methoden behandelt wurden.

Die hier mitgeteilten Tatsachen stimmen mit der Annahme zahlreicher Kliniker überein, welchen zufolge die Hyperchlorhydrie eine einfache funktionelle Störung sein kann.

Allein Drüsen, die sich in fortwährender, dauernder Hypersekretion befinden, sind im stande, Veränderungen einzugehen — so wie dies seit langem von Wundt an den Speicheldrüsen nachgewiesen worden ist.

Ebensowenig kann die Möglichkeit einer mit Hyperchlorhydrie vergesellschafteten Gastritis geleugnet werden, wodurch dann die hyperpeptische Gastritis Hayems (23), die saure Gastritis Boas (24), der saure Katarrh Kaczinskis und Jaworskis (25) zu stande käme. Tatsächlich ist es nicht zu verwundern, daß unter dem Einfluß einer länger dauernden Zellreizung, beziehungsweise von Substanzen, die dieselben veranlassen, Zellentartungen entstehen mit Leukocytenandrang und Reaktion des Bindegewebes. Allein das ist hier nur eine Möglichkeit. Die Hyperchlorhydrie ist nicht an eine Wucherung oder an ein Schwinden bestimmter Zellelemente gebunden. In der Tat genügt die tiefe Entartung der Hauptzellen mit Fortbestand der Randzellen nicht, um die Hyperchlorhydrie auftreten zu lassen, wie wir dies oben (Hund No. 28) bereits dargelegt haben.

Andererseits ist es recht schwierig, die Wucherung der Haupt- und Randzellen zu behaupten, noch mehr aber eine mögliche Vermehrung der Drüsenschläuche des Magens anzunehmen. Tatsächlich sah man nie Mitosen (und wir sahen dieselben ebensowenig) in diesen so stark differenzierten Elementen, während man dieselben wohl in den Schleimhautzellen der Oberfläche findet und wir selbst sie in der alkoholischen Gastritis beschrieben haben. Diese Tatsachen zusammen mit der äußersten Variabilität der histologischen Typen von einem Individuum zum andern — wie wir dies bereits erwähnt haben — lassen die Wuche-

rung bestimmter Zellarten als Ursache der Hyperchlorhydrie problematisch erscheinen.

Schließlich wiederholen wir, daß das Zusammentreffen von Hyperchlorhydrie und Gastritis nur eine Möglichkeit ist. Unserer Ansicht nach ist die Hyperchlorhydrie auf eine sekretorische Reizung der Magendrüsen zurückzuführen, wobei die Reizung in jeweiligem Falle auf verschiedenen Ursachen beruhen kann. Wir bewiesen die feine Struktur der Haupt- und Randzellen bei der Hyperchlorhydrie und meinen, daß dies zum ersten Male geschehen ist (26).

Die Sekretionsverringering unter dem Einfluß des Gastrolysin ist an mehreren Tieren infolge wiederholter intravenöser Einspritzungen beobachtet worden (Hunde No. 26, 27, 28, 30, 33). Bevor wir die Tatsachen, die sich auf diese experimentelle Hyposekretion beziehen, zusammenfassen, wollen wir bemerken, daß wir den Wert des organisch gebundenen Chlors als Kriterium ansehen, indem beim normalen Hund die freie Salzsäure gleich 0 ist.

An einem unserer Tiere (Hund No. 26) konnten wir zu zwei verschiedenen Malen feststellen, daß infolge der Einspritzungen die Menge des organisch gebundenen Chlors auf die Ziffer 0,072 gesunken war; vor der Anstellung des Versuches betrug die Menge des organisch gebundenen Chlors 0,156 (Milligramm auf 100 ccm Magensaft), nach der Hayem-Winterschen Methode berechnet. Leider konnten wir in diesem Falle nicht eine histologische Untersuchung der Schleimhaut vornehmen.

Ein anderes Tier (Hund No. 27), das dahin gelangt war, größere Mengen von in die Venen eingespritztem gastrotoxischem Serum vertragen zu können, hatte ursprünglich 0,164 organisch gebundene Salzsäure. Infolge der Einspritzung sank dieselbe auf 0,031, allein nach 8 Tagen betrug die Chlormenge 0,124.

Der Hund No. 28 zeigte eine Verringerung des organisch gebundenen Chlors: 0,176 vor den Versuchen, 0,049 nachher. Unter anderem fanden wir hier eine tiefgehende Veränderung der Magenschleimhaut (Fig. 16 und 17). Ohne auf die bereits geschilderten Einzelheiten einzugehen, erinnern wir, daß es zuerst den Anschein hatte, als ob die Magendrüsen nur aus Randzellen beständen. Mittels Immersion ließ sich feststellen, daß die, was ihre Höhe betrifft, stark verringerten Hauptzellen nicht mehr ein Cytoplasma mit seiner normalen Struktur aufwiesen. An vielen Stellen sind diese Zellen stark zurückgebildet, so daß nur mehr eine dünne Membran vorhanden ist, die einen scheinbar cystischen Raum umschließt, zahlreiche Spirillen enthaltend. Die scheinbar normalen Randzellen sind von dem Drüsenlumen nur durch eine dünne Zellschicht getrennt, die sich an manchen Stellen nur als dünne Membran darstellt; dieselbe ist das Ueberbleibsel der Hauptzellen. Außerdem ist hier Bindegewebsverdickung vorhanden mit Anwesenheit von mononukleären Leukozyten, insbesondere in der Tiefe der Schleimhaut.

Zwei andere Tiere (Hund No. 30 und 33) boten gleichfalls Sekretionsverringering: 0,058 statt 0,153 in dem einen, 0,059 statt 0,141 im anderen Falle. In diesen beiden Fällen gab es eine unbedeutende Anzahl veränderter Randzellen, namentlich an der Oberfläche der Schleimhaut; die

übrigen sind normal. Was aber die Hauptzellen betrifft, so waren sie in dem einen Falle (No. 30) größtenteils bis auf das Reticulum zurückgebildet, sie konnten also nicht pepsinbildend sein. Im anderen Falle (No. 33) bot der größte Teil dieser Hauptzellen ein durchaus normales Aussehen; das Tier war von einer mehrere Tage dauernden blutigen Diarrhöe stark geschwächt.

Wir müssen uns nun die Frage vorlegen, welche Beziehung vorhanden ist — wenn eine solche überhaupt besteht — zwischen der Sekretionsverringering und dem histologischen Typus der Schleimhaut.

In einer früheren Arbeit hat einer von uns (27) den Beweis geliefert, daß unter dem Einfluß des Jodkaliums die Hauptzellen des Hundemagens umgewandelt werden; sie bilden nur noch ein cytoplasmisches Reticulum, das die ganze Zelle einnimmt. Es ist keine Spur mehr vorhanden, weder von Basalfäden, noch von Profermentgranulationen. Ließ man die Schleimhaut im ganzen verdauen, so konnte nicht die geringste Verdauungskraft an Fibrin festgestellt werden. Die Histologie und die Chemie stimmen also hierin überein, indem sie ein Aufheben der pepsinogenen Funktion beweisen.

Gleichzeitig mit diesen Veränderungen der Hauptzellen (die Randzellen waren normal) lieferte die Analyse des Magensaftes am lebenden Tier eine wesentliche Verringerung des organisch gebundenen Chlors: in dem einen Falle 0,224 vor und 0,031 nach dem Versuch, im zweiten 0,122 vor dem Versuch und 0,04 nachher. Nach unserem Dafürhalten geht aus diesen Feststellungen hervor, daß der Wert des organisch gebundenen Chlors im stande ist, uns mittelbar über die Pepsinogenreaktion der Hauptzellen zu unterrichten. Hayem und Winter nahmen schon seit langer Zeit an, daß die Ziffer des organisch gebundenen Chlors die Intensität der Peptonisation anzeigt. Unsere Arbeit über den Einfluß des Jodkaliums auf die Magenverdauung lieferte den histologischen Beweis der Richtigkeit dieser Ansicht. Schließlich sagten wir in der genannten Arbeit, daß die pepsinogene Störung immerwährend bleiben könnte und zeigten einen Fall, in welchem die interstitielle Reaktion deutlich zu werden begann. Wir fügten hinzu, daß die an anderen Zellen unternommenen Studien uns gelehrt hatten, daß, solange das cytoplasmische Reticulum erhalten ist, es sich um funktionelle Störungen handle und nicht um Zellentartung.

Wir sind auf diese frühere Arbeit etwas ausführlicher eingegangen, weil uns dieselbe die Deutung der infolge der Einspritzung des Gastrolylins aufgetretenen Erscheinungen erleichtert.

Bei einem der Tiere (No. 27) entsprach die zeitweilige Verringerung des organisch gebundenen Chlors wahrscheinlich einer vorübergehenden Störung in der pepsinogenen Funktion der Hauptzellen.

Der Hund No. 28, der eine merkliche Umänderung der Hauptzellen aufwies, bot bei Lebzeiten eine Verringerung des organisch gebundenen Chlors. Unter anderem verdient hervorgehoben zu werden, daß die tiefgehende Umwandlung der Hauptzellen und deren teilweiser Schwund gleichzeitig mit dem Erhalten der Randzellen einherging. Es wäre also histologisch eine Art sauren Katarrhs, währenddessen der Wert der freien Salzsäure gleich 0 und jene des organisch gebundenen Chlors stark verringert ist.

Beim Hunde No. 30 entsprach die Verringerung des organisch ge-

bundenen Chlors den Hauptzellen, die zum großen Teil in ein einfaches Reticulum reduziert waren.

Was nun den Hund No. 33 betrifft, so bot derselbe keine genügenden histologischen Umwandlungen, um die Verringerungen des organisch gebundenen Chlors zu erklären; allein es handelte sich um ein durch mehrtägige blutige Diarrhöe geschwächtes Tier, bei dem also sämtliche Sekretionen verändert waren. Die an einem kachektischen Tiere gemachten Beobachtungen können aber keinen vollwertigen Schluß gestatten.

Die allgemeinen Schlüsse, die sich aus den Tatsachen betreffend die Sekretionsverminderung infolge der Gastrolysineinspritzungen ergeben, bestätigen die Schlüsse unserer früheren Arbeit über den Einfluß des Jodkaliums auf die Verdauung. Sowohl in dem einen wie im anderen Falle äußerte sich die Verringerung der pepsinogenen Funktion der Hauptzellen in einer Verminderung des organisch gebundenen Chlors. In dem Falle des Hundes No. 28 kam der Fortbestand der Randzellen allein nicht durch Hyperchlorhydrie zum Ausdruck. Wie wir bereits gesagt haben, entspricht die Hyperchlorhydrie der funktionellen Reizung zweier Zellarten, der Haupt- und Randzellen.

Die im vorhergehenden geschilderten Tatsachen gestatten es, das histologische Substrat der Hyperchlorhydrie und der Hyposekretion festzustellen.

Nur ist es nicht möglich, sich mittels einer Analyse des Magensaftes darüber klar zu werden, ob man es mit einer vorübergehenden, heilbaren funktionellen Störung zu tun habe oder aber ob es sich um eine Gastritis, um unheilbare Modifikationen handle. Die experimentellen und die chemischen Tatsachen führten uns zu dieser Ueberzeugung. Der Magenchemismus allein ist nicht im stande, uns die Diagnose einer Magenkrankung erkennen zu lassen. Das Studium des chemischen Verhaltens des Magens liefert aber immerhin eine Stütze für die Diagnostik und Behandlung der Magenkrankheiten.

#### Literaturangaben.

- 1) Bordet, Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890. p. 688. Autres mémoires ultérieur.)
- 2) v. Dungern, Spezifisches Immuserum gegen Epithel. (Münch. med. Wochenschr. 1899. p. 1228.)
- 3) Metschnikoff, Recherches sur l'influence de l'organisme sur les toxines. Sur la spermotoxine et l'autispermatoxine. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900. p. 1.)
- 4) — —, L'immunité dans les maladies infectieuses. Paris 1901.)
- 5) Gladin, Ueber den Einfluß der Injektionen von leukotoxischem Serum auf die Morphologie des Blutes. (Bolinschnaja Gazeta Botkina. 1901. p. 137.)
- 6) Nefedieff, Sérum néphrotoxique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901. p. 17.)
- 7) Lindemann, Sur le mode d'action de certains poisons rénaux. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900. p. 49.)
- 8) Délezanne, Sérum antihépatique. (Semaine médicale. 1900. p. 6.)
- 9) Deutsch, Sur le sérum antihépatique. (XIII. congrès internat. de méd. Paris 1900. Section de parasit. et bact. Comptes Rendus. 1901. p. 56—57.)
- 10) Cantacuzène, Variations quantitatives et qualitatives des globules rouges provoquées chez le lapin par les inject. de sérum hémolytiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900. 25 Jan.)

- 11) Délezienne, Sérums nevrotiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900. p. 686.)
- 12) Centanni, Il neuro-siero. (Rif. med. 1900. p. 375.)
- 13) Surmont, Sur la préparation d'une cytotoxine pancréatique. (Presse médicale. 1901. p. 177.)
- 14) Cridallo, Esperienze et osservazioni sulle citotossine pancreatiche. (Rif. med. T. XVIII. p. 21.)
- 15) Bigard et Bernard, Serum surrénotoxique. (Presse médicale. 1904. p. 76.)
- 16) Gontscharkow, Ueber die Herstellung eines für Schilddrüsen spezifischen Serums. (Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. 1902. p. 121.)
- 17) Sulli, Il serum mielotossico. (Rif. med. 1902. 11. Dez.)
- 18) Centanni et Ravenna, Sur un siero cardio-tossico. (Acad. di Ferrara. 1902. 27 Juni.)
- 19) Ceconi et Robechi, Citotossina ovarica. (Rif. med. 1902.)
- 20) Théohari, Thèse de Paris 1900.
- 21) Théohari et Vayas, Société de Biologie. 1900. 17 Mars.
- 22) Oesterreich, Deutsche med. Wochenschr. 1895.
- 23) Hayem et Lion, Traité de Médecine Brouardel-Gilbert. Paris.
- 24) Boas, Diagnostik und Therapie der Magenkrankheiten. Leipzig 1901.
- 25) Korczinski et Jovorski, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. XLVII. 1891.
- 26) Théohari et A. Babés, Modifications histo-chimiques de la muqueuse gastrique sous l'influence de l'alcool. (Société de Biologie. 1901. 16. février.)
- 27) Théohari et Vayas, Modifications histo-chimiques de la muqueuse gastrique sous l'influence de quelques substances médicamenteuses. (Société de Biologie. 1900. 17. Mars.)

#### Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Normaler drüsiger Blindsack in der Gegend der großen Magenkrümmung, 6—7 Stunden nach der Verdauung. Formol. Hämatoïn. Saures Fuchsin. Pikrinsäure. Randzellen mit ihren acidophilen Granulationen. Hauptzellen mit den Basalfäden.

Fig. 2. Idem. Färbung mittels sauren Fuchsin. Pikrinsäure. Kettchen acidophiler Granulationen in den Hauptzellen, die an die Stelle der Basalfäden getreten sind.

Fig. 3. Idem. Safraninsäure Violettfärbung. Die Pepsinogengranulationen sind im inneren Teile der Hauptzellen sichtbar.

Fig. 4. Intravenöse Einspritzung des schwachen Gastrolysin (Hund No. 23). Formol, Hämatoïn, saures Fuchsin, Pikrinsäure. Erhebliches Drüsenlumen. Hauptzellen von geringer Höhe; das Reticulum nimmt die ganze Zelle ein; Kettchen von acidophilen Granulationen; der Kern ist gegen die Basis angeheftet. Randzellen mit großem hellen Zentralraum. Häufung der Granulationen und des Kernes an der Peripherie (erscheinen wie Zellen in Hypersekretion).

Fig. 5. (Hund No. 23). Färbung: Safraninsäures Violett. Die Hauptzellen sind in ihrer ganzen Ausdehnung von Pepsinogengranulationen vollgestopft (Zellen in Hypersekretion).

Fig. 6. Intravenöse Einspritzung von starkem Gastrolysin in großen Dosen (Hund No. 8). Die Hauptzellen sind auf ein Reticulum mit hellmaschigem Inhalt reduziert. Randzellen, die einen normal, die anderen mit aufgelösten, verwischten Granulationen; auf rosigem, homogenem, mehr oder weniger dunklem Grund heben sich einige Granulationen ab, die lebhaft gefärbt sind. Die Kerne mancher Randzellen sind abgeplattet und einförmig gefärbt.

Fig. 7. Idem. Randzelle an der Oberfläche der Schleimhaut, enthält Spirillen in einer zentralen Vakuole.

Fig. 8. Intravenöse Einspritzung von starkem Gastrolysin in geringen Dosen (länger überlebend). Die Gefäße sind mit roten Blutkörperchen gefüllt; allgemeine Kongestion der Magenschleimhaut. Hauptzellen auf ein Reticulum reduziert; Kern anscheinend normal. Randzellen ebenso wie in Fig. 6. Fast sämtliche Randzellen sind alteriert.

Fig. 9. Normaler Randzellenkern.

Fig. 10, 11 und 13. Kerne von in verschiedenen Alterationsgraden befindlichen Randzellen.

Fig. 12. Normaler Hauptzellenkern bei sehr starker Vergrößerung.

Fig. 14. Hyperchlorhydrischer Hund (No. 3). Hauptzellen mit vermindertem Basalteil; Kettchen von acidophilen Granulationen (das Verfahren mittels safraninsäurem Violett liefert den Beweis, daß diese Zellen zahlreiche Pepsinogengranulationen

enthalten). Randzellen mit hellem Zentralraum und Anhäufung der Granulationen an die Peripherie. In der Höhe der Schleimhautoberfläche einige vakuolisierte, spirillenhaltige Randzellen (Fig. 15).

Fig. 16. Wiederholte intravenöse Cytolsylineinspritzungen. Hyposekretion (Hund No. 28). Hauptzellen von stark reduzierter Größe, an manchen Stellen bloß durch eine einfache Membran angedeutet; sie zeigen an ihrem Cytoplasma kein Detail normaler Struktur. Sehr erhebliche Drüsenlumina (Fig. 17), die zahlreiche Spirillen enthalten (Fig. 16). Die Randzellen sind anscheinend normal.

Sämtliche Zeichnungen sind mit einem Immersionsobjektiv Leitz  $\frac{1}{13}$  und einem kompensatorischen Okular No. 4 angefertigt worden. Die Fig. 9—13 sind bei stärkerer Vergrößerung gezeichnet. Die Umrisse und die hauptsächlichsten Details sind in der Dunkelkammer ausgeführt.

*Nachdruck verboten.*

## Observations on the single nature of haemolytic immune bodies, and on the existence of so-called "Complementoids".

[From the Pasteur Institute, Brussels.]

By **Frederick P. Gay**, M. D.

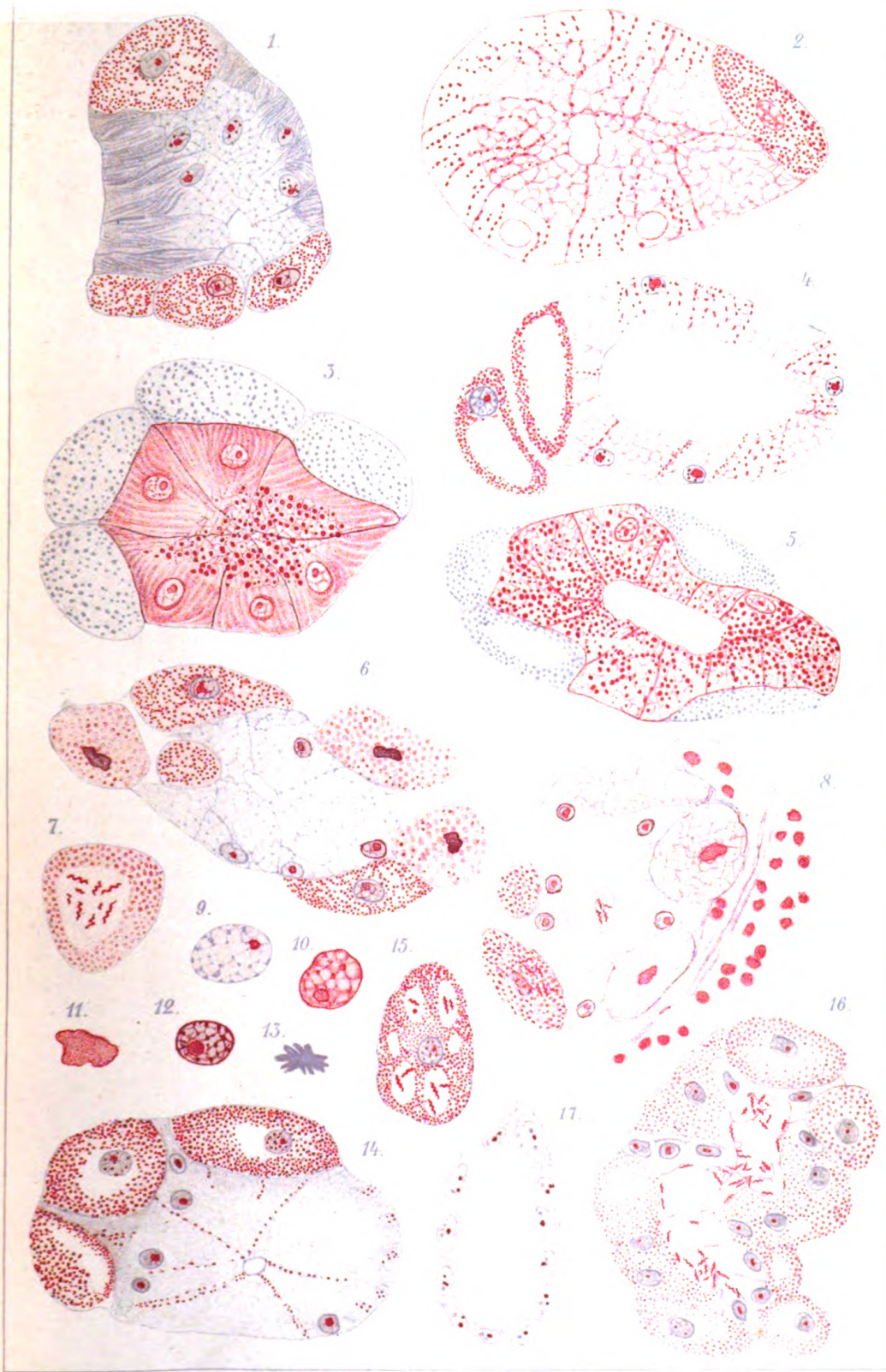
This article deal primarily with two haemolytic phenomena, by means of which two hypotheses had apparently been proved experimentally. Although I have dealt in each instance with the classical example only, my results are doubtless applicable to haemolysis in general.

### I. The nature of a haemolytic immune body as regards its re-activating sera.

As Bordet<sup>1)</sup> was first to show, haemolysis of rabbit red blood corpuscles may be accomplished, in the presence of a suitable heated immune body (sensibilisatrice), by any one of a several alexines, even by rabbit alexine; in this latter case however the amount of immune body necessary to produce haemolysis is sensibly increased over the amount necessary when guinea pig alexine is used. Ehrlich and Morgenroth<sup>2)</sup> were able to corroborate this observation and also to add several analogous instances which show clearly that the relation of such immune body dosage is a variable one. The explanation which they offer, in harmony with their "Lateral-chain theory", is briefly as follows. In a given case the amount of heated serum of a guinea pig immunized against rabbit corpuscles, necessary to haemolyze a given dose of rabbit washed corpuscles is ten times as great if rabbit "complement" (fresh serum) is used to reactivate, as when guinea pig "complement" is used. This is due to the fact that a given immune serum contains a series of "partial immune bodies", all active against the specific corpuscles, but having each an affinity for one certain "complement". By natural law only the smallest number of such bodies in a serum would have "complementophilic" arms suitable to join with the proper "complement" of the corpuscles to be destroyed. In the given case a haemolytic dose of the guinea-pig-rabbit immune serum with

1) Bordet, Annales Pasteur. T. XIV. 1900. Mai.

2) Ehrlich and Morgenroth, Berl. klin. Wchschr. 1900. p. 681.



Verlag v. Gustav Fischer, Jena.

Lith. Anst. v. J. Arndt, Jena.





guinea pig "complement" may be represented by the formula  $1 A + \frac{1}{10} B$ , "A" being partial immune bodies joining only with guinea pig complement, "B" being partial immune bodies joining only with rabbit complement. In order to obtain haemolysis with rabbit complement it is necessary, logically, to have ten such doses (i. e.  $10 A + 1 B$ ) in order to have one whole dose of "B". Ehrlich and Morgenroth<sup>1)</sup> have sought further to establish this hypothesis of the multiplicity of immune bodies in a given immune serum by means of certain experiments with anti-immune bodies — a subject which we need not here consider.

After my first results on the subject I found that this interesting question had already been considered in part by Muir and Browning<sup>2)</sup>; who have come to practically the same conclusions as myself although they were unable wholly to refute the hypothesis of the multiplicity of immune bodies on account of certain technical difficulties; these difficulties I have been able to obviate by a specially devised method.

Although nowhere expressly stated by Bordet or by Ehrlich and Morgenroth, I have found, in common with Muir and Browning that when we reactivate sensibilized rabbit corpuscles (heated guinea-pig-rabbit immune serum) with rabbit alexine, that not only is the requisite dose of immune-body large, but also the dose of rabbit alexine relatively high. The relative amounts of the immune serum necessary in the presence of sufficient alexine of either animal, and the relative amounts of each alexine when sufficient immune body is present are so well shown in the tables of Muir and Browning that I omit similar examples. As regards the relatively high dose of rabbit alexine against its own corpuscles the following (Table I) shows that it takes nearly three times as much alexine to destroy numerically a smaller number of its own sensibilized corpuscles than of sensibilized ox corpuscles.

Table I.  
Red blood corpuscles of ox per cbmm 5 880 000  
Red blood corpuscles of rabbit per cbmm 4 240 000

No.	Washed rabbit corpuscles	S. guinea pig rabbit 55°	Alexine rabbit	Haemolysis
1	0,025 ccm	0,25 ccm	0,2	complete
2	"	"	0,15	partial
3	"	"	0,1	slight
4	"	"	0,075	"
5	"	"	0,05	"
	washed ox corpuscles	S. rabbit-ox 55°		
	0,025 ccm	0,15	0,075	complete
	"	"	0,05	slight

As regards the technique of haemolytic experiments it may be well to note the rôle played by an excessive amount of isotonic salt solution in the suspensions of test corpuscles employed by many observers. It would seem a priori desirable to deal with corpuscles as nearly as possible in their normal condition of suspension in the blood, but the advantages of a 5% suspension are manifest, since smaller amounts can be accurately measured and a great waste of often precious materials obviated. But I have noted repeatedly that the dilution of a small

1) Ehrlich and Morgenroth, Berl. klin. Wchschr. 1901. p. 569. 598.

2) Muir and Browning, Proceed. Royal Soc. Vol. LXXIV. 1904. p. 298.

amount of alexic serum by so great an excess of isotonic solution unquestionably affects its activity and often completely inhibits it. This is well, shown in the case of sensitized rabbit corpuscles when acted on by rabbit alexine.

Table II.

Washed rabbit corpuscles		S. guinea-pig rabbit 55°	Alexine rabbit	Haemolysis
5% suspension in NaCl (0,85%)	centrifuged deposit of 5% suspension			
2 ccm	—	0,4 ccm	0,4 ccm	nul
—	= 1/10 ccm	"	"	partial
2 ccm	—	"	1,2	slight
—	= 1/10 ccm	"	"	complete

A similar and yet more striking example of the effect of a great excess of isotonic solution will be given later. To retain the usefulness of the 5% suspension and to obviate its errors, I have employed this method of centrifugalizing the suspension in the actual experimental tube, removing the supernatant fluid, and subsequently adding the small amount of physiological solution necessary to bring the blood suspension to its primitive volume.

Another source of possible error in experiments of this nature is the presence of anti-alexine action in the excess of heated immune serum, which, in rare instances, inhibits the activity of the proper alexine of the corpuscles. The occurrence of such an action is not surprising when we consider that the usual procedure for the production of an immune serum is to immunize animals with whole defibrinated blood, that is, corpuscles plus serum. The remedy, of course, consists in removing the excess of immune serum after it has been allowed to come in contact with the corpuscles.

Although the amount of rabbit alexine necessary to haemolyze rabbit sensitized corpuscles is relatively large it is easy to show that smaller doses combine perfectly with the corpuscle-immune body complex. As Muir expresses it, the combining power is perfect although the toxic power is slight. Such variations in toxicity were previously noted by Bordet<sup>1)</sup> in consonance with his quantitative idea of the difference in alexine.

If we take Table I, for example and add to each of the supernatant fluids of tubes 1 to 5, in which more or less haemolysis has occurred, sensitized ox corpuscles (ox corpuscles 1/40 ccm S. rabbit ox 55° 3/20 ccm) we obtain no trace of haemolysis in any tube which shows that the rabbit alexine has already combined perfectly with the sensitized rabbit corpuscles.

Before proceeding to the proof of the simple nature of the guinea-pig-rabbit immune body it will be necessary to describe an experiment which offers a valuable technical method for the solution of this problem and which may also prove of service in other haemolytic experiments. It is already known that when corpuscles have been haemolyzed by means of a heated specific serum and a dose of alexine

1) Bordet, Ann. Pasteur. T. XV. 1901. p. 311.

which is not in excess, that the resulting stromata have still the ability to absorb additional portions of alexine. I have found also that stromata produced by heating corpuscles to 55° for one-half hour retain unimpaired their power of absorbing immune body, or if previously sensitized, of absorbing alexine. Rabbit corpuscles are completely haemolyzed by this temperature, but ox corpuscles, although showing a reduction of haemoglobin, remain for the most part, microscopically intact. The affinities of ox corpuscles after heating to 55° are shown by the following experiment.

Three tubes are prepared as follows:

Tube A:	Ox corpuscles previously heated to 55° (not haemolyzed)	$\frac{2}{10}$ ccm
	Serum rabbit-ox 55°	$\frac{8}{10}$ "
	S. guinea pig (alexine)	$\frac{5}{10}$ "
Tube B:	Ox corpuscles 55°	$\frac{2}{10}$ "
	S. normal rabbit 55°	$\frac{8}{10}$ "
	S. guinea pig	$\frac{5}{10}$ "
Tube C:	Ox corpuscles $\frac{2}{10}$ + Serum rabbit-ox $\frac{8}{10}$ heated to 55°	
	S. guinea pig	$\frac{5}{10}$ "
	In Tubes A and C haemolysis is complete — in B nul.	

To the centrifuged supernatant fluids of A, B, and C is added subsequently.

	Ox corpuscles	$\frac{1}{10}$ ccm
	S. rabbit ox 55°	$\frac{4}{10}$ "
Tube D (control):	Ox corpuscles	$\frac{1}{10}$ "
	S. rabbit ox 55°	$\frac{4}{10}$ "
	S. guinea pig	$\frac{2}{10}$ "
	In Tube B and D haemolysis is complete	
	In Tube A and C haemolysis nul.	

Similar results may be obtained with rabbit corpuscles with the exception that they are haemolyzed by heating to 55°.

In considering the nature of the guinea-pig-rabbit immune body I shall give an example in which the relative doses of the immune body with the alexine of rabbit or of guinea pig, chanced to be the same as in the classical example of Ehrlich. Of course it is understood that this relation is not a fixed one, as Ehrlich has shown. In this case, in order to produce haemolysis of rabbit corpuscles in the presence of sufficient rabbit alexine it took ten times the amount of heated immune serum as when using guinea pig alexine. In the language of the Ehrlich hypothesis the necessary dose of immune serum with rabbit alexine may be represented by 10 "A" + 1 "B". "A" being the partial immune body suitable for guinea pig alexine and "B" the partial immune body for rabbit alexine. Rabbit alexine cannot join "A" or haemolysis would be produced with the same dose of immune body as when employing guinea-pig alexine. Now if we produce haemolysis with rabbit alexine in the presence of the necessary amount of immune serum the 1 "B" will be satisfied, that is one-eleventh only of the amboceptors will have their "complementophilic" arms plugged, while 10 A, or the remaining ten-elevenths, will be attached to the stromata and still ready to fix many haemolytic doses of guinea pig alexine. This is the logic of the Ehrlich hypothesis. Experimentally we obtain the following results.

Rabbit corpuscles are haemolyzed with rabbit alexine and guinea pig-rabbit heated immune serum; the stromata are then heated to 55° which will destroy any rabbit alexine that may be free, or prevent any further toxic action from it but will leave the corpuscle-immune body complex still unaffected as regards its further absorption of guinea pig

alexine by its supposedly unsatisfied 10 A amboceptors. In fact we find that the alexine of the guinea pig subsequently added remains entirely free; not one slight portion of it has been attached, as is shown by a suitable control. In other words the fixation of rabbit alexine will completely prevent the subsequent fixation of guinea pig alexine. The details of the experiment follow:

Minimal haemolytic dose of guinea pig rabbit immune serum 55° for  $\frac{1}{40}$  ccm of washed rabbit corpuscles

with rabbit alexine 0,25 ccm  
with guinea pig alexine 0,025 "

Relation 10 : 1.

Three large tubes are prepared:

Tube A:	Washed rabbit corpuscles	$\frac{5}{40}$ ccm
	S. guinea pig rabbit 55°	$1\frac{1}{4}$ "
	S. rabbit (alexine)	$1\frac{1}{4}$ "
Tube B:	Washed rabbit corpuscles	$\frac{5}{40}$ "
	S. guinea pig rabbit 55°	$1\frac{1}{4}$ "
	S. rabbit 55°	$1\frac{1}{4}$ "
Tube C:	Washed rabbit corpuscles	$\frac{5}{40}$ "
	S. normal guinea pig 55°	$1\frac{1}{4}$ "
	S. rabbit 55°	$1\frac{1}{4}$ "

Contact at 37° C for 1 hour.

Tube A: is perfectly haemolyzed.

Tube B: agglutination; no haemolysis.

Tube C: no change.

The contents of the three tubes are then heated to 55° for  $\frac{1}{2}$  hour. Haemolysis complete in all tubes. From each of the tubes A, B, and C are prepared three smaller tubes each containing  $\frac{1}{2}$  ccm of the stroma mixture, that is the stromata of  $\frac{1}{40}$  ccm rabbit corpuscles. To each of the analogous tubes in each series is added the same amount of fresh guinea pig alexine as follows:

"A" series:	Tube 1:	"A" mixture	$\frac{1}{2}$ ccm
		S. guinea pig	$\frac{1}{40}$ "
	Tube 2:	"A" mixture	$\frac{1}{2}$ "
"B" series:	Tube 3:	S. guinea pig	$\frac{1}{20}$ "
		"A" mixture	$\frac{1}{2}$ "
	Tube 4:	S. guinea pig	$\frac{1}{10}$ "
"C" series:	Tube 5:	"B" mixture	$\frac{1}{2}$ "
		S. guinea pig	$\frac{1}{40}$ "
	Tube 6:	"B" mixture	$\frac{1}{2}$ "
"C" series:	Tube 7:	S. guinea pig	$\frac{1}{20}$ "
		"C" mixture	$\frac{1}{2}$ "
	Tube 8:	S. guinea pig	$\frac{1}{40}$ "
"C" series:	Tube 9:	"C" mixture	$\frac{1}{2}$ "
		S. guinea pig	$\frac{1}{20}$ "
		"C" mixture	$\frac{1}{2}$ "
		S. guinea pig	$\frac{1}{10}$ "

Contact at 37° C for 1 hour. The supernatant fluid of each tube is added to a new tube containing:

Washed rabbit corpuscles  $\frac{1}{40}$  ccm  
S. guinea pig rabbit 55°  $\frac{1}{20}$  "

Resultant haemolysis is as follows:

"A" series	"B" series	"C" series
1. marked	4. none	7. marked
2. complete	5. none	8. complete
3. complete	6. none	9. complete

In series "A" the guinea pig alexine is left entirely free because the avidity of the corpuscles immune body complex for alexine has been entirely satisfied by the rabbit alexine. In series "B" the sensitized corpuscles, subjected to the same conditions of heat and serum dilution as series "A", absorb perfectly the guinea pig alexine. In series "C" we have a control with no immune serum which leaves just as much but no more guinea pig alexine free as does series "A". The certain conclusion from this experiment is that the immune body against rabbit corpuscles is of a simple nature as regards combination with one or another alexine.

## II. The nature of a so-called "complementoid".

In his analogy between antitoxic and haemolytic sera Ehrlich presupposed the existence of substances called "complementoids" — derived from "complements" as "toxoids" are supposed to be derived from toxins. These "complementoids" are depicted as possessing a "haptophore group" but no "zymotoxic" group in distinction from complements which have both. That is, they have none of the toxic or haemolytic activity of complements, but may give rise when injected to "anticomplements" and may under certain conditions, combine with amboceptors. After the hypothesis followed apparent experimental proof of the existence of such bodies. Ehrlich and Sachs<sup>1)</sup> describe a phenomenon which occurs in dog serum which they call: "Verstopfung der Ambozeptoren durch Komplementoide", the plugging of amboceptors by means of complementoids. The details are briefly as follows: Fresh dog serum haemolysis guinea pig corpuscles. Dog serum heated to 51° C for 1/2 hour loses its power to produce this haemolysis owing to the destruction at this temperature of the very labile complement. This heated serum (Amboceptor) may be reactivated by guinea pig "complement". If however the corpuscles are left in contact with the heated dog serum at 37° C for two hours the subsequent addition of fresh guinea pig serum produces no haemolysis<sup>2)</sup>. This fact is ascribed to a plugging of the "complementophilic arm" of the dog amboceptor by means of the "complementoids" present in the serum heated to 51°. The amboceptor is said to be destroyed by temperature of 60°; the somewhat unusual nature of this amboceptor is fully discussed in another place by Sachs<sup>3)</sup> but need not concern us here.

In dealing with this phenomenon. I have found the results as given do not express the entire truth as I have found it. The doses given in the "plugging" experiment described, are as follows;

Guinea pig washed corpuscles 5% suspension	1 ccm
Dogs serum 50—51°	1/2 "
Guinea pigs serum	1/2 "

1) Ehrlich and Sachs, Berliner klin. Wochenschr. 1902. No. 21. p. 492.

2) Although experimental proof that the subsequently added alexine has not been combined is not offered by the authors, such a matter is easy to determine. If we centrifuge such a tube and to the supernatant fluid add heated dog serum, and then corpuscles, haemolysis is produced showing that the alexine has really been kept out of combination by the heated dog serum united to the corpuscles. The control is a tube in which haemolysis has occurred by the addition of dog serum and alexine at the same times, in which case no subsequent alexic activity is detectable.

3) Sachs, H., Berliner klin. Wochenschr. 1902. No. 9. p. 181.

which doses. I shall use in the experiments to be described. I have found, as a matter of fact, that dog serum heated to the degree mentioned does always give a slight haemolysis of guinea pig corpuscles, a fact which is made by the excess of salt solution used in the 5% suspension. If we deal with the centrifuged deposit of 1 ccm of a 5% suspension, or simply with  $\frac{1}{20}$  ccm washed corpuscles, this haemolysis is clearly shown. That dog serum heated for  $\frac{1}{2}$  hour to 50°, 51° or 52° does possess distinct haemolytic power for guinea pig corpuscles may be shown more distinctly in the following way. If we prepare a series of tubes each containing 1 ccm of suspensions of corpuscles at 5%, 3%, 1% and  $\frac{1}{2}$ % respectively, and to each tube add the given dose of heated dog serum ( $\frac{1}{2}$  ccm, 50–51°) we find after 2 hours at 37° C that in the tubes at 1% and  $\frac{1}{2}$ % haemolysis is complete; or better still if we use the centrifuged deposits of such a series of suspensions without the excess of salt solution, we find that haemolysis is complete in the tubes at 3%, 1% and  $\frac{1}{2}$ % and marked in the 5% tube. It is evident from such an experiment that the so-called "complementoid" is nothing more than a "complement" whose haemolytic activity has been impaired, but not destroyed, by the heating. That the subsequent addition of guinea pig serum does not sensibly increase the haemolysis in such a series of tubes is perfectly true, which means that there is a "plugging" (Verstopfung) by means of the partially destroyed "complement". The combining power of the "complement" has been no more destroyed than the toxic power. If instead of dog serum heated to 51° we use dog serum heated to 56° we find another more striking example of this modified "complement". To a similar series of tubes at 5%, 3%, 1% and  $\frac{1}{2}$ % respectively add  $\frac{1}{2}$  ccm of dog serum heated to 56° for  $\frac{1}{2}$  hour. After 3 hours at 37° C slight haemolysis is present only in the tube at  $\frac{1}{2}$ % (complete haemolysis if the deposit of such a suspension is used) which shows that not even at this temperature is the toxic action of the "complement" entirely destroyed. If we add  $\frac{1}{2}$  ccm of fresh guinea pig serum to an analogous series of tubes, it is found that haemolysis is all but complete throughout the series, that is only the slightest "plugging" has occurred. The combining ability of the dog complement is impaired equally with and proportionately to the toxic ability.

The tables follow:

Table I.

Washed guinea pig corpuscles in suspension at	Dog serum 50–51° C $\frac{1}{2}$ ccm	Contact 37° 2 hours	NaCl sol. $\frac{1}{2}$ ccm	Contact 37° 1 hour	Haemolysis
5% 1 ccm	"	"	"	"	trace
3% 1 "	"	"	"	"	marked
1% 1 "	"	"	"	"	complete
$\frac{1}{2}$ % 1 "	"	"	"	"	"

Table II.

Deposit of 1 ccm g. p. corpuscles; suspension at	Dog serum 50–51° C $\frac{1}{2}$ ccm	Contact 37° 2 hours	NaCl sol. $\frac{1}{2}$ ccm	Contact 37° 1 hour	Haemolysis
5% ( $\frac{1}{20}$ ccm)	"	"	"	"	nearly complete
3% ( $\frac{1}{20}$ " )	"	"	"	"	complete
1% ( $\frac{1}{20}$ " )	"	"	"	"	"
$\frac{1}{2}$ % ( $\frac{1}{20}$ " )	"	"	"	"	"

Table III.

Washed guinea pig corpuscles in suspension at	Dog serum 50—51° C	Contact 37°	Alexine guinea pig 1/2 ccm	Contact 37°	Haemolysis
5% 1 ccm	1/2 ccm	2 hours	1/2 ccm	1 hour	trace
3% 1 "	"	"	"	"	marked
1% 1 "	"	"	"	"	complete
1/2% 1 "	"	"	"	"	"

Table IV.

Deposit of 1 ccm g. p. corpuscles; suspension at	Dog serum 50—51° C	Contact 37°	Alexine guinea pig 1/2 ccm	Contact 37°	Haemolysis
5% (1/20 ccm)	1/2 ccm	2 hours	1/2 ccm	1 hour	nearly complete
3% (1/20 " )	"	"	"	"	complete
1% (1/20 " )	"	"	"	"	"
1/2% (1/20 " )	"	"	"	"	"

Table V.

Washed guinea pig corpuscles in suspension at	Dog serum 56° C	Contact 37°	NaCl sol 1/2 ccm	Contact 37°	Haemolysis
5% 1 ccm	1/2 ccm	2 hours	1/2 ccm	1 hour	none
3% 1 "	"	"	"	"	none
1% 1 "	"	"	"	"	none
1/2% 1 "	"	"	"	"	marked

Table VI.

Deposit of 1 ccm g. p. corpuscles; suspension at	Dog serum 56° C	Contact 37°	NaCl sol. 1/2 ccm	Contact 37°	Haemolysis
5% (1/20 ccm)	1/2 ccm	2 hours	1/2 ccm	1 hour	none
3% (1/20 " )	"	"	"	"	none
1% (1/20 " )	"	"	"	"	slight
1/2% (1/20 " )	"	"	"	"	complete

Table VII.

Washed guinea pig corpuscles in suspension at	Dog serum 56° C	Contact 37°	Alexine guinea pig 1/2 ccm	Contact 37°	Haemolysis
5% 1 ccm	1/2 ccm	2 hours	1/2 ccm	1 hour	nearly complete
3% 1 "	"	"	"	"	complete
1% 1 "	"	"	"	"	"
1/2% 1 "	"	"	"	"	"

Table VIII.

Deposit of 1 ccm corpuscles; suspension at	Dog serum 56° C	Contact 37°	Alexine guinea pig 1/2 ccm	Contact 37°	Haemolysis
5% (1/20 ccm)	1/2 ccm	2 hours	1/2 ccm	1 hour	nearly complete
3% (1/20 " )	"	"	"	"	complete
1% (1/20 " )	"	"	"	"	"
1/2% (1/20 " )	"	"	"	"	"

Controls:

G. p. corpuscles 5% suspension in 0.85% NaCl	S. dog. 50—51° 1/2 ccm	Alex. guinea pig 1/2 ccm	Haemolysis
1 ccm	"	"	complete 10 mins
1 "	S. dog 56° 1/2 ccm	" " "	" "

In these experiments we again see the disadvantage of employing a 5% suspension owing to the inhibiting action of the great excess of salt solution on a weakened alexine (series I and II, III and IV etc.). Heating dog serum to 51° merely weakens the toxic and combining activity of the dog alexine. 56° C does not wholly destroy either the

toxic or the combining activities of the alexine, but destroys one as much as the other. The natural immune body apparently suffers no impairment by heating to 56° (Controls).

#### Conclusions.

1) Suspensions of blood corpuscles for haemolytic experiments at 5% are disadvantageous unless the excess of normal saline solution be removed, as alexic power is often entirely inhibited by the great excess of fluid.

2) Heating to 55° for 1/2 hour does not affect the power of ox or rabbit corpuscles, even when haemolysis is produced, to absorb suitable immune bodies or alexines.

3) A given immune serum, active against rabbit corpuscles, contains a simple immune body as regards affinity for various alexines.

4) So-called "complementoids" (to judge from the test example) are simply "complements" (alexines) in which both the combining power and the haemolytic power are weakened.

In conclusion, I wish to acknowledge my indebtedness to Dr. Bordet for his constant interest and assistance during the progress of these studies.

*Nachdruck verboten.*

### Zur diagnostischen Verwertung der Rotzagglutination.

[Aus dem k. u. k. Militärärztl. Institut  
und der tierärztlichen Hochschule in Wien. (Medizinische Klinik.)  
Vorstand: Prof. Hugo Schindelka.]

#### I. Mitteilung.

Von Tierarzt Dr. **Josef Schnürer**,

Dozent am k. u. k. Militärärztl. Institut und der tierärztlichen Hochschule in Wien.

#### Technik des Verfahrens:

Aus den Arbeiten von Afanassjeff, Fedorowsky, Wladimiroff, Reinike, Rabieaux, Arpad, Langer, Bonome u. a. geht unzweifelhaft hervor, daß bei Rotzinfektion der Agglutinationswert des Serums sich weit über die Grenzen des im Serum normaler oder anderweitig nicht rotzig erkrankter Pferde zur Beobachtung kommenden Wertes erhebt, und so die Diagnose „Rotz“ ermöglicht, wenn weder klinisch, noch sogar pathologisch-anatomisch (Wladimiroff, Bonome, eigene Untersuchungen) die Diagnose gestellt werden kann. Es liegt nun der Gedanke nahe, diese bis jetzt fast ausschließlich im Laboratoriumsexperimente oder doch nur an einer verhältnismäßig geringen Anzahl von Pferden geprüfte Tatsache der Praxis dienstbar zu machen; schon vor allem deshalb, weil die endgültige Entscheidung der Verwertbarkeit der Probe nur auf der Basis möglichst zahlreicher Einzeluntersuchungen unter den verschiedensten Verhältnissen erfolgen kann, wie sie durch Laboratoriumsexperimente niemals zu erreichen sind.

In der folgenden I. Mitteilung soll nun die Beschreibung einer Methode erfolgen, wie sie sich im Verlaufe der Untersuchungen bei mehr als 300 gesunden resp. anderweitig erkrankten Pferden und bei 15 durch Sektion, Kultur und Tierexperiment sichergestellten Rotzfällen heraus-



gebildet hat. Die systematische Beschreibung der einzelnen Ergebnisse, Beobachtungen über die Verlässlichkeit der Methode etc. sollen einer weiteren Mitteilung vorbehalten bleiben, einerseits um über eine noch größere Anzahl von Untersuchungen verfügen zu können, namentlich aber, um einen größeren Zeitraum verstreichen zu lassen, innerhalb welches etwaige negative Untersuchungsergebnisse durch das Auftreten klinischer Erscheinungen oder durch Sektionsbefunde korrigiert werden können.

#### Entnahme und Zusendung der Blutproben.

Da die Brauchbarkeit der Agglutinationsprobe bei Rotz unzertrennlich an die Bedingung der absoluten Gleichmäßigkeit der Arbeit, an die Vertrautheit mit einer Reihe von Fehlerquellen, an eine große Erfahrung in der Beurteilung der Resultate geknüpft ist, kann naturgemäß eine derartige Probe nur im Laboratorium ausgeführt werden. „Selbst sinnreiche Apparate zur Versendung sterilisierter Bakterienemulsionen und zur Verdünnung des Serums, wie sie Dediulin auf dem jüngsten Veterinärkongreß (1903) zu St. Petersburg proponiert hat, können die Laboratoriumstechnik nicht ersetzen“ (Wladimiroff). Damit ist aber auch die Notwendigkeit gegeben, eine Methode anzuwenden, welche die Entnahme und Zusendung der Blutproben in zweckdienlicher, der Praxis angepaßter Weise gestattet. Das in unserem Institute diesem Zwecke dienende Verfahren ist sehr einfach und hat sich bisher in ungefähr 300 Fällen vollständig bewährt. Auf eine briefliche oder telegraphische Anzeige des betreffenden Tierarztes, der die Blutuntersuchung eines oder mehrerer rotzverdächtigen Pferde veranlassen will, werden demselben eine größere Anzahl (für jedes Pferd zwei) von Glasröhrchen in Holzbüchsen verpackt, zugesendet. Diese Röhrchen haben W-Form und halten ca. 3—4 mm im Lichten. Der eine freie Schenkel ist aus der Ebene des W um 10—20° abgebogen, um ein leichteres Anlegen an die blutende Wunde zu gestatten. Die Blutentnahme erfolgt aus einer mit großer Konstanz vom inneren Augenwinkel parallel zum Nasenrücken in der Mitte zwischen diesem und der Jochleiste herabziehenden Hautvene. Ueber derselben wird die Haut in der Ausdehnung eines Kronenstückes rasiert und desinfiziert; die Vene durch Kompression zum Anschwellen gebracht, mit einem Spitzbistouri eröffnet und das frei herausströmende Blut in dem Glasröhrchen aufgefangen. Dieses Vorgehen ist sehr wenig umständlich und zeitraubend: wir konnten anlässlich einer Rotzepidemie in einem größeren Pferdebestande bei 46 Pferden von jedem Pferde je zwei Glasröhrchen in etwas über einer Stunde füllen. Die Blutung steht in den allermeisten Fällen von selbst und die Wunde bedarf keinerlei Nachbehandlung.

Die Röhrchen werden nun durch aufgeklebte Etiketten signiert und die freien Enden mit Wachskügelchen verstopft, senkrecht über die Nacht in den Holzbüchsen aufbewahrt. Während dieser Zeit ist die Trennung des Serums vom Blutkuchen bereits erfolgt und es besteht keine Gefahr, daß eine neuerliche Vermengung von Blutkörperchen und Serum selbst bei tagelangem Transporte mit der Post eintritt. Nach dem Eintreffen der Proben im Laboratorium wird nun der Blutkuchen durch ein Platinhäkchen herausgezogen, was in der Regel ohne weiteres Hindernis gelingt. Es resultieren dann bei vorschriftsmäßiger Füllung der Röhrchen ohne Luftblase mindestens 1—2 Schenkel des W-Rohres reines Serum, eine zur Anstellung einer sehr großen Anzahl von Einzeluntersuchungen hinreichende Menge.

### Berichterstattung.

Um nun über die epidemiologische und klinische Seite des Rotzfallendes oder der Epidemie Klarheit zu gewinnen, wird zugleich mit den Blutproben ein Bericht eingesendet, welcher die anamnestischen Daten, den klinischen, bei eventuellen Sektionen auch den pathologisch-anatomischen Befund und schließlich eine einfache Stallskizze umfaßt. Zur Erleichterung der Abfassung des klinischen und pathologischen Befundes werden vom Institute zugleich mit den Kapillaren Formularen zur Ausfüllung übersendet; bei dem k. und k. Heere ist eine von 5 zu 5 Tagen wiederholte Berichterstattung mittels des „klinischen Befundformulares“ vorgeschrieben, um das Institut auf dem laufenden über etwaige neu auftretende klinische Erscheinungen zu halten.

### Wiederholung der Blutentnahme.

Es empfiehlt sich zur Vermeidung von Fehlschlüssen, an die erste Blutentnahme resp. Untersuchung eine zweite nach 6—8 Wochen anzuschließen. Einerseits ist die Zeit des Auftretens der Agglutinine nach der spontan erfolgten Infektion noch nicht hinreichend genau bekannt, so daß es ganz gut möglich ist, daß ein vor kurzem infiziertes Tier negativ reagiert, nach wenigen Wochen aber manifest rotzig wird; andererseits aber ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, und das gelegentliche Auftreten von Normal-Rotzagglutininen in größerer Menge scheint dafür zu sprechen, daß ein Tier das Rotzvirus aufnimmt, Agglutinine in höherer Anzahl erzeugt, während das Virus entweder schadlos bleibt oder wenigstens nach Setzung geringer spontan ausheilender Läsionen ausgeschieden oder sonst unschädlich gemacht wird. Beide Fehlerquellen lassen sich nun durch eine zweite Untersuchung nach 6—8 Wochen wenigstens vermindern; jedenfalls müssen aber über diese beiden Fehlerquellen hinreichende Erfahrungen gesammelt werden.

### Anfertigung der Rotzbacillenaufschwemmung.

Die agglutinierende Kraft des Serums wird an Aufschwemmungen von Rotzbacillen in physiologischer Kochsalzlösung geprüft. Die Verwendung von Bouillonkulturen scheint immerhin durch den verschiedenen Salz- und Eiweißgehalt der Bouillon weniger verlässlich zu sein; auch ist eine Abstufung der Bakterienmenge nicht leicht zu erreichen. In unseren Untersuchungen werden ausschließlich Kartoffelkulturen verwendet. Kommen nicht „mehlige“ sondern „seifige“ Kartoffeln zur Verwendung, so gestaltet sich die Abschabung der Kultur durch eine Platinöse sehr einfach. Die Kultur wird nun an der trocknen Wand einer mit wenig Kochsalz gefüllten Epruvette fein zerrieben und dann erst langsam Oese für Oese im Kochsalz aufgeschwemmt; es wird dadurch die Verreibung und Isolierung, wie man sich im hängenden Tropfen überzeugen kann, vollständig erreicht. Von Zeit zu Zeit wird während der Anfertigung die Emulsion auf ihre Dichte bestimmt. Dies geschieht nach einem optischen Prinzip, wie es bei dem bekannten Laktoskop nach Fäser Anwendung gefunden hat. Ein kleines Kästchen mit geschwärzten Wandungen dient zur Aufnahme einer Epruvette, in welche eine kleine Menge der Emulsion gegossen wird. Die Vorderseite des Kästchens hat einen 3 mm breiten und 3 cm hohen Schlitz, die Hinterseite wird durch eine milchweiße Porzellanplatte gebildet, auf welcher 5 tiefschwarze, 1 mm dicke Striche, je 1 mm von einander ent-


fernt, gezeichnet sind. Die Bakterienemulsion wird nun anfangs absichtlich zu dicht angelegt, und dann erst mit Kochsalzlösung so lange verdünnt, bis eine von Zeit zu Zeit entnommene Probe bei Betrachtung gegen eine konstante Lichtquelle (Glühlampe) eben die Zählung der 5 Striche gestattet. Selbstverständlich ist die beschriebene Aichung des kleinen Instrumentchens eine rein empirische; doch hat sie sich bewährt und liefert sicherlich genauere Resultate als die Angabe der Oesengröße (hanf-, mohn- u. korngroß), welche Menge in einer abgemessenen Menge Flüssigkeit zur Aufschwemmung gelangt.

Als Rotzstamm wird stets der gleiche Stamm (Rotz G) verwendet, welcher unter 14 Rotzstämmen ganz verschiedener Herkunft am konstantesten und zwar von allen Rotzseris gleichfalls verschiedener Provenienz agglutiniert wird. Es wird immer eine 8- bis höchstens 14tägige Kultur verwendet, und die Virulenz durch monatlich einmalige Meer-schweinchenpassage erhalten. Nach unseren Erfahrungen liegen die Verhältnisse, was Agglutinierbarkeit der verschiedenen Stämme, sowie Agglutinationsfähigkeit der verschiedenen Sera, Alter der Kultur, Alter der Emulsion, Virulenz anbelangt, äußerst kompliziert, worauf in der II. Mitteilung näher eingegangen werden soll. Nur so viel sei bemerkt, daß unser jetzt ausschließlich verwandter Stamm G der einzige von 14 verschiedenen Stämmen ist, der konstant von allen 15 Rotzseris agglutiniert wird. Es gibt Stämme, auf welche von 15 notorischen Rotzseris nur einige wenige einwirken, während die übrigen Sera wie normale reagieren.

Die Bacillen werden in der Emulsion durch 3—4 stündiges Erhitzen auf 60° C abgetötet, nachdem durch Ausstriche auf Agarplatten die Reinheit der Emulsion nachgewiesen wurde. Die Emulsion wird im Dunklen bei Zimmertemperatur aufbewahrt und kann durch längere Zeit benutzt werden.

#### Anfertigung der Proben.

Die Proben werden in sogenannten Embryoschalen angelegt; das sind Blockschälchen aus Glas, gleich den Tuschschälchen der Zeichner. Sämtliche Proben enthalten gleichviel Flüssigkeit (40 Einheiten) und darunter wieder stets gleichviel Emulsion (20 Einheiten). Als Einheit wurde empirisch 0,03 ccm als praktisch befunden. Alle früheren Versuche, welche nicht mit diesem exakten Maß, sondern durch Zählung von Tropfen aus Kapillarpipetten angelegt worden waren, zeigten durch ganz unerwartete Ungleichmäßigkeiten in den Resultaten die Unverlässlichkeit dieser Tropfmethode. Selbst bei gleichbleibender Pipette und gleicher Neigung zeigen die einzelnen Tropfen je nach der Menge der in der Pipette noch enthaltenen Flüssigkeit und namentlich je nach dem Druck, den der drosselnde Finger ausübt, Schwankungen in der Tropfen-größe bis zum doppelten Volumen.

Die genaue und dabei doch rasch anzustellende Abmessung der Einheiten erfolgt durch ein Instrument, dessen Prinzip zu ähnlichen Zwecken schon lange Anwendung findet. Das Instrument hat die Gestalt einer , wobei der längere Schenkel das Vorratsgefäß, der kürzere, senkrecht abgebogene das Meßgefäß darstellt; letzteres ist daher kalibriert und graduiert, in 10 Abteilungen zu je 0,03 ccm, faßt also im ganzen 0,3 ccm. Die Kommunikation zwischen beiden Gefäßen wird durch einen Glashahn mit einer rechtwinklig gebogenen Bohrung hergestellt; ist das Meßgefäß bis zur oberen Marke gefüllt, so genügt eine Drehung des Hahnes um 90°, um die Kommunikation des Meßgefäßes mit dem Abflußrohre herzustellen und so die abfließende Menge genau zu messen. Die Hand-

habung des Apparates ist bei einiger Uebung sehr einfach und erfordert wesentlich weniger Zeit als die Abzählung der einzelnen Tropfen.

Was nun die Verdünnungen anlangt, welche das zur Untersuchung gelangte Serum erfährt, so sind dabei folgende Gesichtspunkte maßgebend. Aus den eingehenden Untersuchungen von Fedorowsky, Arpád, Pokchichevsky, Wladimiroff, Reinike, Langer, sowie eigenen, geht mit Sicherheit hervor, daß normale Pferdesera bei Anwendung abgetöteter Kulturen und makroskopischer Beurteilung bis 1:400 agglutinieren können, so daß erst über 1:400 der Rotzverdacht begründet ist; andererseits aber bestehen bei sicheren Rotzseris Werte weit über 1:1000 bis 1:10000. Es wird demnach bei allen Seris zuerst eine orientierende Probe mit 1:200 angestellt. Fällt dieselbe negativ aus, und ist das Pferd auch klinisch unverdächtig, so wird es als unverdächtig bezeichnet; fällt jedoch die Probe positiv oder zweifelhaft aus, so wird eine größere Reihe von Verdünnungen (1:400, 1:800, 1:1000, 1:1340, 1:2000) angelegt. Fallen auch diese Proben positiv aus, so wird das Pferd als rotzig bezeichnet. Es ist nun Sache der weiteren Erfahrung, festzustellen, einerseits, ob der Wert 1:800 nicht auch unter Umständen von gesunden oder anderweitig erkrankten Tieren gegeben wird und andererseits, ob jedes rotzige Tier sicher mindestens bei 1:800 und höher agglutinieren muß. Die bisherigen Erfahrungen sprechen dafür, daß unter Zugrundelegung des Grenzwertes 1:1000 eher ein Tier als rotzig bezeichnet wird, das pathologisch-anatomisch keinerlei Rotzveränderungen aufweist, als daß ein sicher rotziges Tier übersehen wird. Sollte sich im Laufe der weiteren Untersuchungen diese letzte Beobachtung als Regel herausstellen, so wäre die Möglichkeit gegeben, den Grenzwert höher zu stellen, 1:2000 oder noch höher, so daß die Anzahl der negativen Fehlergebnisse dadurch immerhin vermindert würde.

Uebrigens sind gerade jene angeblichen Fehldiagnosen, welche also durch eine positive Agglutinationsprobe bei negativem Sektionsbefunde gegeben erscheinen, mit großer Vorsicht aufzunehmen, seit eingehende Untersuchungen (Wladimiroff, Bonome und ein eigener Fall) gezeigt haben, daß erst ausgedehnte Tierversuche die Anwesenheit von Rotzbacillen in anatomisch nicht oder durchaus nicht charakteristisch veränderten Organen, namentlich in Lymphdrüsen nachweisen können.

Die Serumverdünnungen werden nun nach folgendem Prinzip angelegt. Da die Verdünnungen jedenfalls in den Hunderten sich bewegen, wird das Serum zuerst auf 1:100 verdünnt; das geschieht in Mischpipetten, welche analog den Melangeuren bei der Blutkörperchenzählung konstruiert sind: eine genau kalibrierte Kapillare ist an einer Stelle zu dem 100fachen Volumen des Fassungsraumes der Kapillaren aufgeblasen (0,02 ccm:2,0). Dieses 100fach verdünnte Serum kommt nun in das Vorratsgefäß des Meßapparates, und mit diesem wird die Serumverdünnung durch entsprechenden Kochsalz- und stets gleichbleibendem Emulsionszusatz (20 Einheiten) nach folgendem Schema ausgeführt (s. Tabelle p. 185).

Durch Aenderung der Gesamtmenge lassen sich andere Reihen von Verdünnungen herstellen; eventuell kann durch eine Grundverdünnung des Serums 1:200 die Gesamtverdünnung auf das Doppelte erhöht werden.

Da die Abmessung der Kochsalz- und Emulsionsmengen keinerlei besondere Kenntnisse verlangt, können sie bei einiger Schulung von einer Hilfskraft ausgeführt werden, wodurch die ganze Untersuchung

Anzahl der Einheiten 100fach verdünnten Serums	Anzahl der Einheiten Kochsalzlösung	Anzahl der Einheiten Rotzemulsion	Gesamtmenge	Verhältnis des Serums zur Gesamtmenge
10	10	20	40	1 : 400
9	11	20	40	1 : 444
8	12	20	40	1 : 500
7	13	20	40	1 : 570
6	14	20	40	1 : 666
5	15	20	40	1 : 800
4	16	20	40	1 : 1000
3	17	20	40	1 : 1340
2	18	20	40	1 : 2000
1	18	20	40	1 : 4000

wesentlich beschleunigt wird. Unter Zuziehung einer Hilfskraft ist es z. B. möglich, das Serum von 25 Pferden in  $1\frac{1}{2}$  Stunden bei Anlegung einer Verdünnung (1 : 1000) zu untersuchen. Bei solcher Massenuntersuchung, wo es sich handelt, daß Blut sämtlicher in einem Stalle untergebrachter Pferde in kurzer Zeit zu untersuchen, werden die Meßgefäße durch Metallklammern gehalten, welche verschieblich auf Seitenarme eines Ständers angebracht sind. Das ganze System kann in der Horizontalebene um die vertikale Stange des Ständers gedreht werden, so daß nach Abmessung der einen Serumprobe das gebrauchte Meßgefäß zur Seite gedreht und ein anderes trockenes Gefäß zum Abmessen bereit steht; das gebrauchte wird sofort durch Alkohol und Aether und Durchblasen eines Luftstromes gereinigt, getrocknet und sodann in eine der leerstehenden Metallklammern befestigt, so daß die Arbeit ununterbrochen vor sich gehen kann.

Sobald die Mischung durch den Zusatz des Serums vollendet ist, wird die Blockschale an der oberen Fläche mit etwas Vaseline bestrichen und eine genau passende Glasplatte durch eine Metallklammer darauf gepreßt. Die Proben werden nun durch mehrmaliges Wenden der Blockschale innig gemischt und sodann signiert. Sie kommen dann auf 1 Stunde in eine Temperatur von  $52-54^{\circ}\text{C}$ , wodurch einerseits die Sterilität gewährleistet und andererseits der Agglutinationsprozeß beschleunigt wird. Nach einer Stunde werden sie neuerlich durch mehrmaliges Umdrehen der Blockschalen gemischt und in den Brutschrank gestellt, woselbst sie bis zur Beobachtung nach 16—24—36 Stunden verbleiben.

Selbstverständlich werden auch entsprechende Kontrollpräparate angelegt: mehrere Proben mit gleicher Verdünnung wie das fragliche Serum mit notorischen Rotzseris zum Beweise der Agglutinierbarkeit der Emulsion, ferner mit normalem Pferdeserum und schließlich nur mit Kochsalz ohne jeden Serumzusatz, zum Beweise des Fehlens der Spontanagglutination.

#### Beurteilung der Resultate.

Nach 16 resp. 24 Stunden, bei zweifelhaftem Ausfalle selbst nach 36 Stunden, werden die Proben dem Brutschrank entnommen und das Resultat bestimmt. Bisweilen erfolgt nämlich die Agglutination so zögernd, daß sie nach 24 Stunden angedeutet und nach 36 Stunden erst abgeschlossen erscheint. Nach 36 Stunden konnte in keinem Falle eine Aenderung des Standes festgestellt werden.

Die Beurteilung erfolgt durch die Besichtigung der Probe mit einer

6fach vergrößernden Präparierlupe. Die Blockschalen werden auf den gläsernen Objektisch der Lupe gestellt, die bedeckende Glasplatte entfernt und die Proben nun gegen einen schwarzen Hintergrund durchmustert. Bei negativem Ausfalle haben sich die Bakterien in Form einer vollständig homogenen Wolke am Grund der Schale angesammelt. Beim leichten Aufrütteln lösen sich von der Wolke zarte Schleier ab, welche aber selbst an den zartesten Stellen vollkommen homogen sind. Wird die Probe nach Auflegen der Glasplatte kräftig geschüttelt, so ist die Anwesenheit von Bacillen nur an einer diffusen, rauchgrauen Trübung der ganzen Probe kenntlich.

Bei positivem Ausfalle haben sich die Bakterien gleichfalls am Grund der Schale angesammelt, aber die Wolke besteht aus lauter einzelnen Körnchen, gleich Schneeflocken, beim leichten Aufrütteln zerstiebt die Wolke sofort in diese Körnchen, und bei etwas kräftigerem Schütteln ist die Probe gleich wie der gestirnte Himmel mit Flöckchen übersät. Die Größe der einzelnen Körnchen in verschiedenen Proben schwankt außerordentlich; während sie in der einzelnen Probe fast immer von ungefähr gleicher Größe sind, können sie bei Verwendung anderer Emulsionen und anderer Sera von 1—2 mm im Durchmesser bis zur Grenze des mit der Lupe eben sichtbaren schwanken. Bisweilen stellt sich das Bild des positiven Ausfalles etwas anders dar: die Körnchen liegen nicht einzeln, sondern sind untereinander durch zarte Fäden verbunden.

Werden in einem solchen Falle die Flöckchen durch kräftiges Aufschütteln voneinander getrennt, so entstehen nicht wie im ersten Falle mehr weniger runde Körnchen, sondern spindelförmige Gebilde. Nachdem diese Art des Ausfalles wiederholt bei sicheren Rotzseris und Anwendung der gleichen Emulsion zur Beobachtung kam, wurde kein Bedenken getragen, diese Art des Ausfalles zur positiven zu rechnen.

Selbstverständlich gibt es auch zwischen diesen beiden Formen des positiven und negativen Ausfalles Zwischenformen, bei denen die Agglutination nur angedeutet oder unvollständig erfolgte. In solchen Fällen wird durch Anlegen mehrerer Verdünnungen der Titer des Serums genau bestimmt, während bei den Proben, welche eine sichere Entscheidung gestatten, zur Kontrolle dieselbe Verdünnung wie beim ersten Male wiederholt wird.

Die mikroskopische Beobachtung im hängenden Tropfen wird in der Regel nicht vorgenommen, da es sich durch zahlreiche Kontrolluntersuchungen herausgestellt hat, daß die Resultate der Beobachtung durch die Lupe, wobei durch Einstellen auf verschiedene Ebenen und Aufrütteln der Probe die gesamte Bacillenmenge genau durchmustert werden kann, sich vollständig mit den bei der mikroskopischen Beobachtung gefundenen decken. Sind die Klümpchen so fein, daß sie mit der Lupe nicht mehr erkannt werden, so ist das Resultat auch im hängenden Tropfen bei stärkerer Vergrößerung zweifelhaft. Bei den Untersuchungen, welche anfangs zur Kontrolle der jetzt fast ausschließlichen Beobachtungsart mit der Lupe mit stärkerer Vergrößerung (Zeiß, Obj. 6 Kompens. Okul. 12) im hängenden Tropfen vorgenommen wurden, galt als positiver Ausfall jener, bei welchem die Zahl der unveränderten, in lebhafter Molekularbewegung befindlichen Bacillen in entschiedener Minderheit zu den unbeweglichen, deformierten, in Häufchen zu mindestens 6—10 Einzelindividuen verklebten Bacillen standen. Als wertvoller Behelf zur Beurteilung erweist sich die Beobachtung des Randes des hängenden

**Tropfens.** Während nämlich im Kontrollpräparate und bei negativem Ausfalle der Probe, namentlich wenn das Präparat einige Minuten ruhig gelegen hat, am Rand des Tropfens sich ein zusammenhängender, ziemlich breiter Saum von Bacillen gebildet hat, ist dieser Saum bei positivem Ausfall an vielen Stellen unterbrochen, indem die Bacillen an einzelnen Stellen zu größeren Häufchen angesammelt, dazwischen Lücken gebildet haben oder indem der Saum ganz fehlt, wenn bei stärkerem Ausfalle der Probe sämtliche Bacillen in den Agglutinationsprozeß hineingezogen wurden und in Form größerer Klumpen sich am tiefsten Punkte des Tropfens angesammelt hatten. Von der Verwendung eines Immersionssystemes wurde ganz abgesehen, nachdem es sich herausgestellt hat, daß diese Art der Beobachtung neben der Unbequemlichkeit des kleineren Sehfeldes noch die Gefahr von Trugschlüssen in sich birgt.

#### Literatur.

- 1) Affanassjeff, Beitrag zur Serumdiagnose des Rotzes. (Centralblatt f. Bakt. Bd. XXIX. 1901. p. 41.)
- 2) Fedorowky, Zur Frage der Agglutination der Rotzbacillen vom vergleichend pathologischen und differentialdiagnostischen Standpunkte aus. Inaug.-Diss. Petersburg 1903. (Russisch.)
- 3) Wladimiroff, Rotz. (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. Bd. IV.)
- 4) Reinike, Die Serodiagnose mit besonderer Berücksichtigung der Rotzkrankheit des Pferdes. (Zeitschr. f. Veterin.-Kunde. 1904. Heft 6. p. 245.)
- 5) Rabieaux, Beitrag zur Serodiagnose des Rotzes. (Recueil vét. Bd. II. 1902. p. 303.)
- 6) Langer, Untersuchungen über die differential-diagnostische Bedeutung der Rotz-agglutination bei den wichtigsten innerlichen Erkrankungen der Pferde. (Monatsschr. f. prakt. Tierheilkunde. Bd. XVI. 1905. Heft 6.)
- 7) Bonome, Ueber Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes während der Rotzinfektion. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5. p. 601.)
- 8) Arpád, Jul., Beitrag zur Agglutination des Rotzbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. XXXII. 1902. p. 87.)
- 9) Pokchichevsky, Zur Serumdiagnose des Rotzes. (Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. XXXI. 1902. p. 507.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Wirkung der Radiumstrahlen auf das Virus rabiei in vitro und im tierischen Organismus.

Vorläufige Mitteilung<sup>1)</sup>.

Von Prof. **Guido Tizzoni** und cand. med. **Alessandro Bongiovanni**.

Die überaus spärlichen und strittigen Kenntnisse, die man heute über die Wirkung des Radiums auf die verschiedenen Virusarten und die bezüglichlichen Toxine besitzt, veranlaßten uns, einige Untersuchungen über diesen Gegenstand vorzunehmen.

Zunächst lenkten wir unsere Aufmerksamkeit auf das Virus rabiei, weil dasselbe besser als die anderen dieser Forschung gedient hat, sei es infolge seiner großen Empfindlichkeit gegen die äußeren Einflüsse physikalisch-chemischer Natur, sei es infolge der großen Ähnlichkeit, die

1) Der königl. Akademie der Wissenschaften zu Bologna in der Sitzung vom 9. April 1905 vorgelesen, mit Tiervorstellungen.

zwischen seiner Wirkung und jener einiger Fermente besteht, auf welche letztere wir wissen, daß das Radium mitunter eine sehr energische Wirkung ausübt, sei es schließlich, weil dieses Virus im Tiere eine systematische, auf das Zentralnervensystem beschränkte Infektion hervorruft, auf welche man also in einer sehr direkten Weise dadurch einwirken könnte, daß man die Radiumstrahlen auf das Auge richtete.

Unsere Versuche wurden sämtlich an Kaninchen angestellt unter beständiger Anwendung des fixen Virus, welches wegen seiner hohen Wirksamkeit für diese Forschungsart die höchste Versuchsstufe darstellt, und es liefert uns mithin eine sichere Zuverlässigkeit bezüglich des Wertes der gewonnenen Resultate. Jeder Versuch hatte ferner das entsprechende Kontrolltier, welches immer regelmäßig mit den Erscheinungen der paralytischen Wut starb binnen derselben Frist von 6—8 Tagen bei den am Auge und unter die Dura mater injizierten Tieren, von 11 Tagen bei jenen in den Nervus ischiadicus injizierten.

Die ausgeführten Versuchsreihen sind zwei, die eine *in vitro*, die andere im tierischen Organismus. Bei der ersteren wurde das in sterilisierter Bouillon zu dem Verhältnis von 1 Proz. aufgelöste Virus rabiei durch eine bestimmte Zeit dem direkten Einfluß der Radiumstrahlen ausgesetzt; bei der zweiten ließ man die Strahlen während einer Stunde täglich für 8 Tage ohne Unterbrechung in das Auge des mit demselben Brei aus dem Virus rabiei ins Auge oder unter die Dura oder in den Nervus ischiadicus infizierten Tieres konvergieren. Bei einigen Fällen fiel der Beginn der Behandlung mit demselben Augenblick der Infektion zusammen und dauerte während der 7 darauffolgenden Tage (gleichzeitige Methode); bei anderen begann hingegen die Strahlenbehandlung erst eine oder mehrere Stunden nach der Einimpfung (Heilmethode).

Wir bemerken indessen, daß die in der angegebenen Weise und Zeit verwendeten Radiumstrahlen niemals irgendwelche örtliche oder entfernt wahrnehmbare Veränderungen hervorriefen. Die aus diesen Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse, die wir in der vorliegenden Mitteilung angeben wollen, sind folgende:

#### Versuche *in vitro*.

Die Radiumstrahlen üben in den Eprovetten eine überaus rasche Zersetzungswirkung auf das zu der Umgebungstemperatur von 12—15° C erhaltene Virus rabiei aus, welches sich nach kurzer Zeit (2 Stunden) dieser Behandlung vollkommen unschädlich zeigte, wenn es in das Auge der Tiere injiziert wurde. Wenn dann die Wirkung des Radiums auf das Virus rabiei nicht ausreichend war (1 Stunde), so starben die Tiere mit großer Verspätung gegenüber den Kontrolltieren (8 Tage), und nicht unter den gewöhnlichen Erscheinungen der Hundswut, sondern infolge einer langsamer verlaufenden Erkrankung (10 Tage), wo die fortschreitende Abmagerung bis zum Marasmus vorwiegend war. Die in freier Beziehung mit der Luft belassenen Kontrollröhren verursachten ausnahmslos den Tod der Tiere mit dem Bild der paralytischen Rabies innerhalb der oben angegebenen Zeit.

Weitere schon begonnene Untersuchungen werden uns später besagen, ob das auf diese Weise vernichtete Virus rabiei ein wirksameres und gleichzeitig praktischeres und billigeres Vaccinum zu liefern vermag, als jenes von Pasteur, welches zur Zeit für die antirabische Vaccination beim Menschen angewendet wird.



### Versuche im Tiere.

a) Gleichzeitige Wirkung. Die Radiumstrahlen haben sich immer als wirksam erwiesen, wenn ihre Anwendung in demselben Augenblicke erfolgte, in welchem die Injektion ausgeführt wurde, sowohl gegen Infektionen ins Auge, wie gegen direkt ins Gehirn oder in den Nervus ischiadicus vorgenommene Infektionen. Die so behandelten Tiere zeigten bloß eine schwache Temperaturerhöhung, eine vorübergehende Gewichtsabnahme und etwas Steifheit oder Schwäche der hinteren Extremitäten in demselben Augenblicke des Todes der entsprechenden Kontrolltiere oder kurze Zeit danach, was, wie wir schon gesagt haben, nicht im geringsten der Wirkung der Radiumstrahlen zuzuschreiben ist.

Von diesen Tieren leben einige (die zuerst operierten) in vorzüglichsten Gesundheitsbedingungen noch 38 Tage, nachdem sie mit dem fixen Virus injiziert wurden<sup>1)</sup>.

Dies beweist, daß die während 8 Stunden durch 8 Tage ununterbrochen ins Auge gerichteten Radiumstrahlen im stande sind, selbst auf sehr entfernte (Nervus ischiadicus) Infektionsherde einzuwirken; ihre Wirkung zeigt sich ferner ebenfalls wirksam, gleichgültig, ob sie auf das der ausgeführten Infektion des Virus rabiei entsprechende Auge, oder ob sie auf jenes der entgegengesetzten Seite ausgeübt wird.

b) Heilwirkung. Das nämliche Resultat erhielt man, wenn die Anwendung der Radiumstrahlen eine Stunde nach der Infektion begann. Nach 24 Stunden Erkrankung erwies sich hingegen dieselbe in der oben angegebenen Weise und Zeit vorgenommene Behandlung als vollkommen erfolglos. Durch weitere Untersuchungen werden wir versuchen, die Grenzen der Behandlung festzustellen, sei es in Bezug auf die von der hervorgerufenen Infektion zu verstreichende Zeit, sei es in Bezug auf die Anwendungsdauer des Heilmittels. Wir werden auch sehen, ob die Heilung bei den überlebenden Tieren dauernd ist und ob sie sich stark und für lange Zeit gegen das Virus rabiei als immunisiert zeigen werden.

Indessen kann man in Erwartung der Feststellung, wie weit diese Untersuchungen erstreckt werden dürfen, aus alledem, was bis jetzt beobachtet wurde, mit absoluter Sicherheit behaupten, daß das Virus rabiei vom Radium sowohl in vitro wie im Tiere rasch vernichtet wird, welches auch die Stelle war, wo die Infektion erfolgte, mithin wie groß auch die Entfernung zwischen dieser und dem Teil ist, auf den die Wirkung des Heilmittels gerichtet wird.

Bezüglich des Mechanismus, durch welchen die Radiumstrahlen ihre Heilwirkung im Tiere entfalten, wagen wir vorläufig keine Hypothesen aufzustellen.

Alles spricht aber für eine Desinfektion oder Entgiftung des ganzen Nervensystems seitens der durch das Auge angewendeten Radiumstrahlen.

---

1) Bei der Korrektur der Druckproben sind diese Tiere noch am Leben, nach 103 Tagen in vorzüglichem Gesundheitszustand.

*Nachdruck verboten.*

## Alsol, ein neueres Tonerdepräparat

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Göttingen. Direktor:  
Prof. Dr. E. v. Esmarch.]

Von Dr. med. **Heinrich W. E. Ehlers.**

Von der Firma Athenstaedt u. Redeker in Hemelingen bei Bremen wird ein Tonerdepräparat, das Alsol, in Form des 50-proz. Liquor Alsoli in den Handel gebracht. Es ist eine Doppelverbindung des Aluminiums mit Essigsäure und Weinsäure und wird von Athenstaedt als Aluminium acetico-tartaricum bezeichnet.

Nach den Mitteilungen von Aufrecht<sup>1)</sup> soll dem Alsol ein höhere bakterizide Wirkung innewohnen, als der gewöhnlichen officinellen essigsauren Tonerde und sogar der Karbolsäure.

Herr Prof. v. Esmarch veranlaßte mich nun, diese Versuche nachzuprüfen und so bin ich zu den Resultaten gekommen, die im folgenden niedergelegt sind.

Bei den Untersuchungen habe ich mich an die Methode angelehnt, die in K. B. Lehmann, Methoden der praktischen Hygiene, 1890, angegeben wird. Als Testobjekte benutzte ich folgende Mikroorganismen: Sporenfreie Milzbrandbacillen, Typhusbacillen, Cholera-bacillen und *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Dabei ging ich nun so zu Werke, daß ich in je 5 ccm Bouillon eine Kultur der betreffenden Bakterienart anlegte. Hatten diese Kulturen 24 Stunden bei 37° im Brutofen gestanden, dann wurde von ihnen zur Kontrolle je ein Röhrchen mit Bouillon und flüssiger Gelatine geimpft und von letzterem eine Platte gegossen. Hierauf wurden je 5 ccm des betreffenden Desinficiens (Alsol, essigsaure Tonerde und Karbolsäure, in einer bestimmten Verdünnung der 24 Stunden alten Bouillonkultur zugesetzt. In bestimmten Intervallen wurde von dem Bakterienbouillon-Desinficiensgemisch je eine Platinöse in Bouillon und flüssige Gelatine geimpft und von letzterer Platten gegossen.

Die Bouillon kam dann für 24 Stunden bei 37° in den Brutofen; nach dieser Zeit wurde festgestellt, ob in ihr ein Wachstum zu bemerken war oder nicht. Die Gelatineplatten blieben bei 18° stehen und nach 5 Tagen wurden die etwa gewachsenen Kolonien mit der Lupe gezählt.

In den Tabellen habe ich in der ersten Rubrik die Stärke des Desinficiens in Prozenten angegeben. In den folgenden Abschnitten bedeuten die obersten Zahlen die Zeiten, nach deren Ablauf ich je eine Platinöse des Bakterienbouillon-Desinficiensgemisches in Bouillon und Gelatine überimpfte. Die darunter befindlichen Spalten sind in zwei Teile geteilt. In der ersten Hälfte ist durch + oder — angegeben, ob in der Bouillon nach 24 Stunden etwas gewachsen ist oder nicht. In der zweiten Hälfte finden sich die Angaben über das Wachstum auf den Gelatineplatten. Als unzählige habe ich die Kolonien angegeben, wenn ich mehr als 10000 von ihnen fand; sonst habe ich die Keimzahl festgestellt, sowie eine etwa eingetretene Verflüssigung der Gelatine.

1) Mitteilungen aus dem chemischen und bakteriologischen Institut von Dr. Aufrecht, Berlin N: Ueber die desinfizierende Wirkung einiger Tonerdepräparate. Deutsche Aerztezeitung. 1900. Heft 4. 15. Februar.

Meine Resultate, die ich auf diese Weise gewonnen habe, stehen im Widerspruch mit den Angaben von Aufrecht, wenigstens was den *Staphylococcus pyogenes aureus* anbelangt. Nach der Aufrechtschen Tabelle wirkt das Alsol nach 15 Minuten in einer 1-proz. Lösung tödend auf diese Kokkenart, während die Karbolsäure in derselben Konzentration erst nach 30 Minuten diese Wirkung zeigt und die essigsäure Tonerde in einer 2-proz. Lösung nach 30 Minuten. Bei meinen Versuchen ergab sich ein anderes Resultat, wie ein Blick auf Tabelle I lehrt. Hier haben eine 2,5-proz. Lösung von Alsol und eine 2-proz. essigsäure Tonerdelösung erst nach 2-stündiger Einwirkung einen schwachen Einfluß gezeigt, indem nach dieser Zeit das Wachstum auf den Gelatineplatten vollständig verhindert war, während sich in den Bouillonröhrchen doch noch eine Lebensfähigkeit der Keime bemerkbar machte. Eine 1-proz. Karbolsäurelösung dagegen wirkte schon nach 1 Minute so energisch, daß weder in den Bouillonröhrchen, noch auf den Gelatineplatten ein Wachstum zu bemerken war.

Ia. *Staphylococcus pyogenes aureus*: Bouillon + oder —;  
Platten: Keimzahl.

Liquor Alsoli 50%		1	2	5	10	15	20	30	40
5 ccm Bouillonkultur	2,5%	+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " 5% Alsol		+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " Bouillonkultur	5%	+	"	+	"	+	"	+	"
5 " 10% Alsol		+	"	+	"	+	"	+	"
5 " Bouillonkultur	10%	+	"	+	"	+	"	+	"
5 " 20% Alsol		+	"	+	"	+	"	+	"
Liquor aluminii acetici 8%		1	2	5	10	15	20	30	40
5 ccm Bouillonkultur	2%	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.
5 " 4% Ess. Ton.		+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.
5 " Bouillonkultur	4%	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. n. verfl.	+	unz. n. verfl.
5 " 8% Ess. Ton.		+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. n. verfl.	+	unz. n. verfl.
Karboll		1	2	5	10	15	20	30	40
5 ccm Bouillonkultur	0,5%	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.
5 " 1% Karbol		+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.
5 " Bouillonkultur	1%	—	0	—	0	—	0	—	0
5 " 2% Karbol		—	0	—	0	—	0	—	0

Ib. *Staphylococcus pyogenes aureus*: Bouillon + oder —;  
Platten: Keimzahl.

Liquor Alsoli 50%		1 Stunde	2 Stunden
5 ccm Bouillonkultur	2,5%	+	768
5 " 5% Alsol		+	0
5 " Bouillonkultur	5%	+	640
5 " 10% Alsol		+	0
5 " Bouillonkultur	10%	+	256
5 " 20% Alsol		+	0
Liquor alum. acetici 8%		1 Stunde	2 Stunden
5 ccm Bouillonkultur	2%	+	3200
5 " 4% Ess. Ton.		+	0
5 " Bouillonkultur	4%	+	1920
5 " 8 Ess. Ton.		+	0

Dieser Versuch zeigt, daß sich das Alsol und die essigsäure Tonerde in ihrem bakteriziden Verhalten dem *Staphylococcus pyogenes aureus* gegenüber die Wage halten, der Karbolsäure aber unterlegen sind.

Auf Tabelle II finden sich die Resultate der Versuche mit sporenfreien Milzbrandbacillen. Hier erscheint die essigsäure Tonerde dem Alsol überlegen, indem sie in 2-proz. Lösung nach einer Minute in der Bouillon noch ein Wachstum aufkommen läßt, während auf den Gelatineplatten dergleichen nicht zu sehen ist. Bei dem Alsol tritt diese Wirkung in einer 2,5-proz. Lösung erst nach 5 Minuten auf. Auch hier zeigt sich die höhere desinfektorische Kraft des Karbols. Eine 0,5-proz. Lösung hat nach 40 Minuten jegliches bakterielle Leben in Bouillon und Gelatine vernichtet. Auffallend ist in dieser Tabelle, daß die essigsäure Tonerde in allen Fällen das Wachstum auf den Platten verhindert hat, während bei dem Alsol doch in 3 Fällen sich Keime auf der Gelatine gezeigt haben.

II. Sporenfreier Milzbrand: Bouillon + oder —; Platten: Keimzahl.

Liquor Alsoli 50%		1	2	5	10	15	20	30	40								
5 ccm Bouillonkultur	2,5%	+	150	+	80	+	0	+	0	+	0	+	0				
5 „ 5% Alsol																	
5 „ Bouillonkultur	5%	+	8	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0				
5 „ 10% Alsol																	
5 „ Bouillonkultur	10%	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0				
5 „ 20% Alsol																	
Liquor aluminii acetici 8%		1	2	5	10	15	20	30	40								
5 ccm Bouillonkultur	2%	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0				
5 „ 4% Ess. Ton.																	
5 „ Bouillonkultur	4%	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0				
5 „ 8% Ess. Ton.																	
Karboll		1	2	5	10	15	20	30	40								
5 ccm Bouillonkultur	0,5%	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	unz. verfl.	+	46	+	17	+	1	+	0	—	0
5 „ 1% Karbol																	
5 „ Bouillonkultur	1%	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	—	0		
5 „ 2% Karbol																	

Dies ist wohl einer besonderen Empfindlichkeit des sporenfreien Milzbrandbacillus den Tonerdepräparaten gegenüber zuzuschreiben.

Tabelle III gibt ein Bild, das für das Alsol ein günstigeres ist. Eine 5-proz. Lösung wirkt nach 40 Minuten auf das Wachstum der Typhusbacillen auf den Platten ungünstig, es sind keine Keime zum Vorschein gekommen, während die essigsäure Tonerde in einer 4-proz. Verdünnung noch nach 40 Minuten eine üppige Flora aufkommen läßt. Diesen beiden gegenüber hat sich die Ueberlegenheit der Karbolsäure aufs neue bewährt: in einer 1-proz. Lösung hat sie sämtliche Typhuskeime vernichtet.

Den Choleravibrionen gegenüber besitzt das Alsol, wie Tabelle IV zeigt, ganz besonders energisch wirkende Eigenschaften. Nach 15 Minuten sind sie durch eine 1-proz. Lösung vollständig abgetötet. Die essigsäure Tonerde vermag das Wachstum der Choleravibrionen erst in einer 4-proz. Lösung nach 30 Minuten zu unterdrücken, während eine 0,5-proz. Karbollösung sämtliche Keime bereits nach 1 Minute zerstört hat.

Dies alles zusammengefaßt sagt uns, daß wir in dem Alsol ein Desinfektionsmittel haben, das dem Aluminium aceticum ruhig zur Seite

gestellt werden kann. Seine bakterizide Kraft ist in manchen Fällen eine höhere als die der essigsäuren Tonerde. Allein dieser Unterschied ist ein zu wenig ausgesprochener, als daß er für den Praktiker von großer Bedeutung wäre. Jedenfalls reichen beide an die energische Wirkung der Karbolsäure nicht heran.

Zum Schluß sei es mir gestattet, Herrn Prof. v. Esmarch für die Anregung zu diesen Versuchen meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

### III. Typhus: Bouillon + oder —; Platten: Keimzahl.

Liquor Alsoli 50%		1	2	5	10	15	20	30	40
5 ccm Bouillonkultur	0,05%	+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " 0,1% Alsol	0%	+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " Bouillonkultur	1%	+	"	+	"	+	"	+	"
5 " 2% Alsol	1%	+	"	+	"	+	"	+	"
5 " Bouillonkultur	2,5%	+	"	+	"	+	"	+	256
5 " 5% Alsol	2,5%	+	"	+	"	+	"	+	128
5 " Bouillonkultur	5%	+	2560	+	2240	+	1280	+	384
5 " 10% Alsol	5%	+	2560	+	2240	+	1280	+	384
5 " Bouillonkultur	10%	+	2560	+	2240	+	1280	+	384
5 " 20% Alsol	10%	+	6760	+	3840	+	380	+	0
5 " Bouillonkultur	10%	+	6760	+	3840	+	380	+	0
Liquor aluminii acetici 8%		1	2	5	10	15	20	30	40
5 ccm Bouillonkultur	2%	+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " 4% Ess. Ton.	2%	+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " Bouillonkultur	4%	+	"	+	"	+	"	+	"
5 " 8% Ess. Ton.	4%	+	"	+	"	+	"	+	"
Kربول		1	2	5	10	15	20	30	40
5 ccm Bouillonkultur	0,5%	+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " 1% Kربول	0,5%	+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " Bouillonkultur	1%	+	0	+	0	+	0	+	0
5 " 2% Kربول	1%	+	0	+	0	+	0	+	0

### IV. Cholera: Bouillon + oder —; Platten: Keimzahl.

Liquor Alsoli 50%		1	2	5	10	15	20	30	40
5 ccm Bouillonkultur	0,05%	+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " 0,1% Alsol	0%	+	unz.	+	unz.	+	unz.	+	unz.
5 " Bouillonkultur	1%	+	3840	+	576	+	256	+	0
5 " 2% Alsol	1%	+	3840	+	576	+	256	+	0
5 " Bouillonkultur	2,5%	+	0	+	0	+	0	+	0
5 " 5% Alsol	2,5%	+	0	+	0	+	0	+	0
5 " Bouillonkultur	5%	+	0	+	0	+	0	+	0
5 " 10% Alsol	5%	+	0	+	0	+	0	+	0
5 " Bouillonkultur	10%	+	0	+	0	+	0	+	0
5 " 20% Alsol	10%	+	0	+	0	+	0	+	0
5 " Bouillonkultur	10%	+	0	+	0	+	0	+	0
Liquor aluminii acetici 8%		1	2	5	10	15	20	30	40
5 ccm Bouillonkultur	2%	+	896	+	640	+	512	+	256
5 " 4% Ess. Ton.	2%	+	896	+	640	+	512	+	256
5 " Bouillonkultur	4%	+	50	+	48	+	45	+	32
5 " 8% Ess. Ton.	4%	+	50	+	48	+	45	+	32
Kربول		1	2	5	10	15	20	30	40
5 ccm Bouillonkultur	0,5%	—	0	—	0	—	0	—	0
5 " 1% Kربول	0,5%	—	0	—	0	—	0	—	0
5 " Bouillonkultur	1%	—	0	—	0	—	0	—	0
5 " 2% Kربول	1%	—	0	—	0	—	0	—	0

*Nachdruck verboten.*

## Die Sterilisation elastischer Katheter.

[Aus dem bakteriologischen Privatlaboratorium von Prof. Dr. H. Jäger  
Straßburg i. E.]

Von Paul Sittler, Straßburg i. E.

Mit 1 Figur.

(Schluß.)

Nach 92 Stunden wird der dritte Katheter (zu Beginn des Versuches nur mit Wasser gewaschen) herausgenommen, nach Abspülen mit  $\text{NH}_3$  in Bouillon gebracht und davon eine Agarplatte beimpft. 4 Tage später ist auf der Platte eine große, wie *Prodigiosus* wachsende weiße Kolonie von beweglichen kleinen Bacillen gebildet. Abimpfung auf Agarstrich ergibt weiße Kolonien, die erst nach 14 Tagen rötlich werden. Hiervon geimpfte Agarplatte zeigt nach 3 Tagen weiße Kolonien, die nach weiteren 2 Tagen schwach rosa gefärbt sind und von *Bacillus prodigiosus* gebildet werden. Zugehörige Bouillonröhre mit Katheter noch nach 3 Wochen klar. — Die beiden ersteren Katheter sind durch den 2- und 3-tägigen Aufenthalt in der feuchten Atmosphäre im äußeren Lack etwas gequollen und weich geworden, da, wo sie der nassen Glaswand angelegen haben, sind sie gelblich verfärbt; diese Verfärbung bildet sich nach dem Trocknen aber zurück. Der dritte neue ist am Schluß des Versuches ganz unbeschädigt.

Die Erklärung zu dem positiven Ergebnis dieses Versuches dürfte darin liegen, daß hier die Trioxymethylenpastillen durch eine viel breitere Watteschicht von den Kathetern getrennt waren als in den übrigen Versuchen, so daß die von der einen Pastille abgegebenen Dämpfe durch die doppelte, die Dämpfe der anderen durch die vierfach so breite Watteschicht als gewöhnlich hindurchtreten mußten, um an die infizierten Katheter zu gelangen. — Mangelhafte Tiefenwirkung des Formaldehyds und Absorption desselben durch die Watte (Philipp, Hammerl und Kermauer, Löb, Schlesinger). — Daß trotzdem die Bakterien geschädigt waren, beweist ihr langsames Auskeimen (in mehr als der doppelten Zeit als Kontrollkulturen) und ihr geringes Vermögen, Farbstoff zu bilden. — Auch das Fortdauern der Entwicklungshemmung in den Bouillonröhren, in welche die mit Ammoniaklösung abgespülten (und nach dem Abtropfen eingebrachten) Katheter tauchten, ist von Wichtigkeit.

### Trockene Katheter in Dämpfen des officinellen Formalins.

4 Katheter, wie im ersten Versuch mit *Coli* und *Staphylokokken* infiziert und 10 Stunden lang getrocknet, kommen in ein großes, mit Kork verschlossenes Reagenzrohr, auf dessen Boden sich ca. 5 ccm des officinellen Formalins befindet, von den Kathetern durch Watte getrennt. Nach 15 und 40 Stunden wird je ein *Coli*- und ein *Staphylokokken*-katheter, nach  $\text{NH}_3$ -Abspülung in Bouillon gebracht und davon auf Agarplatten abgeimpft. Beim Herausnehmen des 15 Stunden desinfizierten *Staphylokokken*katheters (mit der ausgeglühten Pinzette) fiel derselbe auf den Fußboden und wurde (vor dem Abspülen mit  $\text{NH}_3$ )

eine Weile unter einen Wasserleitungsstrom gehalten. — Das Straßburger Wasserleitungswasser enthält nach den Untersuchungen der Forsterschen Schule (Kayser, Bloch) ca. 20 Keime im Kubikcentimeter. — Da bei Aufbewahren im Brütschrank die Bouillonröhren der 2 ersten Katheter nach 3 Tagen, die der beiden letzteren nach 2 Tagen ganz klar und die zugehörigen Agarplatten nach derselben Zeit steril geblieben sind, werden alle 4 Katheter, um vielleicht noch daran haftende Formaldehydspuren zu entfernen, mit dem infizierten Ende 1 Stunde lang in je ein Reagenzglas mit steriler Ammoniaklösung gebracht. — In dieser Lösung quillt der äußere Lack (auch eines neuen Katheters) schon nach einigen Minuten stark auf und legt sich in Falten. — Danach werden die Katheter in frische Bouillon gebracht; die früheren Bouillonröhren waren nach 7-tägigem Aufbewahren im Zimmer noch klar. Nach 4 Tagen (bei 37°) sind alle frischen Bouillonröhren (mit den Kathetern) noch klar, nach 6 Tagen wird die Bouillon des 15 Stunden desinfizierten Staphylokokkenkatheters opalisierend trüb (die übrigen klar). Abimpfung davon auf Agar gibt kleine, tautropfenähnliche, aus Stäbchen bestehende Kolonien (Luftinfektion?).

Alle 4 zu zweit angelegten Bouillonröhren zeigen einen ziemlich intensiven Geruch nach Lack, infolge der starken Aufquellung der äußeren Katheterschichten. Daß dieser aufgelöste Lack entwickelungshemmend wirken kann (vergl. die dampfsterilisierten und gekochten Katheter) ist oben für Staphylokokken und Milzbrand beschrieben. — Auch Ammoniak wirkt entwickelungshemmend. 2 Tropfen der bei meinen Versuchen verwandten sterilen Lösung von 1 Liquor ammonii caustici : 10 sterilem Wasser in Bouillon, die mit *Staphylococcus pyogenes aureus* geimpft war, ergab nach 24 Stunden Brüttemperatur ein etwas schwächeres Wachstum als eine Kontrolle, während ein Milzbrandsporen-Faden in Bouillon mit 2 Tropfen derselben Ammoniaklösung auch nach 5 Tagen Brüt- und weiteren 5 Tagen Zimmertemperatur nicht auskeimte; zweimaliges Abimpfen je einer großen Oese von dieser Bouillon auf Agar gab nach mehreren Tagen bei 37° kein Wachstum. Ein anderer Milzbrandsporenfaden, der in Bouillon, welche in gleicher Weise mit  $NH_3$  versetzt war, nach 24 Stunden nicht auskeimte, zeigte, auf Agar übertragen, nach weiteren 24 Stunden üppiges Wachstum. Wurden 2 Tropfen des unverdünnten Liquor ammonii caustici in Bouillon gebracht, so erfolgte darin Staphylokokken-Wachstum erst nach 5 Tagen (bei 37°), eine gleichbehandelte, mit *Bacterium coli* geimpfte Bouillon blieb auch nach dieser Zeit klar (Kontrollbouillonröhren nach 24 Stunden stark getrübt). — Da in dem zuletzt beschriebenen Katheterversuch von den gequollenen Instrumenten beim Uebertragen in Bouillon ziemlich viel von der Ammoniaklösung nicht abtropfte, so hat eventuell auch dieses hier noch entwickelungshemmend gewirkt.

Um diese Schwierigkeiten zu vermeiden, habe ich in den folgenden Versuchen statt der Katheter kleine, etwa 3 cm lange Stücke von Glasröhren (von der Weite der gewöhnlichen Katheter) angewandt, welche jedesmal ganz infiziert und wieder ganz in das neue Nährmedium gebracht werden konnten.

Leicht getrocknete Glasröhren in trockenen Dämpfen aus Trioxymethylen.

4 Glasröhren, wie auch in den folgenden Versuchen, durch Erhitzen in der Bunsenflamme vorher sterilisiert und abgekühlt, werden ca. 5 Mi-

13\*

nuten in eine 8 Stunden alte Coli-Bouillon eingetaucht und  $\frac{1}{4}$  Stunde im Brutschrank leicht angetrocknet. Danach kommen sie in ein weites, mit Kork verschlossenes Reagenzrohr, auf dessen Boden (durch eine dünne Watteschicht getrennt) eine Trioxymethylenpastille liegt. Nach 15 und 24 Stunden wird je eine Glasröhre (mit der Pinzette) herausgenommen, ca. 1 Minute lang in Ammoniaklösung ab gespült und nach Abtropfen in Bouillon gebracht. Nach 48 und 72 Stunden wird eine weitere Glasröhre herausgenommen, ca. 15 Minuten in  $\text{NH}_3$ -Lösung ab gespült und nach Abtropfen in Bouillon gebracht. — Sämtliche Bouillonröhren sind nach einigen Tagen (bei  $37^\circ$ ) klar geblieben.

Um der Möglichkeit zu entgehen, daß in diesem Versuch das *Bacterium coli* schon durch das bloße Antrocknen und trocken Aufbewahren geschädigt oder durch geringe  $\text{NH}_3$ -Mengen im Auswachsen gehemmt wurde, habe ich den Versuch mit *Staphylococcus pyogenes aureus* wiederholt. — An Glasröhren angetrocknete Kontrollproben der verwandten Staphylokokken wuchsen nach mehrtägigem Zimmeraufenthalt in direktem Licht, bei Brüttemperatur in Bouillon prompt aus.

4 Glasröhren, mit 24-stündigen Bouillonkulturen von *Staphylococcus* 10 Minuten infiziert und bei  $37^\circ$  während 3 Stunden getrocknet (kapillär ist in den engen Röhren noch etwas Flüssigkeit zurückgehalten), werden in das gleiche Reagenzrohr — mit 2 Trioxymethylenpastillen — gebracht. Nach 20 und 44 Stunden, 3 und 4 Tagen wird je eine Röhre herausgenommen, ca.  $\frac{1}{2}$  Minute in  $\text{NH}_3$ , danach ebensolange in sterilem Wasser ab gespült und in Bouillon gebracht. Von dem zum Abspülen verwandten Wasser der 20 Stunden desinfizierten Glasröhre wird, nachdem das Wasser 24 Stunden bei  $37^\circ$  gestanden, von dem Spülwasser der 44 Stunden-Glasröhre gleich nach dem Gebrauch je eine Bouillon mit 1—2 Tropfen geimpft; ebenso von der zum Spülen gebrauchten  $\text{NH}_3$ -Lösung der 44 Stunden 3 und 4 Tage desinfizierten Glasröhren; von dem  $\text{NH}_3$  der 44 Stunden-Röhre wird, nachdem es 24 Stunden im Brutschrank gewesen, eine zweite Bouillon geimpft. — Alle Bouillonröhren dieses Versuches sind nach 30 Tagen ( $37^\circ$ ) klar geblieben.

5 Glasröhren werden in sterile Bouillon gebracht, die mit *Staphylococcus pyogenes aureus* geimpft wird, und so 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Dann werden sie 5 Stunden bei  $37^\circ$  getrocknet und 4 davon in dasselbe Reagenzrohr (wie vorher) gebracht. — Die 5. Glasröhre, zur Kontrolle direkt in Bouillon übertragen, ergibt nach 18 Stunden durch Staphylokokken-Wachstum bedingte starke Trübung. — Nach 18-, 24-, 44- und 58-stündiger Formaldehyddesinfektion wird je eine Glasröhre herausgenommen, etwa 15 Sekunden mit  $\text{NH}_3$ -Lösung ab gespült und in Bouillon gebracht. Von dem Spül- $\text{NH}_3$  werden jedesmal 1—2 Tropfen auf Agarstrich gebracht. — Sämtliche Bouillon- und Agarröhren sind nach 10 Tagen steril geblieben. — Nach dieser Zeit werden die verwandten Bouillonröhren mit *Staphylococcus* geimpft, welcher nach 24 Stunden die Röhren stark getrübt hat. — Die 18 Stunden desinfizierte Glasröhre zeigt, in eine zweite Bouillonröhre gebracht, nach weiteren 10 Tagen (bei  $37^\circ$ ) ebenfalls kein Wachstum.

Dämpfe aus Trioxymethylen in Wasserdampf-gesättigter Atmosphäre.

4 Glasröhren, je 5 Minuten mit 8-stündiger Bouillonkultur von *Staphylococcus pyogenes aureus* infiziert und  $\frac{1}{4}$  Stunde bei



37° getrocknet, werden in das schon oben verwandte Reagenzrohr gebracht, auf dessen Boden eine Trioxymethylenpastille und etwas Wasser sich befinden; die Wände des Reagenzrohres sind mit Wasser befeuchtet. Herausnahme je einer Röhre nach 15 und 24 Stunden, 1 Minute langes Abspülen in  $\text{NH}_3$ -Lösung und Verbringen in Bouillon. Nach 48 und 72 Stunden ebenso, aber 15 Minuten lang in  $\text{NH}_3$  abgespült. — Am folgenden Tage hat die 15 Stunden desinfizierte Röhre ihre Bouillon getrübt; mikroskopische Untersuchung ergibt Staphylokokkenwachstum. Die anderen Bouillonröhren sind auch nach mehreren Tagen klar (die 48 Stunden sterilisierte Glasröhre hatte vor dem  $\text{NH}_3$ -Abspülen meine Hand berührt).

#### Getrocknete Objekte in Formalindämpfen.

8 Glasröhren, zur Hälfte mit 8-stündiger Coli-Bouillon, zur Hälfte mit gleichalter Staphylokokken-Bouillon 5 Minuten lang infiziert und  $\frac{1}{4}$  Stunde bei 37° angetrocknet, kommen in dasselbe Reagenzrohr, das ca. 5 ccm Formalin (unter Watte) enthält. Nach 15- und 24-stündiger Desinfektion (wie vorher bei Zimmertemperatur) werden je eine Coli- und eine Staphylokokkenröhre herausgenommen, 1 Minute in  $\text{NH}_3$ -Lösung gespült und in Bouillon gebracht. Nach 48 und 72 Stunden desgleichen, aber Abspülung während 15 Minuten in  $\text{NH}_3$ . — Die 15 Stunden desinfizierte Coli-Glasröhre entglitt beim Herausnehmen der Pinzette und fiel auf den Laboratoriumstisch, die 24 Stunden-Coli-Röhre fiel auf den Boden; beide wurden vor der  $\text{NH}_3$ -Spülung einige Zeit unter die Wasserleitung gehalten. — Alle Bouillonröhren dieses Versuches sind nach mehrtägigem Aufenthalt im Brutschrank steril.

Ob in diesen beiden letzten Versuchen die Glasröhren, welche nach Herausnahme aus den Formaldehyddämpfen mit keimhaltigen Gegenständen in Berührung kamen, durch das Abspülen in Wasser und steriler Ammoniaklösung wieder steril gemacht worden sind, oder ob sich noch eine Entwicklungshemmung durch das Formaldehyd in der Bouillon geltend machte, muß dahingestellt bleiben.

Endlich habe ich die Einwirkung der Formalindämpfe bei Zimmertemperatur auf Milzbrandsporenfäden untersucht.

6 Milzbrandsporenfäden (Prüfung ihrer Resistenz gegen 1-prom. Sublimatlösung, s. unten) — Kontrollfäden auf Agar wuchsen prompt aus — werden in ein gewöhnliches Reagenzglas gebracht, welches, durch eine dünne Schicht Watte ( $\frac{1}{2}$  cm) und eine Luftschicht von 1 cm von den Sporenfäden getrennt, 2 ccm Formalin enthält und mittels Kork fest verschlossen ist. Nach 8, 24, 32, 48, 62 und 72 Stunden wird je ein Faden herausgenommen,  $\frac{1}{2}$  Stunde in sterile Ammoniaklösung gebracht (1 : 10 Wasser), danach  $\frac{1}{4}$  Stunde in sterilem Wasser ausgewaschen und bei 37° in Bouillon aufbewahrt. — Da aus den Fäden nach einigen Wochen keine Entwicklung erfolgt, werden sie 6 Mäusen unter die Haut verimpft. — Nach 6 Tagen ist die Maus eingegangen, welche den 24 Stunden desinfizierten Faden subkutan erhalten hatte. Im Blute und den Organen (Milz-, Nieren-, Lungen-, Leberausstriche) finden sich keine Milzbrandbacillen, dagegen ganz vereinzelt kurze, plumpe, unbewegliche Stäbchen mit abgerundeten Ecken, die meist zu zweien lagen und dann (außer dem Größenunter-

schiede) etwas Ähnlichkeit mit dem Fränkelschen Diplococcus hatten. Mit einer großen Oese einer Reinkultur des gefundenen Stäbchens (erhalten durch Abimpfen des Herzblutes der eingegangenen Maus auf Agar) wird ein weiteres Tier geimpft, welches nach 55 Tagen noch am Leben ist. — Die übrigen 5 Mäuse dieses Versuches sind nach 66 Tagen noch lebend.

5 weitere Milzbrandsporenfäden, wie im vorigen Versuch in Formalindämpfe gebracht, werden nach 7 und 28 Stunden, nach 2, 3 und 4 Tagen (ohne Formalinneutralisierung) direkt aus dem Reagenzglas heraus 6 Mäusen unter die Haut eingeführt. — Nach 6 Tagen geht das Tier mit dem 2 Tage im Formaldehyd gewesenen Faden ein. Von den aus Blut und den Organen angefertigten Ausstrichpräparaten zeigen 3 vereinzelt denselben Bacillus wie bei der im vorigen Versuche zu Grunde gegangenen Maus. Eine subkutan verimpfte große Oese der Reinkultur dieses Bacillus (aus Herzblut sowohl wie aus der Milz auf Agar erhalten) tötet eine weitere Maus nicht nach 30 Tagen. — Die anderen Tiere desselben Versuches sind nach 35 Tagen noch am Leben.

Diese Resultate stehen in Widerspruch zu den Befunden von Philipp und von Strehl, deren Milzbrandsporen der Formalin-desinfektion gegenüber viel widerstandsfähiger waren. Ein Einwurf einer fortdauernden Entwicklungshemmung läßt sich bei diesen Tierversuchen nicht mehr machen, denn wenn die Entwicklungshemmung im Tiere so lange fortauern sollte, so wären die betreffenden Organismen für dieses Tier eben praktisch unschädlich gemacht.

Im Anschluß an die obigen Versuche ließe sich aber noch eine andere Frage aufwerfen, nämlich ob mit Formaldehyd behandelte Mikroorganismen, deren Abtötung nicht völlig sichergestellt ist, in einer Harnblase mit ammoniakalischer Cystitis nicht viel leichter auszuwachsen vermögen, als in unseren künstlichen Nährmedien, auch nach der Formaldehydneutralisierung. Größere Tiere zur Untersuchung dieser Frage standen mir nicht zur Verfügung.

Die beschriebenen Versuche — deren günstige Resultate darin ihre Erklärung haben dürften, daß immer (wie es auch in der urologischen Praxis üblich ist) eine im Verhältnis zu dem kleinen Raume (Katheterbehälter) sehr große Menge Formaldehyd entwickelnder Substanz verwandt wurde — zeigen, daß die Sterilisation elastischer Katheter mittels Formaldehyddämpfen in der Praxis wohl Beachtung verdient, weil sie sich ohne großen Apparat ziemlich einfach durchführen läßt, wenn sie auch nicht gerade als ideale Methode zu bezeichnen ist. Bei der Verwendung dieses Verfahrens muß aber peinlich darauf geachtet werden, daß die Katheterinnen- und -außenfläche vor Beginn der Sterilisation von Eiter, Blut oder Schleim, ebenso von Fett und Seife sorgfältig gereinigt werde, weil sonst die Erfolge der Desinfektion unsicher werden. — Vorher müßten aber die Instrumente mit irgend einem Desinficiens gesäubert werden, um eine bei der bloßen mechanischen Reinigung unvermeidliche Verschleppung von Infektionsstoffen zu verhüten, was aber die Methode wieder kompliziert. — Bei der ungenügenden Tiefenwirkung des Formaldehyds darf dieses Antiseptikum nicht durch dicke Watteschichten oder ähnliches für seine Dämpfe schwer durchdringbares Material von den Kathetern getrennt sein.

## IV.

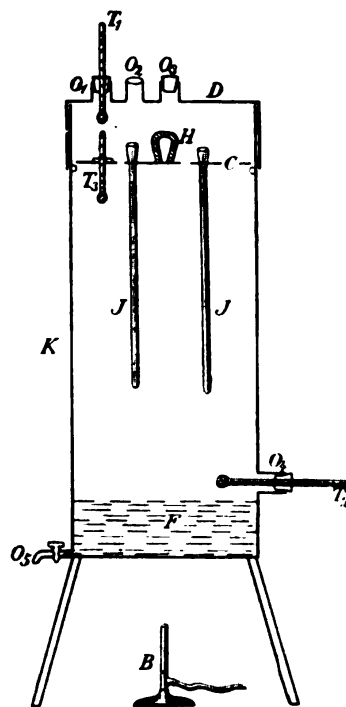
Soweit die in der urologischen Praxis früher gebrauchten und noch gegenwärtig gebräuchlichen Sterilisationsmethoden für elastische Katheter! — Da allen diesen Verfahren, soweit sie zur sicheren Sterilisation geeignet sind, der Nachteil anhaftet, in einer mehr oder weniger kurzen Zeit die Instrumente zu schädigen (Kutner), während die unsicheren Methoden sich von selbst verbieten, so entschloß ich mich auf Veranlassung meines Lehrers, Prof. H. Jäger, das durch v. Esmarch angegebene Verfahren der Sterilisation mittels Dämpfen von  $60^{\circ}$  und höher, entwickelt aus einer 1—2-proz. Lösung des offizinellen Formalins in Wasser, welches dieser Autor zur Desinfektion verschiedenartiger Objekte verwandt hat, auch bei der Kathetersterilisation zu versuchen. Der zu diesen Versuchen gebrauchte Apparat war analog dem durch v. Esmarch angewandten folgendermaßen konstruiert (siehe Figur):

Der Blechkasten *K* hat 2 Deckel *C* und *D*. Der im Innern des Apparates befindliche Deckel *C* besitzt zur Aufnahme mehrerer Katheter und Bougies (*J*) verschieden große Löcher. Die Handhabe *H* soll das Herausnehmen dieses Deckels, eventuell mit samt den Kathetern ermöglichen. Der äußere Deckel *D* hat 3 Oeffnungen  $O_1$ ,  $O_2$  und  $O_3$ , von denen  $O_2$  offen,  $O_3$  durch einen Pfropf verschlossen ist, während  $O_1$  das Thermometer  $T_1$  trägt. Nahe dem Boden des Kastens findet sich eine 4. Oeffnung  $O_4$  mit einem Thermometer  $T_2$  und ein Ablaßhahn  $O_5$ .

Gewöhnlich wurde der Apparat so gebraucht, daß die darin befindliche 1—2-proz. Formalinlösung *F* durch den darunterstehenden Brenner *B* (Mikrobrenner oder Spiritusflamme) erhitzt und die Temperatur der entwickelten Dämpfe an beiden Thermometern,  $T_1$  und  $T_2$ , kontrolliert wurde. Der entweichende Formalinwasserdampf benutzte die Oeffnung  $O_2$ . — Es war aber auch möglich, den Dampf in einem besonderen Kessel zu entwickeln (ähnlich wie beim Apparat von Dreuw) und mittels Gummischlauches durch eine der Oeffnungen entweder von oben nach unten (durch  $O_2$  hinein und  $O_4$  heraus) oder umgekehrt zu leiten, oder 2 der oberen Oeffnungen für den Ein- und Austritt des Dampfes zu benutzen. Auf diese Weise ist die Möglichkeit gegeben, mehrere Apparate von einem Dampfkessel aus zu speisen. Nach Beendigung der Sterilisation können die Oeffnungen verschlossen werden und die sterilen Katheter in dem sterilen Kasten bis zum Gebrauche eventuell hängen bleiben.

Zuerst habe ich untersucht, wie die Formalinwasserdämpfe von  $60^{\circ}$  und höher auf das physikalische Verhalten der Seidengeflechtskatheter einwirkten.

Ein älterer Katheter schlechterer Qualität wird während ca. 40 Minuten den aus einer 1-proz. Formalinlösung entwickelten Dämpfen aus-



gesetzt, deren Temperatur zwischen  $65^{\circ}$  und  $85^{\circ}$  schwankt. Nach dem Herausnehmen aus dem Apparat zeigt seine oberflächliche Lackschicht ganz wenige, schwach warzige Auftreibungen. Das Instrument im ganzen ist etwas weicher, wird aber nach dem Abwaschen in kaltem Wasser wieder so hart wie vorher.

2 ältere rote Katheter werden  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in 1-proz. Formalinwasserdämpfe von  $68-69^{\circ}$  gebracht. — Die Dämpfe wurden in einem kleinen Kessel entwickelt, wie er bei den gewöhnlichen Inhalationsapparaten benutzt wird, und durch ein Gummirohr in die untere Oeffnung  $O_4$  des Apparates eingeleitet. — Beim Herausnehmen weist eines der Instrumente 2—3 ganz geringe blasige Auftreibungen auf, die am folgenden Tage fast nicht mehr zu sehen sind, die rote Farbe des Katheters ist schwach gelblich geworden, was sich aber am folgenden Tage von selbst wieder ausgeglichen hatte. — Der andere Katheter zeigt (außer dieser vorübergehenden Farbveränderung) an den Stellen, wo er mit der Blechwand des Apparates zufällig in ständiger Berührung gewesen und wo auch kapillar Wasser zurückgehalten worden war, bleibende gelbliche Flecke. — Ähnliche Veränderungen wie bei diesen 2 Kathetern habe ich auch bei 44-stündigem Verweilen von Instrumenten in feuchter Atmosphäre über Trioxymethylen gesehen (s. oben). — Beide Katheter sind im Formalinwasserdampf wenig klebrig geworden, bei weitem aber nicht so stark wie gleiche Instrumente, die nur  $\frac{1}{8}$  dieser Zeit im strömenden Wasserdampf von  $100^{\circ}$  gehalten worden waren.

3 Katheter, wovon 2 (rote) älteren, 1 (schwarz, ungebraucht) neueren Fabrikates, kommen während  $\frac{1}{2}$  Stunde in den 1-proz. Formalinlösung enthaltenden Apparat. — Die Temperatur betrug  $70-75^{\circ}$  am oberen Thermometer  $T_1$ , am unteren Katheterende (Auge) war sie etwa  $8^{\circ}$  höher. — Nach dieser Zeit sind die beiden älteren Instrumente etwas weich geworden und vorübergehend leicht gelblich gefärbt; die obere Lackschicht ist teilweise schwach blasig abgehoben, aber viel weniger wie bei ähnlichen Kathetern, die halb so lange Zeit in kochendem Wasser gewesen sind. — Der dritte neue Katheter ist ganz unverändert. Dieser nämliche Katheter wird später zerschnitten und die eine Hälfte  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in gewöhnlichem Wasser gekocht, die andere Hälfte während 20 Minuten dem strömenden Wasserdampf im Dampfkochtopf ausgesetzt. — Am gekochten Teile ist die oberflächliche Lackschicht rau, reibeisenförmig geworden, am folgenden Tage läßt der Lack zahlreiche kleine Sprünge erkennen, so daß das Instrument zum Katheterisieren kaum mehr zu gebrauchen gewesen wäre. — Der bei  $100^{\circ}$  im Dampf behandelte Teil ist sehr weich und brüchig geworden, so daß an den dünneren Stellen (oberes Ende) schon bei etwas derberem Anfassen, an den übrigen Stellen beim Biegen des Katheters stärkere Risse im oberflächlichen Lack entstehen. — Dieser letztere Katheter ist dasselbe Fabrikat wie der nach 92-stündigem Aufenthalt über Trioxymethylen (feucht) unverändert gebliebene (s. oben).

Eine ungebrauchte Bougie (rot) älteren Fabrikates wird während 25 Minuten über 1-proz. Formalinwasserdämpfen gehalten. — Die Temperatur während der Dauer des Versuches, am unteren Thermometer  $T_2$ , schwankte zwischen  $62^{\circ}$  und  $72^{\circ}$ , am oberen Ende des Instrumentes war sie etwas tiefer. — Beim Herausnehmen aus dem Apparat ist die Bougie völlig unverändert.

Diese günstigen Resultate bezüglich der Veränderung der Instru-

mente, ganz besonders im Vergleich zu der Sterilisation durch Kochen oder strömenden Wasserdampf, veranlaßten mich zu einer weiteren Prüfung der Einwirkung von Formalinwasserdämpfen auf infizierte Katheter.

Mit zwei cystitischen Urinen — der erste, auf Agar abgeimpft, ergibt getrenntes Wachstum von *Bacterium coli* (kontrolliert durch Uebertragung in Milch: Gerinnung, beide von Barsiekow angegebene Nährböden: Kaseinfällung, Neutralrot-Traubenzuckeragar: Gärung und starke Fluoreszenz) und einem Coccus (*Micrococcus ureae*?); der zweite vermischtes Wachstum eines beweglichen Stäbchens (*Coli*) und desselben Coccus — werden, in jedem Urin 4, vorher gereinigte Katheter durch 1—2 Minuten langes Eintauchen infiziert, dann während 6 Stunden bei 37° getrocknet und in den mit 100 ccm 1-proz. Formalinlösung beschickten Apparat gebracht. Die Temperatur schwankte am unteren Thermometer  $T_2$  während des Versuches von 68—72°, am oberen von 62—66°, wieweil letzteres (wie auch in den folgenden Versuchen) in einem der für Katheter bestimmten Löcher des 2. Deckels  $C$  derart steckte (s. Fig.  $T_3$ ), daß sein oberes Ende durch das Loch  $O_1$  herausragte und hier abgelesen werden konnte (in der Figur nicht gezeichnet); so wurde es nicht nötig, beim Abnehmen des oberen Deckels jedesmal auch das obere Thermometer mit zu entfernen. — Nach 1, 3, 5 und 10 Minuten werden je 2 mit verschiedenen Urinen infizierte Katheter herausgenommen, mit steriler 10-proz.  $NH_3$ -Lösung (wie bei den vorhergehenden Versuchen) abgespült und in Bouillon gebracht. Nach 24 Stunden Brüt- und mehreren Tagen Zimmertemperatur sind alle Röhren steril geblieben.

Das Abnehmen des oberen Deckels  $D$  beim Herausholen der Katheter ergab nur eine geringe Temperaturerniedrigung im oberen Teile des Apparates (1—2°), die nach Wiederaufsetzen des Deckels gleich ihre normale Höhe wieder annahm.

Zur Entscheidung der Frage, ob von diesen mit Formalinwasserdämpfen behandelten Kathetern eine Entwicklungshemmung gegenüber Mikroorganismen ausgeht, wurden nachstehende Versuche ausgeführt:

Ein Katheter, der 10 Minuten in 1-proz. Formalinwasserdämpfen von ca. 80° gehalten war, wurde nach Abkühlen direkt in Bouillon gebracht, die mit *Staphylococcus pyogenes aureus* geimpft war. Nach 24 Stunden (37°) erfolgte Trübung der Bouillon durch Staphylokokken, wenig schwächer als in einer Kontrollröhre. — Eine mit einem Milzbrandsporenfaden beimpfte Bouillon, in die ein ähnlich behandelter Katheter tauchte, zeigte nach 5 Tagen Brüt- und ebensolangem Aufenthalt in Zimmertemperatur kein Wachstum. — Sporen des Kartoffelbacillus keimten unter denselben Bedingungen prompt (in 24 Stunden und weniger) aus. — Eine Bougie, 25 Minuten bei ca. 65° in Dämpfen von 1-proz. Formalinlösung gehalten und nach Herausnahme in  $NH_3$ -Lösung ausgewaschen, wird in eine Bouillonröhre gebracht, die mit *Prodigiosus* geimpft ist; nach 3 Tagen Zimmertemperatur besteht ziemlich starke Trübung und rötliche Färbung der Bouillon (Kontrolle nicht kräftiger gewachsen).

Die hier vorhandene Entwicklungshemmung auf vegetative Bakterienformen (Staphylokokken) war also noch schwächer, als sie von Kathetern (durch Lackauflösung) ausgeübt wurde, die im strömenden Wasserdampf behandelt waren.

### Versuche mit Bakterienreinkulturen.

In den folgenden Sterilisationsversuchen enthielt der Apparat immer frisch zubereitete 1-proz. (in den letzten 2 Versuchen 2-proz.) Formalinlösung in Wasser. Die infizierten Katheter wurden mit dem 2. Deckel C (wo nicht anders angegeben) erst dann in den Apparat gebracht, wenn die gewünschte Temperatur erreicht war. Nach dem Herausnehmen aus dem Apparat wurden von sämtlichen Instrumenten jedesmal durch mehrmaliges kurzes Eintauchen in sterile Ammoniaklösung (1 Liquor ammonii caustici : 10 steriles Wasser) die eventuell noch haftenden Formalinreste entfernt und die Katheter nach Abtropfen in Bouillon gebracht.

Versuch mit *Bacillus prodigosus*. 4 Katheter werden mit der Bouillonaufschwemmung einer dicht bewachsenen Agarstrichkultur durch Eintauchen und Aufsaugen in das Lumen infiziert und sofort 1, 3, 5 und 10 Minuten im Apparat bei 62—65° (unteres Thermometer, oberes 53—58°) sterilisiert. Von jeder Bouillon wird mit dem entsprechenden Katheter eine Agarplatte beimpft. Die Bouillon des 1 Minute desinfizierten Katheters ist nach 3-tägigem Zimmeraufenthalt durch *Prodigosus*-Wachstum getrübt und nach 3 weiteren Tagen rötlich gefärbt. Auf der entsprechenden Agarplatte ebenfalls nach 3 Tagen *Prodigosus*-Kolonien. Abimpfung von der Bouillon auf eine weitere Agarplatte ergibt nach 1—2 Tagen Zimmertemperatur farblose Kolonien, die sich erst mit dem 3. Tage schön rot färben (Abschwächung durch die Sterilisation). — Die Nährmedien der übrigen Katheter sind nach dieser Zeit (6 Tage) steril geblieben.

Versuch mit *Bacterium typhi*. 4 Katheter werden in eine 18-stündige trübe Typhusbouillon je  $\frac{1}{2}$  Minute lang eingetaucht. — Kontrolle der Kultur durch Ueberimpfen auf Milch: keine Gerinnung, Barsiekowscher Nährboden mit Milchzucker: keine Fällung, Barsiekowscher Nährboden mit Traubenzucker: geringe Kaseinfällung, Neutralrottraubenzuckeragar: keine Gasbildung, keine Fluoreszenz. — Nach dem Infizieren werden die Katheter gleich in den auf 64—66° unten, 58—60° oben temperierten Apparat gebracht. Die nach 1, 3, 5 und 10 Minuten herausgenommenen Katheter lassen die Bouillon nach 2 Tagen Brüt- und 4 Tagen Zimmertemperatur klar.

Versuche mit *Bacterium coli*. 4 mit der Bouillonaufschwemmung einer 2-tägigen *Coli*-Agarkultur — Kontrolle mittels Milch (Gerinnung), Barsiekow-Nährböden (Fällung), Neutralrottraubenzuckeragar (Gärung, Fluoreszenz) — je 1 Minute lang infizierte Katheter werden 1, 3, 5 und 10 Minuten bei 70° unten (65° oben) sterilisiert. Nach 2 Tagen Brüt- und 4 Tagen Zimmertemperatur alle Bouillonröhren klar.

2 Katheter, 1 Minute lang in eine 24-stündige *Coli*-Bouillon getaucht (Kontrolle nach 24 Stunden bei 37° auf Agar üppig wachsend) und danach 24 Stunden bei 37° getrocknet, werden auf 1 und 3 Minuten in den Apparat gebracht, dessen Temperatur von 65° auf 70 $\frac{1}{2}$ ° unten (55—60° oben) ansteigt. Nach 32 Stunden Brüttemperatur ist die Bouillon des 1 Minute desinfizierten Katheters trüb; mikroskopisches Präparat und Abimpfung auf Agarstrich ergeben *Bacterium coli* (Gasbildung und Fluoreszenz in Neutralrottraubenzuckeragar). Die andere Bouillon bleibt — auch später — klar.

Versuch mit *Proteus vulgaris*. 4 Katheter werden durch Eintauchen in die Bouillonaufschwemmung einer 24 Stunden alten Ge-

latinekultur von *Proteus vulgaris* infiziert und sofort im Apparat bei ca. 60° unten (55° oben) 1, 3, 5 und 10 Minuten sterilisiert. Nach 4 Tagen Zimmertemperatur Trübung der beiden ersten Bouillonröhren. Abimpfung aller 4 Röhren auf Gelatinestich ergibt für die beiden ersten (1- und 3-Minuten-Katheter) Wachstum von *Proteus vulgaris*, für die beiden anderen nicht.

Versuche mit *Staphylococcus pyogenes aureus* (aus Eiter isoliert). 3 Katheter in eine 24-stündige Staphylokokkenbouillon (Kontrolle auf Agar nach 24 Stunden starkes Wachstum) ca. 1 Minute lang eingetaucht und 24 Stunden bei 37° getrocknet, zeigen nach 1, 3 und 5 Minuten langer Sterilisation bei 65—70° unten (55—66° oben) bei 37° nach mehreren Tagen in Bouillon kein Wachstum.

4 Katheter werden mit der Bouillonaufschwemmung einer 24 Stunden alten Staphylokokkenagarkultur  $\frac{1}{2}$  Minute infiziert und bei einer Temperatur von 68—72° unten und 58—63° oben in den Apparat gebracht. Der erste nach 1 Minute herausgenommene trübt nach 3-tägigem Aufenthalt bei 37° seine Bouillon. Abimpfung auf Agarstrich gibt nach 24 Stunden Entwicklung von *Staphylococcus pyogenes aureus*. — Die Bouillon des 2. nach 3 Minuten aus dem Apparat genommenen Katheters zeigt nach der gleichen Zeit eine wolkige Trübung auf ihrem Grunde (durch  $\text{NH}_3$  bewirkte Niederschläge?). Abimpfung auf Agar bleibt steril. — Die Bouillonröhren der beiden letzten, 5 und 10 Minuten sterilisierten Katheter sind nach 3 Tagen (bei 37°) klar geblieben.

Ein Seidenfaden (etwas länger als ein Katheter) wird 5 Minuten lang in die Bouillonaufschwemmung einer 2-tägigen Agarkultur von Staphylokokken eingetaucht,  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 37° angetrocknet und in das Lumen eines Katheters gebracht. Der Katheter wird dann 2 Minuten bei 74—75° am unteren Thermometer (68—70° oben) in den Sterilisierapparat gebracht, dann der Seidenfaden mit ausgeglühter Schere in 5 Stücke geschnitten, mit steriler  $\text{NH}_3$ -Lösung ausgewaschen und in Bouillon gebracht. Alle Bouillonröhren bleiben nach 24 Stunden Brüt- und 10 Tagen Zimmertemperatur klar, ebenso bleiben davon abgeimpfte Agarstriche steril. (Von einem Kontrollstück des Fadens wächst bei 37° ein schön gelber Staphylokokkenrasen innerhalb 2 Tagen.)

Ein gleicher Seidenfaden wird mit einer 2-tägigen verflüssigten Gelatinekultur von *Staphylococcus* wie vorher infiziert (aus einem Kontrollstück promptes Wachstum) in das Lumen eines Katheters gebracht und 2 Minuten bei 66° unten, 58—59° oben sterilisiert. Dann wird der Faden durch das Auge des Katheters mit steriler Pinzette herausgenommen, in 4 Stücke geteilt und nach dem  $\text{NH}_3$ -Abspülen in Bouillon gebracht. Nach 24 Stunden Brüt- und 2 Tagen Zimmertemperatur sind 3 Bouillonröhren trüb, die andere, welche das unterste Fadenstück enthält, bleibt klar. Abimpfung aller 4 Röhren auf Agar: Von den 3 trüben Röhren entwickeln sich schon nach 15 Stunden Brüttemperatur zahlreiche gelbliche Staphylokokkenkolonien, die nach 34-stündigem Aufbewahren im Zimmer schön goldgelb gefärbt sind. — Die Staphylokokken, welche von dem zweituntersten Fadenstück gewachsen sind, zeigen sich bei mikroskopischer Untersuchung als nicht gleichmäßig gut färbbar (geringe Schädigung). — Auf dem von der klaren Bouillon abgeimpften Agar auch nach 4 Tagen (37°) kein Staphylokokkenwachstum.

### Versuche mit Milzbrandsporen.

Nachdem ich mich in einem Vorversuch überzeugt hatte, daß mit sporenhaltiger Milzbrandbouillonaufschwemmung (von einer Kartoffelkultur) infizierte Katheter nach 2, 4, 6 und 9 Minuten in meinem Apparate sicher sterilisiert wurden, wenn die Temperatur oben zwischen 68° und 70°, unten am infizierten Katheterende ca. 5° höher schwankte, suchte ich in den 3 folgenden Versuchen dasselbe Resultat dadurch zu erreichen, daß ich den Apparat, vor oder nach Einbringen der infizierten Instrumente bis zur Entwicklung von Dämpfen einer bestimmten Temperatur anheizte, dann die Flamme (*B*) ausdrehte und die Dämpfe sich langsam abkühlen ließ.

Zu diesem Zwecke werden 3 Katheter in die Bouillonaufschwemmung einer sporenhaltigen Milzbrandagarkultur je  $\frac{1}{2}$  Minute lang eingetaucht und sofort in den Apparat gebracht, der vorher auf 75° (unten) angeheizt war. Beim Wiederschließen des oberen Deckels hat sich die Temperatur auf 72° erniedrigt. Von da an gerechnet wird nach 2 Minuten der erste Katheter herausgenommen (Temperatur unten noch 68°). Nach 5 Minuten (Temperatur 60°) wird der 2. und nach 10 Minuten (Temperatur 52°) der letzte Katheter aus dem Apparat entfernt. — Die die Instrumente enthaltenden Bouillonröhren zeigen (bei 37°) ebenso wie davon abgeimpfte Platten nach einigen Tagen kein Wachstum.

2 weitere Katheter, ebenso infiziert wie vorher, kommen in den kalten Apparat, der jetzt mit kleiner Flamme angeheizt wird; innerhalb 5 Minuten, nachdem die untere Temperatur auf 80°, die obere auf 65° gestiegen ist, wird die Flamme entfernt; nach 4 Minuten beträgt jetzt die Temperatur unten 70° (oben 61°), nach weiteren 4 Minuten unten 60° (oben 52°), nach weiteren 5 Minuten unten 50° (oben 43°). Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde im ganzen (Temperatur unten 35°, oben 30°) werden beide Katheter in Bouillon gebracht. Diese, sowie abgeimpfte Agarplatten sind nach 3 Tagen (37°) frei von Milzbrand.

Da mir die Resistenz der hier verwandten Milzbrandsporen nicht bekannt war, stellte ich weitere Versuche mit an Seidenfäden ange-trockneten Milzbrandsporen an, deren Resistenzfähigkeit gegen Sublimat im Anschluß daran geprüft worden ist.

In 3 Katheterlumina wird je ein Milzbrandsporenfaden durch das Auge eingebracht und kommen die Katheter in den vorher bis auf 95° angeheizten Apparat, nachdem sich die Formalinwasserdämpfe auf 72° (unten) abgekühlt haben. Beim Wiederschließen des oberen Deckels ist die Temperatur auf 71° gesunken. Nach 1 Minute (Temperatur unten 96°), 3 Minuten (Temperatur 66°) und 6 $\frac{1}{2}$  Minuten (Temperatur 56°) wird je ein Katheter herausgenommen und nach Abspülen in NH<sub>3</sub>-Lösung in Bouillon gebracht. Da nach 24 Stunden Brüt- und 4 Tagen Zimmertemperatur der Boden der beiden ersten Bouillonröhren etwas wolkig getrübt ist (wahrscheinlich NH<sub>3</sub>- oder Lacktrübung) werden alle 3 Sporenfäden auf Agar gebracht, das auch nach 5 Tagen steril bleibt.

In das Lumen von 6 Kathetern wird je ein Milzbrandsporenfaden gebracht und die Instrumente in den während dieses Versuches ständig erhitzten Apparat gebracht, dessen Temperatur unten 66° (zu Beginn) bis 70—75° betrug; das obere Thermometer zeigte 65—70°. Nach 1, 3, 5, 6, 10 und 15 Minuten wird je ein Katheter herausgenommen, in sterile NH<sub>3</sub>-Lösung getaucht, dann in steriler Bouillon abgespült und in frische Bouillon gebracht. Von den nach 24 Stunden bei 37° klar



gebliebenen Bouillonröhren werden Agarstriche abgeimpft, die steril bleiben. Außerdem werden von dem 1 und 3 Minuten sterilisierten Katheter die Sporenfäden in frische Bouillon gebracht. Der erste Sporenfaden (1 Minute) wächst in dieser Bouillon nach 2 Tagen zu einer typischen, durch Milzbrandbacillen gebildeten Wolke aus; Abimpfung hiervon auf Agar: nach 24 Stunden charakteristische Milzbrandkolonien. Die zweite Bouillon (3 Minuten sterilisierter Faden) bleibt ebenso wie eine Abimpfung davon auf Agar, nach einigen Tagen (37°) steril.

Dieser letztere Versuch, bei dem infolge des mehrmaligen Wechsels der Nährböden eine vom Katheterlack oder von übertragenen Formalin- oder NH<sub>3</sub>-Spuren ausgehende Entwicklungshemmung auf die in dieser Hinsicht so empfindlichen Milzbrandsporen ausgeschlossen war, bestätigt in eindeutiger Weise die in den vorhergehenden Versuchen gefundenen negativen Ergebnisse. —

Prüfung der Resistenzfähigkeit der zu den obigen Versuchen (und den Tierversuchen) (s. oben) verwandten, an Seidenfäden angetrockneten Milzbrandsporen: 7 Milzbrandsporenfäden werden gleichzeitig in 1-prom. Sublimatlösung in destilliertem Wasser gebracht, nach bestimmten Zeiten je ein Faden in verdünnter Lösung von Schwefelammon in destilliertem Wasser (durch Hin- und Herbewegen) abgespült, bis der betreffende Faden infolge der HgS-Bildung schwarz geworden ist (1—5 Minuten) und auf Agarstrich im Brutschrank aufbewahrt. Nach 4 Tagen (37°) ergibt sich folgendes Resultat, das auch bei nachherigem Verweilen der Röhren im Zimmer während 10 Tagen das gleiche bleibt:

Kontroll-Milzbrandsporenfaden, nicht im Sublimat gelegen, zeigt Wachstum von Milzbrand Sporenfaden, 10 Min. in 1-prom. Sublimatlösung gelegen,									
"	30	"	"	"	"	"	"	"	"
"	1 Stde.	"	"	"	"	"	"	"	"
"	14 Stdn.	"	"	"	"	"	"	"	"
"	20	"	"	"	"	"	bleibt steril	"	"
"	36	"	"	"	"	"	"	"	"
"	48	"	"	"	"	"	"	"	"

#### Versuche mit *Bacillus mesentericus vulgatus*.

3 Katheter werden 1 Minute in verflüssigten sporenhaltigen Gela-tinekulturen von *Bacillus mesentericus* infiziert und, nachdem sie 1, 3 und 5 Minuten bei 70—75° in Formalinwasserdämpfen waren, ohne Neutralisation des eventuell zurückgebliebenen Formalins in Bouillon gebracht; nach 24 Stunden zeigen alle 3 Röhren Kartoffelbacillenwachstum.

4 Katheter werden je 1 Minute in Kartoffelbacillenbouillon eingetaucht und 1, 3, 5 und 10 Minuten im Apparat bei 80—83° (unten) gelassen. — Der 5 Minuten sterilisierte Katheter (ungebraucht), älteres Fabrikat, ist beim Herausnehmen aus dem Apparat völlig unbeschädigt. — Nach 24 Stunden bei 37° zeigt die Bouillon mit dem 1 Minute sterilisierten Instrument Kahmhaut (*Bacillus mesentericus*), die übrigen sind noch ganz klar; nach weiteren 24 Stunden haben auch die anderen Röhren Kahmhaut.

Zur Prüfung der Resistenzfähigkeit der in obigem Versuch verwandten Sporen wird die zum Infizieren der Katheter gebrauchte sporenhaltige Bouillon ins Wasserbad von 100° gesetzt. Nach  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{3}{4}$  und 1 Stunde wird aus dieser Bouillon eine große Platinöse mit der Vorsicht abgeimpft, daß die Oese nur die Stellen des Reagenz-glasses berührt, welche sich im kochenden Wasser befanden. —

24 Stunden später ist in allen frisch geimpften Röhren *Bacillus mesentericus* gewachsen.

6 Katheter werden je 1 Minute lang mit sporenhaltiger Kartoffelbacillenbouillon infiziert. — Ein weiterer mit derselben Bouillon infizierter Katheter wurde nachher  $\frac{3}{4}$  Stunden lang strömendem Wasserdampf ausgesetzt und hierauf in frische Bouillon gebracht; es erfolgte nach 24 Stunden bei  $37^{\circ}$  Wachstum von Kartoffelbacillen. — Die 6 Katheter werden im Sterilisierapparat, dessen Temperatur zu Beginn des Versuches  $85^{\circ}$  betrug, nach  $\frac{1}{2}$  Minute auf  $90^{\circ}$  und nach 6 Minuten auf  $100^{\circ}$  gesteigert wurde, je 1, 3, 5, 7, 9 und 11 Minuten der Einwirkung der 1-proz. Formalinwasserdämpfe überlassen. Nach 2 Tagen ( $37^{\circ}$ ) zeigen alle Bouillonröhren vom Katheter ausgehend geringes Wachstum von *Bacillus mesentericus* (keine Kahmhaut).

5 Katheter wie vorher infiziert und 5, 10, 15, 25 und 40 Minuten im Apparat bei  $100^{\circ}$  den Dämpfen aus einer Lösung von 8 Formalin : 400 Wasser ausgesetzt. — Von einem mit denselben Sporen infizierten, 45 Minuten im strömenden Wasserdampf belassenen Katheter erfolgte in Bouillon bei  $37^{\circ}$  schon nach 7 Stunden Kahmhaut-Bildung, trotz sehr starker Auflösung des Katheterlacks. — Die 5 im Formalinwasserdampf gewesenen Katheter lassen ihre Bouillon nach 7 Stunden noch ganz klar; nach 48 Stunden haben die Röhren mit dem 10- und 15-Minuten-Katheter Kahmhaut, nach 56 Stunden ( $37^{\circ}$ ) hat die Bouillon mit dem 25 Minuten, nach 72 Stunden (bei  $37^{\circ}$ ) die Bouillon mit dem 40 Minuten desinfizierten Instrument erst Kahmhaut. — Die Katheter waren durch die Sterilisation etwas gelblich verfärbt und weicher geworden, was sich beides wieder zurückbildet, scheinen aber nicht so stark klebrig zu sein wie gleich lang im strömenden Wasserdampf gewesene Katheter.

4 Katheter mit einer sporenhaltigen Bouillonaufschwemmung der Kahmhaut einer Kartoffelbacillenkultur je 1 Minute lang infiziert und bei  $100^{\circ}$  über den Dämpfen einer 2-proz. Formalinlösung 45 Minuten, 1,  $1\frac{1}{4}$  und  $1\frac{1}{2}$  Stunde sterilisiert; vor dem Einbringen in Bouillon Abspülen in steriler  $\text{NH}_3$ -Lösung wie in den vorhergehenden Versuchen. — Ein gleich infizierter und 1 Stunde im strömenden Wasserdampf gewesener Katheter trübte eine Bouillon bei  $37^{\circ}$  in 24 Stunden; Abimpfung davon auf Agar: nach 24 Stunden Kartoffelbacillenwachstum. — Nach 2 Tagen (bei  $37^{\circ}$ ) ist die Bouillon mit dem 45 Minuten sterilisierten Katheter trüb, die mit dem  $1\frac{1}{4}$  Stunde sterilisierten Instrument opalisierend (Lack- oder  $\text{NH}_3$ -Trübung); von beiden Röhren wird auf Agarstrich überimpft. Beide Agarröhren sind nach mehreren Tagen Brüt- und einigen Wochen Zimmertemperatur steril geblieben. Die übrigen Bouillonröhren sind während derselben Zeit klar geblieben. —

Das Ergebnis dieser letzteren Versuchsreihe zeigt, daß wir mit Hilfe der Formaldehydwasserdämpfe (Formalinwasserdämpfe) bei erhöhter Temperatur im stande sind, elastische Katheter in einer viel gründlicheren Weise zu sterilisieren als mit jeder anderen Methode, auch dem Kochen und dem strömenden Wasserdampf (vergl. die Parallelversuche mit *Bacillus mesentericus*). Ein weiterer wichtiger Vorzug des eben beschriebenen Verfahrens liegt darin, daß bei Verwendung der niedrigen Temperaturgrade zwischen  $60$  und  $75^{\circ}$ , wie sie bei Abtötung der Keime der normalen und kranken Urethra und Blase (siehe oben) in Betracht kommen, die Instrumente keine größere Schädigung erfahren als bei der

Desinfektion mit Formaldehyddämpfen bei Zimmertemperatur in feuchter Atmosphäre, die von den verschiedenen, von Janet angegebenen Variationen die weiteste Verbreitung gefunden hat. Vor dieser Methode hat das Verfahren den Vorteil, in sehr viel kürzerer Zeit zu sterilisieren, ohne ihren Nachteil, des Haftenbleibens einer nennenswerten Formaldehydmenge, zu teilen. Die nach 10 Minuten langer Sterilisation an Kathetern haften bleibende Formalinmenge ist hier so gering, daß sie auf Staphylokokken fast gar nicht entwicklungshemmend wirkt (siehe oben). — Endlich sei noch hervorgehoben, daß dem Verfahren (wieder im Gegensatz zu dem Janetschen) nach v. Esmarchs Untersuchungen auch eine erhebliche Tiefenwirkung zukommt, so daß zu erwarten ist, daß auch diejenigen Instrumente, bei denen die Janetsche Methode oft versagt, sehr dünne Katheter und Katheter, an denen Eiter oder Fett zurückgeblieben, durch dieses Verfahren erfolgreich und ohne größeren Zeitaufwand sterilisiert werden können.

In der Praxis würde es z. B. genügen, den Apparat mit den darin enthaltenen Instrumenten langsam auf 70° (eventuell auf 75°) anzuwärmen und nach Ausdrehen der Flamme ruhig abkühlen zu lassen (es können aber die Katheter auch schon vorher herausgenommen werden), um so dieselbe Wirkung wie bei einer Sterilisation von mehreren Minuten in strömendem Wasserdampf zu erreichen (vgl. die Versuche mit Milzbrandsporen), ohne damit die durch eine Temperatur von 100° erfolgende Schädigung der Objekte in Kauf nehmen zu müssen. Daß ein solches Verfahren außer an Kathetern (und elastischen Magensonden) auch bei zahlreichen anderen Gegenständen des täglichen Gebrauchs anwendbar wäre, die einer Temperatur von 100° nicht ausgesetzt werden können, liegt auf der Hand; es sei hier nur an die in praxi leider so sehr vernachlässigte Sterilisation der Frisier- und Rasiergeräte (Pinsel, Kämmen, Bürsten) erinnert. —

### Schlußsätze.

Von sämtlichen bisher in Gebrauch stehenden wirksamen Methoden der Sterilisation elastischer Katheter sind als für die Instrumente verhältnismäßig am unschädlichsten und in der Praxis anwendbar zu nennen: zuerst die von Janet eingeführte Methode der Sterilisation mittels Formaldehyddämpfen (feucht) bei Zimmertemperatur und an zweiter Stelle das Auskochen in konzentrierter Ammonsulfatlösung.

Das Janetsche Verfahren hat eine sehr geringe Tiefendesinfektionswirkung, die man stets berücksichtigen muß. Das Auskochen in Ammonsulfatlösung ist zwar wirksam, schädigt aber die Katheter auf die Dauer nicht unerheblich. Beide Verfahren sind nur nach vorheriger mechanischer Reinigung der Instrumente zulässig.

Die Sterilisation der Katheter mit Formalinwasserdämpfen von 60—70° bietet diesen beiden (wie auch den anderen) Verfahren gegenüber erhebliche Vorzüge, so daß ihre Einführung in die urologische Praxis aufs wärmste empfohlen werden kann. —

Vorliegende Arbeit wurde im bakteriologischen Privatlaboratorium und unter Leitung von Herrn Generaloberarzt Prof. Dr. H. Jäger aus-

geführt auf Anregung von Herrn Privatdozent Dr. C. Adrian, der mich öfters mit seinem Räte unterstützte. Beiden Herren sage ich auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank.

#### Literatur.

- Alapy, Henri, Sur la stérilisation des instruments en gomme. (Ann. d. malad. d. org. gén.-urin. 1890. Juillet. p. 424.)
- —, Zur Frage der Kathetersterilisation. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorg. 1896. p. 569 u. 645.)
- —, Zur Frage der Kathetersterilisierung. (Ibid. Bd. VIII. 1897. p. 380.)
- Albarran, J., Recherches sur l'asepsie dans le cathétérisme. (Ann. d. malad. d. org. gén.-urin. 1890. No. 1. p. 33.)
- Albarran, J. et Cottet, J., Note sur le rôle des microbes anaérobies dans les infections urinaires. (Compt. rend. de la 3. session de l'assoc. française d'urologie. Paris 1898. p. 83. Octave Doin.)
- —, Des infections urinaires déterminées par les microbes anaérobies. (XIII. intern. Congr. f. Med. Sektion f. Chir. d. Harnorg. Ref. in Virchows Jahresber. über die Leistungen u. Fortschr. d. gesamten Medizin für 1900. Bd. II. p. 500.) Berlin (Hirschwald) 1901.
- André, J., Guide pratique d'urologie clinique. Paris (Baillière) 1904.
- Bach, A., Action de l'aldéhyde formique sur l'albumine. (Moniteur scientif. du Docteur Quesneville. [4.] 7; 996 et [4.] 11; 157. Ref. im Jahresber. über die Fortschr. d. Chem. u. verw. Teile anderer Wissensch., von G. Bodländer; für 1897. 3. Teil. p. 2766.) Braunschweig (Vieweg & Sohn) 1902.
- Baisch, K., Bakteriologische und experimentelle Untersuchungen über Cystitis nach gynäkologischen Operationen. (Beiträge z. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. VIII. 1904. p. 297.)
- Barlow, R., Beiträge zur Aetiologie, Prophylaxe und Therapie der Cystitis. (Archiv f. Dermatol. u. Syph. Jg. XXV. 1893. p. 355, 633 u. 795. Literatur.)
- Barsiekow, Max, Beiträge zur Differentialdiagnose des Typhusbacillus. (Wien. klin. Rundsch. 1901. No. 44.)
- Bazy, P., Maladies des voies urinaires. Paris 1901.
- Benedicenti, A., Beiträge zur Kenntnis der chemischen und physiologischen Wirkungen des Formaldehyds auf einige Proteinstoffe. (Arch. f. Anat. u. Physiol. Phys. Abt. 1897. p. 219.)
- Bertelsmann, R. und Mau, Das Eindringen von Bakterien in die Blutbahn als eine Ursache des Urethralfiebers. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 13. p. 521.)
- Bloch, Heinrich, Beitrag zur Bakterienflora der Straßburger Wasserleitung. [Inaug.-Diss.] Straßburg 1903.
- Blum, F., Ueber eine neue Klasse von Verbindungen der Eiweißkörper. (Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXII. 1896/97.)
- Boulanger, Appareil à acide sulfureux pour la stérilisation des sondes en gomme et en caoutchouc. (Annal. d. malad. d. org. gén.-urin. 1893. Févr. p. 145.)
- Browne, G. Buckston, The Harveian lectures on twenty-five years' experience of urinary surgery in England. (Lancet. 1901. November 16, 23 and 30.)
- Burckhard, G., Zwei Beiträge zur Kenntnis der Formalinwirkung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XVIII. 1895. No. 9/10. p. 257. Literatur.)
- Casper, Leopold, Zur Asepsis des Katheterismus und der Cystoskopie. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 46. p. 844.)
- —, Lehrbuch der Urologie mit Einschluß der männlichen Sexualerkrankungen. Berlin u. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1903.
- Cauchois, Stérilisation des sondes en gomme. (Ref. aus der Sitzung der Soc. de chir. v. 24. Juli, in La presse méd. 1901. No. 67.)
- Claisse, André, Essai de stérilisation des sondes par les vapeurs de formol. (Ann. d. malad. d. org. gén.-urin. 1896. p. 154.)
- Classen, C., Verfahren zur Darstellung von Verbindungen von Stärke und Gummiarten mit Formaldehyd. (Patentblatt 18. Auszüge aus den Patentschriften 394. Ref. im Jahresbericht über die Fortschritte der Chemie und verwandter Teile anderer Wissenschaften, von G. Bodländer; für 1897. 2. Teil. p. 1516.) Braunschweig (Vieweg & Sohn) 1901.
- Claudius, M., En ny Metode til Sterilisering af Silkekættere. (Hospitalstidende. 1901. No. 13. Ref. Dtsche med. Wochenschr. 1901. Literaturbeilage p. 107 u. Centralbl. f. Chir. 1902. No. 17. p. 465.)
- —, Svar paa „Bidrag til Kæteterkøningens Historie i Danmark“. (Hospitalstidende. 1901. No. 19. Ref. Dtsche med. Wochenschr. 1901. Literaturbeilage p. 142.)

- Cottet, J., Recherches bactériologiques sur les suppurations péri-uréthrales. [Thèse de Paris.] 1899.
- —, Sur un micrococcque strictement anaérobie, hôte des suppurations urinaires. (La presse méd. 1900. No. 37.)
- Cotton, F. J., Neglected methods for the sterilization of "gum-elastic" catheters. (Boston med. and surg. Journ. 1901. March 27.)
- Curtillet, Désinfection et aseptie des sondes employées pour la cathétérisme vésical. (Bull. méd. 1890. p. 230.)
- Delagénière, Henri, Stérilisation des sondes en gomme. Cathétérisme aseptique. (Le progr. méd. 1889. No. 40. p. 295.)
- Delefosse, E., La pratique de l'antisepsie dans les maladies des voies urinaires. Paris (Baillière) 1893.
- —, De l'antisepsie de l'oeil de la sonde en caoutchouc. (Annal. d. malad. d. org. gén.-urin. 1900. No. 12.)
- Desnos, E., Pratique de l'antisepsie dans les maladies des voies urinaires. (Annal. de malad. d. org. gén.-urin. 1890. Avril. p. 248.)
- —, Appareils pour la stérilisation des sondes. (Compt. rend. de la 2. session de l'assoc. française d'urologie. Paris 1897. p. 455. Octave Doin.)
- Dreuw, Kathetersterilisator. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 44.)
- Duchastelet, L., Caléfacteur portatif pour stériliser les sondes par l'ébullition. (Ann. d. malad. d. org. gén.-urin. 1894. p. 600.)
- Ehrmann, O., Universalsterilisator mit besonderer Vorrichtung für Dampfsterilisation elastischer Katheter. (Dtsche med. Wochenschr. 1898. Therapeutische Beilage. p. 62.)
- Ehrmann, O., Neue Katheterdampfbüchse. (Monatsberichte üb. d. Gesamtleistungen a. d. Geb. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualapparates. 1899. p. 646.)
- Endo, S., Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903/04. No. 1.)
- Englisch, Jos., Katheterismus. (Realencyklop. d. gesamt. Heilk., hrsg. v. A. Eulenburg. 2. Aufl. Bd. IV. p. 54.) Wien (Urban & Schwarzenberg) 1885.
- —, Der Katheterismus. (Wiener Klinik. 1887. Heft 4/5. p. 121.)
- v. Esmarch, Erwin, Die Wirkung von Formalinwasserdämpfen im Desinfektionsapparat. (Hyg. Rundsch. Bd. XII. 1902. No. 19. p. 961.)
- —, Die Milzbrandsporenbildung auf Fellen und ihre Desinfektion. (Abdruck aus der Festschrift zum 60. Geburtstage von R. Koch. p. 239.) Jena (Gustav Fischer) 1903.
- Faltin, R., Recherches bactériologiques sur l'infection vésicale, spécialement au point de vue de la variabilité de la flore bactérienne. (Annal. d. malad. d. org. gén.-urin. 1902. No. 2 et 3.)
- —, Kurzer Bericht über 86 bakteriologisch untersuchte Fälle von Infektion der Harnwege, mit besonderer Berücksichtigung der Streptokokken und einigen im pathologischen Harn früher nicht gefundenen Bakterien. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorg. Bd. XIII. 1902. p. 130.)
- Farkas, L., Die Bedeutung der Asepsie bei der Behandlung der Urogenitalaffektionen, mit besonderer Rücksicht auf den Katheterismus. (Pester med.-chir. Presse. 1893. No. 10. Ref. im Centralbl. f. Chir. 1893. No. 42.)
- Forgue, Appareil pour la stérilisation des sondes par l'acide sulfureux. (Bull. de la soc. de méd. 1893. p. 2.)
- Fourcault, Stérilisation et conservation aseptique des instruments en gomme et en caoutchouc vulcanisé. [Thèse de Bordeaux.] 1893.
- Frank, Ernst R. W., Ein einfacher Apparat zur Sterilisation von Kathetern. (Berl. klin. Wochenschr. 1893. No. 51. p. 1258.)
- —, Un appareil simple pour la stérilisation des sondes. (Ann. d. malad. d. org. gén.-urin. 1894. No. 2. p. 106.)
- —, Demonstration eines Apparates zur Kathetersterilisation. (67. Versammlung deutscher Naturf. u. Aerzte zu Lübeck. Ref. Berl. klin. Wochenschr. 1895. No. 42. p. 925.)
- —, Weitere Mitteilungen zur Kathetersterilisation. (Ibid. No. 44. p. 965.)
- —, Demonstration von Präparaten von Kathetern und Bougies. (Versammlung deutscher Naturf. u. Aerzte in Frankfurt a. M. 1896. Ref. Centralbl. f. Chir. 1896. No. 44.)
- —, Demonstration urologischer Instrumente. (73. Versammlung deutscher Naturf. u. Aerzte in Hamburg 1901. Verhandlungen d. Gesellsch. deutscher Naturf. u. Aerzte. Bd. II. 2. p. 457.) Leipzig (W. Vogel) 1902.
- Franz, K., Ueber Bakterien der normalen männlichen Urethra und deren Einfluß auf den Keimgehalt des normalen Harns. (Wiener klin. Wochenschr. 1896. No. 28.)

- Freudenberg, Albert, Ueber Desinfektion seidener Katheter. (Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie. 32. Kongreß. 1903. Bd. I. p. 232.) Berlin (Hirschwald) 1903.
- —, Zur Asepsis des Katheterismus. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 51. p. 982.)
- —, De la stérilisation des sondes en gomme et en caoutchouc par la vapeur et de leur conservation stérile. (Communication faite à la 7. session de l'association française d'urologie. Paris 1903.) Sep.-Abdr. Clermont (impr. Daix) 1904.
- Friedländer, M., Die Krankheiten der männlichen Harnorgane. Berlin 1900.
- Fürbringer, Paul, Die Krankheiten der Harn- und Geschlechtsorgane. Braunschweig (Fr. Wreden) 1884.
- Geppert, J., Zur Lehre von den Antiseptics. (Berl. klin. Wochenschr. 1889. No. 36. p. 789; No. 37. p. 819.)
- Goldberg, Berthold, Anweisung für Kranke, die sich selbst katheterisieren müssen. Köln a. Rh. 1899.
- —, Beimpfung und Abimpfung von Kathetern. (Centralbl. f. innere Med. 1902. No. 15.)
- —, Urethrogene Harninfektion? (Ibid. No. 20.)
- —, Beitrag zur Aetiologie der Cystitis. (Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1902. II. Teil. p. 13.)
- —, Die Kathetersterilisation. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorg. Bd. XIII 1902. p. 390 u. 451.)
- —, Die Verhütung der Harninfektion. (Verhandlungen der Gesellschaft deutscher Naturforscher u. Aerzte. 74. Versammlung zu Karlsbad. 1902. II. Teil. 2. Hälfte. p. 516.)
- —, Erfolge in der Verhütung der Harninfektion. (Vortrag im Allgemeinen ärztl. Verein zu Köln a. Rh. am 16. November 1903. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 9.)
- —, Die keimfreie Aufbewahrung weicher und halbweicher Katheter. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 7.)
- —, Die Verhütung der Harninfektion. Handhabung der Asepsis und Antiseptis bei der Behandlung der Harnkrankheiten. Literatur. Wiesbaden (Bergmann) 1904.
- Goldschmidt, Sig., Ein Sterilisationsapparat für die urologische Sprechstunde. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorg. Bd. XIII. 1902. p. 521.)
- Görl, Sterilisation der Katheter. (Nürnberger med. Gesellsch. u. Poliklinik. Sitzg. v. 21. Nov. 1901. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 52. p. 2128.)
- Gouley, J. W. S., Notes on urethral catheterism, catheters and bougies. (New York med. Journ. 1899. November 4 and 11.)
- Groszlik, S., Zur Verhütung der Cystitis e catheterisatione. (Przeglad chirurgiczny. 1893. Bd. I. p. 285. Zit. aus „Aseptischer Katheterismus“ von demselben Verfasser.)
- —, Asepsis beim Katheterismus. (Ibid. 1895. Bd. II. Heft 2. Ref. Centralbl. f. Chir. 1896. No. 1. p. 12.)
- —, Aseptischer Katheterismus. (Wiener Klinik. 1896. Heft 4/5. S. 93. Literatur.)
- Grosse, Kathetersterilisation. (Monatsberichte f. Urologie. 1903. p. 385. Literatur u. Ber. üb. d. Sitzg. d. ärztl. Vereins München v. 13. Mai 1903 in der Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 24. p. 1053.)
- Guiard, Technique simplifiée de l'auto-cathétérisme antiseptique. (Ann. d. malad. d. org. gén.-urin. 1897. No. 6. p. 633.)
- Gumprecht, F., Die Technik der speziellen Therapie. Abschnitt „Asepsis beim Katheterismus“. Literatur. 3. Aufl. Jena (Fischer) 1903.
- Güterbock, Paul, Notizen über Katheterfabrikation in früherer und jetziger Zeit. (Dtsche Zeitschr. f. Chir. 1890. p. 227.)
- —, Die chirurgischen Krankheiten der Harn- und männlichen Geschlechtsorgane. Bd. I. Die chirurgischen Krankheiten der Harnorgane. Leipzig u. Wien (Franz Deuticke) 1890.
- —, Prüfung der Einwirkung des Sublimats auf das Gewebe der Katheter. (Verhandlungen der freien Vereinigung der Chirurgen Berlins. Bd. IX. p. 16. Autorefer. in Virchows Jahresbericht der gesamten Medizin für 1890. Bd. II. p. 282.) Berlin (Hirschwald) 1891.
- Guyon, Félix J. G., Le nitrate d'argent dans la chirurgie des voies urinaires. (Mercredi méd. 1891. No. 6.)
- —, Le cathétérisme et l'antiseptie. (Ann. d. malad. d. org. gén.-urin. 1894. p. 161.)
- —, Leçons cliniques sur les maladies des voies urinaires. T. II. Empoisonnement urinaire. Literatur. — T. III. Le cathétérisme. Paris (Baillière) 1903.
- Hamilton, The aseptic treatment of retention of urine. (American med. News. 1898. April 23.)
- Hammerl, Hans und Kermayer, Fritz, Zur Desinfektionswirkung des Formalins. (Münch. med. Wochenschr. 1898. No. 47 u. 48.)

- Hamonc, P., Nouveau stérilisateur par le formol, destiné surtout à l'antisepsie des sondes et des objets en caoutchouc et en gomme. (Compt. rend. de la 4. session de l'association française d'urologie. Paris 1899. p. 569. Octave Doin.)
- Hartmann, Henri, Quelques réflexions à propos d'un cas de fièvre urinaire intermittente. (Ann. d. malad. d. org. gén.-urin. 1892. p. 38.)
- —, Organes génito-urinaires de l'homme. Paris (Steinheil) 1904.
- Herman, M. W., Ueber das Sterilisieren der Seidenkatheter. (Centralbl. f. Chir. 1901. No. 3. p. 63.)
- Herring, Herbert T., A method of sterilising soft catheters. (Brit. med. Journ 1901. May 25.)
- Heusner, Ueber die Sterilisation der lackierten seidenen Katheter. (Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie. 32. Kongreß. Bd. I. 1903. p. 231.) Berlin (Hirschwald) 1903.
- Hirt, Willi, Vorrichtung zum aseptischen Selbstkatheterismus außer dem Hause. (Centralbl. f. Chir. 1902. No. 50. p. 1304.)
- Hochstetter, Untersuchungen über die Qualität und Desinfektionsfähigkeit einiger Sorten elastischer Katheter und Bougies. (Dtsche militärärztl. Zeitschr. 1899. Heft 6.)
- Hock, Alfred, Katheterdesinfektion mittels Formaldehyd. (Verein deutscher Aerzte in Prag; Sitzung vom 7. Dezember 1900. Ref. Dtsche med. Wochenschr. 1901. Vereinsbeilage p. 56.)
- —, Zur Frage der Katheterdesinfektion. (Prager med. Wochenschr. 1901. No. 21 u. 22.)
- —, Neuer Katheterdesinfektionsapparat. (Aerztl. Polytechnik. 1901. Juli.)
- Huldshiner, Richard, Zur Katheterdesinfektion. (Wiener med. Blätter. 1899. No. 8.)
- Imbert, Léon, Urètre et infections. (Nouveau Montpellier méd. 1901. p. 65.)
- Jacob, Zur Frage der Kathetersterilisation. Eine Nachprüfung des Katzensteinschen Verfahrens. (Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 10. p. 266.)
- Janet, Jules, Quelques instruments nouveaux ou perfectionnés, destinés au traitement des maladies des voies urinaires. (Annal. d. malad. d. org. gén.-urin. 1894. p. 210.)
- —, Appareils et instruments pour le traitement des maladies des organes génito-urinaires. (Ibid. 1895. p. 987.)
- —, Stérilisation des sondes par l'acide sulfureux et par les vapeurs de formol. (Ibid. 1896. No. 1. p. 26; No. 2. p. 122.)
- Jeanbrau, G., De la bactériurie. (Nouveau Montpellier médical. 1901. p. 257 u. 297. Literatur.)
- Katzenstein, M., Experimentelle Untersuchungen über Kathetersterilisation nebst Bemerkungen zur Asepsis des Ureterkatheterismus. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 37. p. 818 und Verhandl. d. Deutschen Gesellsch. f. Chirur. 29. Kongreß. Bd. I. 1900. p. 198.)
- Kayser, Heinrich, Die Flora der Straßburger Wasserleitung. [Straßburger Inaug.-Diss.] Kaiserslautern 1900.
- Klinger, Paul, Ueber neuere Methoden zum Nachweise des Typhusbacillus in den Darmentleerungen. [Inaug.-Diss.] Straßburg. 1904.
- Koch, Robert, Ueber Desinfektion. (Mittel. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. I. Berlin 1881.)
- Kolle, W. und Otto, R., Die Differenzierung der Staphylokokken mittels der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXI. 1902. p. 369.)
- Kraus, Rudolf, Die Bakterien der gesunden und kranken Harnwege. (Handb. d. Urologie von A. v. Frisch u. O. Zuckerkindl. Bd. I.) Wien (Alfred Hölder) 1904. Literatur.
- Krogus, Ali und Chydenius, Sam., Experimenteller Beitrag zur Frage von der Antiseptik bei der Behandlung chirurgischer Krankheiten der Harnwege. (Finska Läkaresällskapets Handlingar. Bd. XXXIV. Heft 12. Ref. Centralbl. f. Chir. 1893. No. 17. p. 364.)
- Kümmell, Vortrag im Aerztlichen Verein Hamburg am 27. November 1900. (Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1901. Vereinsbeil. p. 30.)
- Kurpjuweit, O., Ueber Lebensfähigkeit von Bakterien in Oel. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1902. 03. No. 2.)
- Kutner, Robert, Ein einfacher Apparat zum Sterilisieren von weichen Kathetern und Bougies. (Therap. Monatsh. 1892. Nov.)
- —, Un appareil simple pour stériliser des sondes et bougies molles et autres instruments. (Annales des maladies des organes génito-urinaires. 1893. p. 188.)
- —, Die Handhabung der Asepsis und Antiseptik bei Behandlung der Harnleiden. (Therap. Monatsh. 1894. Juli. p. 348, August, p. 397, Sept. p. 458.)

- Kutner, Robert, Zur Kathetersterilisation. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorgane. Bd. VIII. 1897. p. 189.)
- —, Neue Sterilisatoren für elastische und andere urologische Instrumente. (Ibid. p. 298.)
- —, Diskussion zu dem Vortrag von Posner und Frank „Ueber Blaseninfektion durch den Katheter. (Verhandl. d. Deutsch. Gesellsch. f. Chir. 26. Kongreß. Bd. I. 1897. p. 118.) Berlin (Hirschwald) 1897.
- —, Die instrumentelle Behandlung der Harnleiden, mit besonderer Berücksichtigung der Technik des Katheterismus. Berlin (Hirschwald) 1898.
- —, Zur Kathetersterilisation. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 40.)
- —, Ueber gonorrhoeische Blasenleiden. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 19. p. 452.)
- —, Kasuistische Beiträge zur Urologie (Demonstration eines Sterilisators für elastische Katheter). (Verhandl. d. Deutsch. Gesellsch. f. Chir. 32. Kongreß. 1903. p. 191 ff.) Berlin (Hirschwald) 1903.
- Lematte et Labonne, Précis d'urologie clinique. Paris 1900.
- Leven, Asepsis der Katheter. (Deutsche med. Wochenschr. 1897. Therap. Beil. p. 14.)
- —, Stérilisation des sondes en gomme. (Bull. méd. 1899. 11 mars.)
- Löb, Richard, Ein neuer Beitrag zur Formalindesinfektion, speziell in der Urologie. (Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 5.)
- —, Die Desinfektionsfrage in der Urologie und Chirurgie. (Monatsberichte für Urologie. 1901. p. 65.)
- Lücke, Rob., Die chronische Harnverhaltung in diagnostischer und therapeutischer Beziehung. Anhang: Selbstkatheterismus. Jena (Fischer) 1904.
- Lydston, Frank, Infection by the urethral sound. (Med. News. 1897. June 12.)
- MacLennan, A., A new flexible catheter. (British med. Journ. 1900. March 17. p. 646.)
- Mankiewicz, Zur Sterilisation der weichen Katheter. (Berliner medicin. Gesellsch. 6. Febr. 1901. Ref. Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 8. p. 221.)
- —, Zur Asepsis des Katheterismus. (Wiener klin. Rundsch. 1901. No. 40.)
- Marc, Kurze Anleitung zur Behandlung der elastischen Katheter und Bougies. Wildungen (P. Pusch) 1904.
- Martigny, Nouvel appareil pour la stérilisation des sondes en gomme et en caoutchouc par l'acide sulfureux. (Annales des maladies des organes génito-urinaires. 1895. No. 3.)
- Melchior, Max, Cystite et infection urinaire. Traduit du danois par le docteur Noël Hallé. Paris (Steinheil) 1895.
- —, Die Bedeutung des Bacterium coli für die Pathologie der Harnwege. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorgane. 1897.)
- —, Bericht über 52 bakteriologisch untersuchte Fälle von infektiöser Erkrankung des Harntrakts. (Monatsber. üb. d. Gesamtleistungen a. d. Gebiete d. Krankh. d. Harn- u. Sexualapparates. 1898. p. 584.)
- Misiewicz, M., Die Mikroben des uropoetischen Systems beim Manne. (Noviny. lekarskie. 1895. Ref. Virchows Jahresber. d. ges. Med. für 1895. Bd. II. p. 387.) Berlin (Hirschwald) 1896.
- Miskhailoff, N. A., Un nouvel appareil pour la stérilisation des sondes en gomme. (Annales des maladies des organes génito-urinaires. Bd. II. 1903. p. 1780.)
- Moullin, C. Mansell, Two lectures on urinary fever. (Lancet. 1897. Dec. 18 and 25.)
- Müller, Georg J., Zur Asepsis der Katheter. (Berl. klin. Wochenschr. 1894. No. 38. p. 881.)
- —, Demonstration urologischer Instrumente. Kathetersterilisator. (Verhandl. d. Deutsch. dermatol. Gesellsch. 6. Kongreß zu Straßburg 1898. p. 364.) Wien (Wilhelm Braumüller) 1899.
- —, Beiträge zur Asepsis des Katheterismus. (Monatsber. üb. d. Gesamtleistungen a. d. Geb. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualapparates. 1900. p. 193. Lit.)
- —, Zur Asepsis des Katheterismus. (Allg. med. Centralztg. 1900. No. 100.)
- Nancvede, C. B. und Hutchings, W. H., Eine bakteriologische Studie über die Kathetersterilisation. (Med. News. 1901. Nov. 23. Ref. Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. II. 1902. p. 127.)
- Nernst, Walther, Theoretische Chemie vom Standpunkte der Avogadro'schen Regel und der Thermodynamik. 4. Aufl. Stuttgart (F. Enke) 1903. Abschnitt: Gasgemische p. 101—102.
- Nicoll, James H., Observations in the sterilization of catheters and bougies, and on the presence of bacteria in the urethra. (Annals of surgery. Bd. XXIX. 1899. p. 661.)
- v. Notthafft, A., Taschenbuch der Untersuchungsmethoden und Therapie für Dermatologen und Urologen. 2. Aufl. München 1901.



- v. Notthafft, A. und Kollmann, A., Die Prophylaxe bei Krankheiten der Harnwege und des Geschlechtsapparates des Mannes. (Handb. d. Prophylaxe von Nobiling-Jankau. p. 557.) München (Seitz & Schauer) 1901.
- Novotny, L., Ueber das Katheterisieren im Anschluß an Krankheitsfälle. (Allg. Wiener med. Ztg. 1892. No. 28, 29, 31, 32, 33.)
- Oberländer, Der Selbstkatheterismus. Praktische Winke für Kranke, welche den Katheter brauchen müssen. Leipzig 1900.
- Oppler, Paul, Zur Sterilisation elastischer Katheter mittels Formaldehyddämpfen. (Münch. med. Wochenschr. 1896. No. 44.)
- Pauchet, V., Examen clinique de l'urètre, de la prostate et de la vessie. Paris 1901.
- Phélip, Stérilisation des sondes en gomme. Critique, simplification et improvisation des moyens. (Lyon méd. 1900. No. 34, 42; 1901. No. 25, 29, 32, 35.)
- Philipp, Gustav, Ueber die Desinfektion von Wohnräumen durch Formaldehyd. (Münch. med. Wochenschr. 1894. No. 47.)
- Poncet, A., Asepsie des diverses variétés de sondes, des cathéters. (Société nationale de méd. de Lyon. Ref. Lyon méd. 1889. No. 52.)
- Posner, C., Katheterfieber. (Die deutsche Klinik am Eingange des 20. Jahrhunderts, von E. v. Leyden u. F. Klemperer. Bd. X. I.) Berlin-Wien (Urban & Schwarzenberg) 1901.
- —, Diagnostik der Harnkrankheiten. 3. Aufl. Berlin (Hirschwald) 1902.
- —, Therapie der Harnkrankheiten. 3. Aufl. Berlin (Hirschwald) 1904.
- Posner, C. und Frank, Ernst R. W., Prüfung elastischer Katheter. (Berliner med. Gesellsch. 28. Okt. 1896. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1896. No. 44.)
- —, Ueber elastische Katheter. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorgane. Bd. VIII. 1897. p. 1.)
- —, Ueber Blaseninfektion durch den Katheter. (Verhandl. d. Deutsch. Gesellsch. f. Chir. 26. Kongreß. Bd. I. 1897, p. 118.) Berlin (Hirschwald) 1897.
- Roux, C., Le coli-bacille dans les voies urinaires. (Méd. modern. T. VIII. 1897. p. 52.)
- Rovsing, Thorkild. Ueber die Aetiologie, Pathogenese und Behandlung der septischen Infektionen der Harnwege. (Monatsber. üb. die Gesamtleistungen a. d. Geb. d. Harn- u. Sexualapparates. 1898. p. 505.)
- —, Klinische und experimentelle Untersuchungen über die infektiösen Erkrankungen der Harnorgane. Berlin (Oskar Coblentz) 1898.
- Ruprecht, Max, Ein neuer Apparat zur Sterilisation elastischer Katheter. (Beitr. z. klin. Chir. von P. Bruns. Bd. XXI. 1898. Heft 3. Literatur.)
- Saundby, R., Lecture on renal and urinary diseases. 4. ed. London 1901.
- Savor, Paul, Ueber den Keimgehalt der weiblichen Harnröhre. (Beitr. z. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. II. 1899. p. 103.)
- Schimmelbusch, C., Anleitung zur aseptischen Wundbehandlung. 2. Aufl. Berlin (Hirschwald) 1893. Abschnitt „Aseptisches Katheterisieren und Bougieren“. p. 130. Literatur.
- Schlesinger, Arthur, Ueber Trockensterilisation mittels Formaldehyd. (Archiv f. klin. Chir. Bd. LXXII. 1904. p. 898.)
- Stein, Ludwig, Antisepsis und Asepsis in der Urologie. (Wiener med. Wochenschr. 1901. No. 19, 20, 21.)
- Strehl, Hans, Beiträge zur Desinfektionskraft des Formalins. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XIX. 1896. No. 20. p. 785.)
- Suter, F., Ueber Sekundärinfektion bei der Tuberkulose der Harnorgane. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorgane. 1902. No. 12. Ref. Jahrb. d. prakt. Med. von J. Schwalbe. 1903. p. 239.) Stuttgart (F. Enke) 1903.
- Terrier, Félix, Statistique des opérations faites à l'hôpital Bichat pendant l'année 1888. (Progrès méd. 1889. No. 8. p. 137.)
- Tscherning, E. A., Bidrag til Kateterkognings Historie i Danmark. (Hospitalstidende. 1901. No. 18. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1901. Literaturbeil. p. 142.)
- Tuffier, Contribution à l'antisepsie urinaire. (Annales des maladies des organes génito-urinaires. 1890. p. 160.)
- Verhoogen, Jean, Le cathétérisme aseptique. (Journ. méd. de Bruxelles. 1901. No. 27.)
- Wallace, D., The importance of asepsis in genito-urinary surgery. (Edinb. med.-chirurg. soc. March 6. Ref. Virchows Jahresber. d. ges. Med. f. 1897. Bd. II. p. 484.) Berlin (Hirschwald) 1898.
- Warden, A. A., Urinary antisepsis. (Edinb. med. Journ. 1899. p. 273.)
- Weiss, Franz, Kurzes Handbuch der Krankheitslehre der Harn- und Sexualorgane. Budapest 1901.

- Wolff, L., Versuche mit Glycerin zur Sterilisierung weicher und elastischer Katheter. (Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorgane. Bd. VIII. 1897. p. 248.)
- —, Weitere Mitteilungen über Kathetersterilisation mit Glycerin. (Arb. a. d. bakt. Institut zu Karlsruhe. Bd. II. 1898. Heft 2. p. 150. Ref. im Jahresber. üb. d. Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen von P. v. Baumgarten u. F. Tangl. 1899.)
- —, Ein Beitrag zur Frage des aseptischen Katheterismus. (Deutsche med. Wochenschrift. 1899. Therap. Beil. No. 3. p. 13.)
- —, Sterilisation elastischer Katheter. (Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 15. p. 239.)
- Wolffhügel, Gustav, Ueber den Wert der schwefligen Säure als Desinfektionsmittel. (Mitteil. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. I. Berlin 1881.)
- Zuckerkanndl, O., Die Asepsis in der Urologie. (Handbuch der Urologie von A. v. Frisch u. O. Zuckerkanndl. Bd. I.) Wien (Alfred Hölder) 1904. Literatur.

Berichtigung zu vorstehender Arbeit.

Heft 1, p. 109, Zeile 2 von oben anstatt „bei Zimmertemperatur sich bilden. Die zur“ lies: „bei Zimmertemperatur sich bilden (Frank 95)“.

p. 109, Zeile 17 von oben anstatt „getrocknet würden (Janet,“ lies: „getrocknet würden (Frank, Janet,“.

*Nachdruck verboten.*

## Ein neues Bakterienfilter.

[Aus dem königl. kroat.-slavon. bakteriologischen Landesinstitute in Križevci (Kroatien).]

Von Prof. **Ferdinand Kern**, Vorstand des Institutes.

Mit 1 Figur.

Zufolge der hohen Ansprüche, welche an ein Bakterienfilter gestellt werden, ist es noch niemandem gelungen, ein solches in vollkommener Form und Güte herzustellen. Die Notwendigkeit solcher guter Filter wächst mit der fortschreitenden Entwicklung der Bakteriologie kontinuierlich, und jede Verbesserung und gute Neuerung auf diesem Gebiete ist demzufolge gerne gesehen. Im Bewußtsein dessen entschloß ich mich, das von mir konstruierte Bakterienfilter zu veröffentlichen, in der angenehmen Hoffnung, damit nicht bloß den Laboratorien gedient zu haben, sondern auch vielleicht eine weitere Vervollkommnung dieser Filter nach dem von mir angewandten Prinzipie anzuregen.

Die Anregung zur Konstruktion dieses Filters entstammt demselben Prinzipie, auf Grund dessen ich das Reichelsche Filter (vgl. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. No. 5) verbesserte. Bei der Ausführung der Idee wurde angestrebt, den Ansprüchen, welche an ein gutes Filter gestellt werden, soweit dies durch die Formation des Filters möglich war, zu entsprechen. So wurde danach getrachtet, viele Dichtungen zu vermeiden, dabei sollte das Filter gut zu reinigen sein.

Wie aus der beistehenden Figur ersichtlich ist, besteht dieses in Rede stehende neue Filter vor allem aus einer Porzellanschale. Diese Schale ist in der Mitte ihres Bodens durchlocht und enthält über dem Loche die Filterkerze, deren blindes Ende hinauf, das offene aber an dem Loche am Boden endet und einer Einstülpung des Bodens gegen das Lumen der Schale ähnlich ist. Unter dem Schalenboden befindet sich ein Ansatzrohr, welches in das Lumen der Kerze führt. Schale, Kerze und Ansatzrohr sind in einem Stücke aus Ton gearbeitet, Schale und Ansatzrohr sind mit Glasur überzogen.

Während die Schale die zu filtrierende Flüssigkeit aufnimmt, dient

das Ansatzrohr dazu, um mit ihr mit Hilfe eines Gummistöpsels das Filter dem Halse einer Vakuumflasche aufsetzen zu können, in welche letztere sich das Filtrat aus der Tonkerze durch die Ansatzröhre entleert. Das Lumen der Röhre ist so weit gehalten, damit mittels einer Bürste die Filterkerze von innen gut zu reinigen sei. Dabei aber ist die Röhre selbst nicht zu dick, um sie mittels eines durchlocherten Gummistöpsels gewöhnlichen Vakuumflaschen aufsetzen zu können.

Die Tonkerze ist oben abgerundet, ihr Scheitelpunkt liegt unter dem Schalenniveau, ihr Lumen ist bloß durch das Ansatzrohr mit der Außenwelt bezw. beim Filtrieren mit der Vakuumflasche verbunden.

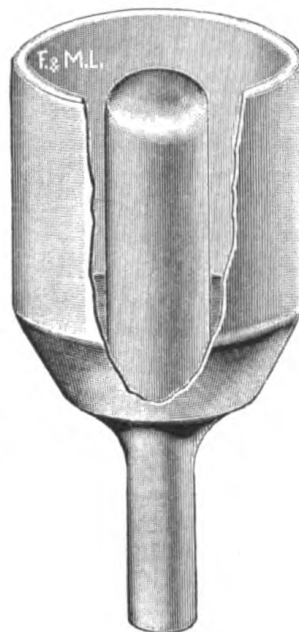
Setzt man also das Filter mittels eines durchlocherten Gummistöpsels auf eine Flasche bereit zum Filtrieren, gießt in die Schale die zu filtrierende Flüssigkeit und setzt nun die Luftpumpe in Bewegung, so wird die Flüssigkeit die Tonkerze durchziehen und aus letzterer sich in die Vakuumflasche entleeren. Ist aber die Schale nicht ganz mit Flüssigkeit gefüllt und die Tonkerze durch dieselbe nicht ganz bedeckt, so zieht durch den freistehenden Teil der Kerze Luft durch. Dabei wird das Vakuum in der Kerze und Vakuumflasche ununterbrochen verringert und die filtrierende Kerzenfläche kann deshalb nur bei behenderer Tätigkeit der Luftpumpe dasselbe leisten, als wenn das Durchziehen der Luft verhindert ist.

Die bereits erwähnte Verbesserung des Reichelschen Filters bestand im Verhindern dieses Luftdurchzuges, was durch ein Einsatzrohr bezweckt wurde. Bei dem neuen Filters ist dies viel einfacher erreicht; es wird bloß die Kerze mit einer Glasglocke, welche etwas größer ist als die Kerze selbst, ihrer Form aber entspricht, überdeckt. Hat man keine solche speziell dazu angefertigte Glocke, so tut es auch ein in der Größe entsprechendes Becherglas.

Ist das Filter in Tätigkeit und auch die Glasglocke über die Kerze gestürzt, so bildet sich bei nicht voller Filterschale, zufolge des Vakuums in der Kerze, auch unter der Glasglocke ein Vakuum, welches aber durch den atmosphärischen Druck ausgeglichen wird, und zwar so, indem die Luft, welche aus der Glasglocke in die Kerze übergeht, von unten durch Flüssigkeit der Schale ersetzt wird. Die durchfiltrierte Luft und Flüssigkeit wird nachher so lange unter dem Glockenrande durch Flüssigkeit ersetzt, so lange noch genügend Flüssigkeit in der Schale vorhanden ist, um den unteren Glockenrand zu decken.

Die Vorteile, welche dieses Filter anderen gegenüber bietet und nicht verkannt werden können, sind folgende:

- 1) hat es nur eine und leicht zu bewerkstellende Dichtung, jene zwischen Filter und Vakuumflasche;
- 2) besteht es aus nur einem Tonstücke und einer Glasglocke, welche beide leicht mechanisch gereinigt und sterilisiert werden können;
- 3) ist das Filter auch nicht ganz gefüllt, so kann die Luft doch nicht die Kerze durchziehen und das Vakuum verringern;



4) filtriert auch dann die ganze Kerzenmasse, wenn verhältnismäßig nur wenig Flüssigkeit in der Schale ist, somit ist es zum Filtrieren kleinerer Quantitäten ebenfalls geeignet, endlich

5) ist auch dessen Preis ein geringer.

Dieses Filter ist von der Firma F. u. M. Lautenschläger in Berlin (Oranienburger Straße 54) ausgeführt und daselbst mit Glaslocke zu M. 10,50 erhältlich.

*Nachdruck verboten.*

## Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien; zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen.

[Aus dem pathol. Laboratorium des Mount Sinai-Hospitals, New York.]

Von Dr. Leo Buerger, New York.

Mit 3 Tafeln.

### Inhaltsübersicht.

- A. Die Methode.
  - 1) Beschreibung der Methode zur Kapselfärbung.
  - 2) Analysierung der Methode.
- B. Morphologie und ihre Beziehung zur Diagnose und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen.
  - 1) Morphologie des Pneumococcus.
  - 2) " " Streptococcus.
  - 3) " " Streptococcus mucosus capsulatus.
  - 4) " " Bacillus mucosus capsulatus.
  - 5) " " Bacillus aërogenes capsulatus, Bacillus anthracis und anderer Organismen.
  - 6) Die Differenzierung des Pneumococcus und Streptococcus. Wert des Niederschlages des Inulins und der Kapseln.
  - 7) Allgemeine Besprechung der Differenzierung.

Die morphologische Identifizierung der Bakterien hat in den letzten Jahren nur eine nebensächliche Rolle bei der bakteriologischen Diagnose gespielt. Die fortwährende Entdeckung neuer Organismen mit deren morphologischen Strukturanlagen, die mit Kennzeichen bereits bekannter Arten anscheinend identisch sind, hat bei ihrer Differenzierung den kulturellen und biologischen Untersuchungen eine erhöhte Wichtigkeit verliehen. Doch gibt es auch Bakteriengruppen, die durch ihr Aussehen allein mit ziemlicher Sicherheit unterschieden werden können. Bei der Feststellung des Pneumococcus muß manchmal beträchtliches Gewicht auf den Nachweis einer Kapsel gelegt werden. In einer vorläufigen Mitteilung, die im Dezember vorigen Jahres veröffentlicht wurde (Medical News, New York. Vol. LXXXV. No. 24. p. 1117), gab ich in Kürze ein Verfahren zur Färbung der Bakterienkapseln an. In vorliegender Arbeit soll nicht nur dieses Verfahren beschrieben werden, sondern es sollen auch jene wichtigen Punkte in der Morphologie einiger eingekapselter Organismen hervorgehoben werden, welche durch die Anwendung dieser Methode zu Gesicht gebracht werden, und welche von besonderem Interesse in diagnostischer Beziehung sind. Ich möchte daher den Stoff dieser Arbeit in zwei Abschnitte einteilen:

- A. Das Verfahren,
- B. Die Morphologie und ihre Beziehung zur Diagnose und Differenzierung einiger Kapselorganismen.

### A. Das Verfahren.

Bei der Beschreibung des Verfahrens werde ich die folgende Reihenfolge einhalten:

- 1) die erforderlichen Lösungen,
- 2) die Technik des Verfahrens,
- 3) Kritische Bemerkungen zur Methode und Abweichungen in der Technik.

#### 1. Die erforderlichen Lösungen.

- 1) Menschen-, Rinder- oder anderes Blutserum mit gleichen Teilen einer normalen Salzlösung verdünnt oder Ascites- und Pleuraflüssigkeit.
- 2) Als Fixiermittel: Müllersche Flüssigkeit (Kalium bichromatum, 2,5 g, Natrium sulfuricum 1,0 g, Wasser 100 ccm) mit Sublimat gesättigt (durchschnittlich ca. 5—7-proz.).
- 3) 80—95-proz. Alkohol.
- 4) Jodtinktur (7-proz.).
- 5) Frische Anilinwasser-Gentianaviolett<sup>1)</sup> Lösung, in folgender Weise hergestellt: Anilinöl 10, Wasser 100, werden durchgeschüttelt, filtriert und dann 5 ccm einer gesättigten alkoholischen Gentianaviolett<sup>1)</sup> Lösung hinzugesetzt; oder 10-proz. wässrige Fuchsinlösung (d. i. gesättigte alkoholische Fuchsinlösung 10,0, Wasser 100,0).
- 6) 2-proz. wässrige Kochsalzlösung.

#### 2. Die Technik des Verfahrens.

Hier will ich zunächst eine Schilderung des Verfahrens geben, wie dasselbe für gewöhnlich bei den Kulturuntersuchungen in Anwendung kommt, und behalte mir eine Besprechung der Abweichungen hiervon für später vor.

Man mischt auf einem vollkommen reinen Deckglase etwas Kultur mit einem Tropfen Serum und streicht die Mischung sorgfältig in der üblichen Weise auf dem Deckglase aus. Noch bevor das Ausstrichpräparat vollständig getrocknet ist (wenn dasselbe etwa halb trocken ist), wird so viel Fixierungsflüssigkeit (Lösung No. 2) hinzugegeben, daß das Deckgläschen vollkommen damit bedeckt ist; dasselbe wird alsdann langsam, ca. 3 Sekunden lang, über der Flamme erwärmt. Es wird dann rasch in fließendem Wasser ab gespült, einmal durch Alkohol gezogen und ca. 1 Minute lang mit Jod behandelt. Letzteres wird mehrere Male mit Alkohol ab gespült, bis der Alkohol klar bleibt, und dann wird das Präparat an der Luft getrocknet. Färben mit Gentianaviolett<sup>1)</sup> Lösung ca. 3 Sekunden lang. Auswaschen und Einschließen in Salzlösung vervollständigen das Verfahren. Vor der Untersuchung kann das Präparat dann noch mit einem Vaseline ring umzogen werden.

Der Gang des Verfahrens ist also in Kürze folgender:

- 1) Ausstreichen in Serum.
- 2) Fixierung.
- 3) Abspülen in Wasser, dann in Alkohol.

---

1) Folgende Lösung ist 4—5 Tage brauchbar, die frisch bereitete ist jedoch stets vorzuziehen.

- 4) Jod.
- 5) Waschen in Alkohol, Trocknen.
- 6) Färben.
- 7) Einschließen.

### 3. Kritische Bemerkungen der einzelnen Maßnahmen und Abweichungen von der Methode.

Schon eine flüchtige Betrachtung des Verfahrens macht es klar, daß die Methode nicht mehr darstellt, als die Anwendung einfacher histologischer Prinzipien auf die Färbung von Bakterien. Die Mißerfolge in der Kapseldarstellung vieler Organismen sind vielfach dadurch bedingt, daß zur Herstellung des Ausstrichpräparates Wasser verwendet wird. Wasser zerstört die Kapseln der meisten Kapselbakterien. Hiss (1) hat auf den Wert des Serumgebrauches für diesen Zweck aufmerksam gemacht. Mir hat sich Rinderserum mit gleichen Teilen einer normalen Kochsalzlösung als sehr brauchbar erwiesen. Gewisse Ausnahmen hiervon sollen später Erwähnung finden. Wenn man den zarten Bau der Kapseln bedenkt, wird man sich bewußt sein, wie wichtig es im allgemeinen ist, daß der Prozeß des Ausstreichens in besonders sorgfältiger Weise ausgeführt wird, und daß dabei die Kultur beständig von der serösen Flüssigkeit bedeckt bleibt.

Die Fixierungsflüssigkeit, Zenkersche Lösung minus Essigsäure, tritt an Stelle des Erhitzens. Dieselbe fixiert nicht nur den Bakterienleib, sondern auch die Hülle. Wenn sie vor dem vollständigen Trocknen zugegeben wird, ist sie im stande, die Bildung einer diffus gefärbten Serum-schicht auf dem Deckglase zu verhindern. Dadurch wird das Bild ein klares, der Hintergrund bleibt entweder vollständig klar, oder wird nur hier oder da durch Detritus getrübt. Das leichte Erwärmen über der Flamme dient zur Beschleunigung der fixierenden Wirkung der Lösung. Es ist deshalb notwendig, eine etwas rasche Wirkung zu erzielen, weil die Fixierungsflüssigkeit einen schrumpfenden Einfluß ausübt, wenn man sie zu lange einwirken läßt. Gänzlich läßt sich derselbe auch so nicht vermeiden.

Das Präparat wird von der Fixierungsflüssigkeit befreit durch Abspülen in Wasser und Behandlung mit Jod. Das Eintauchen in Alkohol vor der Jodbehandlung begünstigt die Jodeinwirkung, ist aber nicht wesentlich. Auch bei der Behandlung histologischer Gewebsschnitte, die in Sublimat oder Zenkerscher Flüssigkeit fixiert wurden, muß das Sublimat mittels Jod entfernt werden. Ohne Jod ist das Gesichtsfeld überall durch schwarze Körnchen verunreinigt, die durch obiges Verfahren zum Verschwinden gebracht werden.

Das Jod wird dann mit Alkohol ausgewaschen. Bei dieser Maßnahme ist es von Wichtigkeit, daß jede Spur von Jodtinktur entfernt wird, um zu verhüten, daß Reste derselben mit der Farbflüssigkeit in Berührung kommen. Der ganze Prozeß bis zum Trocknen des Präparates an der Luft ist nur als Vorbereitung zu betrachten für die Anwendung der vielen Farbstoffe, von denen später noch die Rede sein wird. Für das Auswaschen und Einschließen wurde Salzlösung gewählt, weil diese das beste und klarste Bild gibt.

Gewisse Abweichungen von diesem Verfahren, z. B. Unterlassen des Erwärmens, Verzicht auf die der Jodbehandlung vorzuschickende Alkoholabspülung, sind angängig und wird das Endresultat nicht wesentlich davon berührt. Immerhin wird, wer sich mit dem Studium einer

Reihe von Kapselorganismen, sowohl in Exsudatflüssigkeiten, als auch in anderen Substraten beschäftigt, die Erfahrung machen, daß gewisse Modifikationen zur Erreichung des bestmöglichen Resultates nötig sind. Dieselben richten sich nach der speziellen Art der gerade zu untersuchenden Bakterien, sowie auch nach dem Substrat, dem dieselben entnommen wurden. Auf diese Punkte werde ich in Kürze noch bei der Besprechung der verschiedenen Organismen zurückkommen.

Wie schon erwähnt, soll im allgemeinen Rinderserum verdünnt mit gleichen Teilen einer normalen Salzlösung verwendet werden. Ist das Serum sehr dünn oder ist dasselbe zur Demonstration der Anwesenheit von Kapseln in flüssigen Substraten bestimmt, dann ist es oft besser, dasselbe unverdünnt zu gebrauchen. Auch Pleura- und Ascitesflüssigkeiten, vorausgesetzt ihr Eiweißgehalt ist genügend hoch, entsprechen dem Zweck, und verlangen dieselben in der Regel keine Verdünnung. Wenn man bedenkt, mit welcher Leichtigkeit die Kapsel des Pneumococcus in bestimmten Exsudaten gefärbt werden kann, wird es nicht überraschen, daß einige dieser Exsudate sich zur Verdünnung und zum Ausstreichen ganz ausgezeichnet gut eignen, am besten z. B. die keimfreie, fast klare Flüssigkeit, die man von alten sero-purulenten Empyemexsudaten, die man einige Zeit hindurch hat absetzen lassen, oben abheben kann.

Mit der Zenkerschen Flüssigkeit ohne Essigsäure habe ich die besten Resultate erhalten. Fast ebenso gute Bilder erhielt ich bei meinen Untersuchungen mit gesättigter Sublimatlösung in einer  $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung von Kochsalz. Auf andere Fixationsmittel, wie Formalin und Flemmingsche Flüssigkeit, habe ich verzichtet, da dieselben kein klares Gesichtsfeld gaben und überdies vor der oben empfohlenen Lösung keinerlei Vorteile voraus hatten. Wurde die Zenkersche Flüssigkeit mit der üblichen Quantität Essigsäure bei Pneumokokkenkulturen in Anwendung gebracht, dann konnte man sehen, daß viele Kapseln gequollen, andere schlecht gefärbt und wieder andere vollständig zerstört waren. Kontrollversuche ohne Essigsäure ergaben ein weit besseres Resultat.

Von Interesse waren die Versuche mit verschiedenen Farbstoffen. Es ergab sich daraus, daß die Kapseln bestimmter Bakterien verschiedenartige Behandlung zuließen, sobald sie in der vorher beschriebenen Weise fixiert waren, und ferner ließen sich dadurch gewisse Färbmethoden zur Differenzierung entwickeln, von denen später noch die Rede sein wird.

Als beste Farbflüssigkeit hat sich die schwache Anilinwasser-Gentianaviolett­lösung erwiesen. Es kann zwar auch die gewöhnliche Lösung, wie sie allgemein für die Gramsche Methode in Gebrauch ist, benutzt werden. Allein es tritt dabei leicht eine Ueberfärbung der Präparate ein. Eine starke Fuchsin­farbe (10—15-proz., 10—15 ccm einer gesättigten alkoholischen Fuchsinlösung, Wasser ad 100 ccm) hat den Vorteil, daß die Lösung nicht frisch hergestellt zu werden braucht, während die Anilinwasserfarben frisch bereitet werden sollten<sup>1)</sup>. Dem Methylenblau fehlt das Färbevermögen, das zu einer klaren Definition nötig ist, und dasselbe gilt für das Methylen­grün-pyronin (Pappenheim). Das letztere färbt den Leib des Pneumococcus rot und die Kapsel schwach grün.

Eine wichtige und brauchbare Variation in der Färbemethode ist die Anwendung des Gramschen Verfahrens. Dasselbe wird in fol-

1) Vide obige Note.

gender Weise ausgeführt. Nachdem das Präparat in Alkohol ausgespült und getrocknet ist, wird es nach der üblichen Gramschen Methode gefärbt, dann eine Minute lang mit einer starken wässerigen Fuchsinlösung (10—15-proz.) nachgefärbt und in Wasser gelegt. Dabei werden alle Kapseln entfärbt und nehmen die Nachfärbung an; der Leib des Pneumococcus behält die Färbung. Ich wurde zuerst auf die Notwendigkeit und praktische Verwertbarkeit eines solchen Verfahrens aufmerksam, als ich die Aehnlichkeit einiger kleinen diplokokkenähnlichen Formen des Friedländerschen Bacillus mit dem Pneumococcus in gemischten Kulturen bemerkte. Kulturen, die direkt dem Rachen entnommen wurden, indem das Material auf ein Röhrchen mit Loefflerschem Blutserum ausgesät wurde, zeigen oft die Gegenwart von Kapseldiplococcusformen, die nur auf diesem Wege morphologisch unterschieden werden können. Das kombinierte Kapsel- und Gramsche Verfahren macht die Identifizierung leicht.

Die besten Umriss der Kapsel und überhaupt die am meisten zufriedenstellenden Bilder erhält man durch Einschließen in eine Flüssigkeit. Kochsalzlösung ist bei der Gentianaviolett färbung, und Wasser bei Fuchsin und bei der Gramschen Färbung zu verwenden. Balsam scheint die schärferen Umriss der Kapsel zu zerstören und die Färbung ungenau zu machen. Die gewöhnlichen Präparate kann man jedoch zu ziemlich brauchbaren Dauerpräparaten machen, indem man das Salzwasser mit einer 5—10-proz. wässerigen Lösung von Kalium ferrocyanatum abspült, mit Fließpapier trocknet und in Kanadabalsam einbettet.

So weit ich feststellen konnte, kann die oben beschriebene Methode zur Färbung aller gewöhnlichen Kapselorganismen benutzt werden, und zwar sowohl bei Exsudaten wie Kulturen. Gewisse charakteristische Unterschiede in der Morphologie werden damit klar zur Anschauung gebracht. Auf diese Unterschiede werde ich bei der Beschreibung der verschiedenen Organismen noch zurückkommen.

### **B. Morphologie und ihre Beziehung zur Diagnose und Differenzierung einiger Kapselorganismen.**

Der Pneumococcus. Mit nachstehendem bezwecke ich, eine kurze Uebersicht über das Studium der Morphologie des Pneumococcus unter verschiedenen Bedingungen zu geben. Das Vorhandensein, die Entstehung und die Bedeutung der Kapsel dieses Organismus haben Anlaß zu einer ziemlichen Kontroverse gegeben. So war Sée (2) im Jahre 1885 der Ansicht, daß es sich dabei nur um ein Kunstprodukt handle. Die Anwendung der Färbemethoden jedoch, wie die von Welch, machten es klar, daß das Vorhandensein dieser Hülle ein Charakteristikum des vollständig entwickelten Organismus bildeten. Der Nachweis der Kapsel form in Nährböden hat nur wenig Beachtung gefunden. Die Arbeit von Hiss (l. c.) ausgenommen, gibt die Literatur nur wenig zufriedenstellende Auskunft. Guarnieri (3) fand Spuren von Kapseln in seinem halbflüssigen Nährsubstrat, und gut entwickelte Kapseln in Blut- oder Hydrocelenserum. Eine ähnliche Beobachtung konnte Ortmann (4) betreffs der Kapselbildung in Kaninchenblutserum machen. Später züchtete Schmidt (5) Formen, die denjenigen ähnlich waren, die gewöhnlich im Blute infizierter Tiere, im sterilisierten Pneumonikersputum sowie im sterilisierten Trachealschleim gefunden werden. Das Vorhandensein von Kapseln in milchigen Substraten wurde von Welch (6) entdeckt.



Aus dem Studium vieler Bakterienstämme unter den verschiedenartigsten Kulturbedingungen scheint sich zu ergeben, daß beträchtliche Abweichungen bezüglich des Aussehens der Kapsel des Pneumococcus vorhanden sind, die oft Hand in Hand mit dem makroskopischen Aussehen der Kultur gehen und durch verschiedene Faktoren bedingt werden.

**Der Pneumococcus in Kulturböden.** Der Typus der Kapsel, wie sie in den besten Nährböden und unter den günstigsten Bedingungen gefunden wird, wird durch Abbildung 1 illustriert. Hier sieht man, daß der Diplococcus von einem tief gefärbten, scharf begrenzten elliptischen Ring umgeben ist, der von dem Leib des Bakteriums etwas entfernt liegt und durch einen klaren Bezirk von ihm getrennt ist. Die Intensität, mit welcher dieser äußere Rand oder, wenn man so sagen darf, die Kapselmembran den Farbstoff aufnimmt, ist beträchtlich verschieden. Immer aber ist sie wohlabgegrenzt und in die Augen springend. Der klare Zwischenbezirk ist manchmal ebenfalls gefärbt, aber im allgemeinen schwächer als die Grenzmembran. Die gewöhnlichen Kapselformen haben entweder eine elliptische Gestalt oder bieten eine Einschnürung dar. Beide Formen sind aus den beigegebenen Abbildungen ersichtlich. Der erwähnten Einschnürung begegnet man besonders oft bei üppig wachsenden, frisch entnommenen Kulturen auf günstigen Nährböden, und man darf annehmen, daß sie ein frühes Stadium des beginnenden Teilungsprozesses bedeutet. Kulturen mit vollkommen ausgebildeten Formen enthalten sehr oft sowohl eingekapselte Einzelkokken und Ketten, wie auch leere Kapseln. Die Einzelformen sind der Größe nach verschieden, sind in der Regel klein, wechseln in ihrer Gestalt von der Kugelform bis zum kurzen Stäbchentypus. Die leeren Kapseln sind entweder rund, oval oder leicht hantelförmig gestaltet, besitzen eine wohlabgegrenzte und gut gefärbten Rand, der einen schwach gefärbten oder klaren Innenraum umgibt. Die typischen Pneumokokkenketten variieren bedeutend hinsichtlich ihrer Länge. Eine kurze Kettenform mit Aufpfropfung des gewöhnlichen Typus am einen Ende zeigt unsere Abbildung. Diese Ketten sind von einer einzigen in die Länge gezogenen Kapsel umgeben, die in der Regel seitliche Einschnürungen zwischen den Diplokokken zeigt. Gut ausgebildete Ketten sind von der Außenmembran durch einen beträchtlichen Streifen der entweder klar oder nur schwach gefärbt ist, getrennt, gerade wie bei der Diplococcus-Form.

Wenn auch die gegebene Beschreibung für eine gewisse Anzahl von Kulturen, die man regelmäßig antrifft, genügt, so kann es doch vorkommen, daß man auf viele Abweichungen stößt, sowohl hinsichtlich der Größe, wie auch der Form und des Färbevermögens, wenn eine große Anzahl von Stämmen zur Untersuchung kommt. Diese Unterschiede sind abhängig von der speziellen Eigenschaft des betreffenden Bakteriums, von dem Substrat und von der Zahl der Umzüchtungen, die der Untersuchung vorausgegangen waren.

Pneumokokken, die frisch gewonnen wurden und auf einem Nährboden gewachsen sind, der ganz besonders günstig für die Entwicklung und Erhaltung der Kapselformen ist, können unter die folgenden Abschnitte eingereiht werden:

- 1) Typische Formen von normaler Größe (einzeln oder in Ketten).
- 2) Kleine Formen.
- 3) Große Formen.
- 4) Leicht in die Länge gezogene Formen.
- 5) Bacilläre Formen.

Dabei muß bemerkt werden, daß solche atypische Formen, deren Morphologie durch Verbesserung der Art des Nährbodens leicht in den gewöhnlichen Typus übergeleitet werden können, in dieser Aufzählung nicht mit einbegriffen sind.

Die erste Gruppe wurde bereits beschrieben. Die zweite unterscheidet sich von der ersten nur durch die Größe; ihre Kapseln sind schmaler und die äußere Begrenzung liegt dem Kokkenleib sehr dicht an. Die großen Formen besitzen auffallend große Kapseln, die oft den vielfachen Durchmesser des Coccus haben; sie neigen zum Zerfall, sind weniger scharf abgegrenzt, sind augenfällig mehr schleimartiger Natur und färben sich diffus. Kolonien dieser Formen, die auf 2-proz. Glukose-Serumagar<sup>1)</sup> [wie von Libman (7) empfohlen] gewachsen sind, können beträchtliche Dimensionen erlangen. Einige der größten messen 3 mm im Durchmesser. Derartige Diplokokken können leicht mit dem *Streptococcus mucosus capsulatus* verwechselt werden, sind aber in der Regel ganz ausgesprochen lanzettförmig, während der letztere eine mehr runde oder biskuitähnliche Gestalt hat. Die in die Länge gezogenen und stäbchenförmigen Arten werden hier und da angetroffen. Ich bin ihnen häufig begegnet bei den ersten Umzüchtungen, die aus der Mundhöhle gesunder Individuen stammten. Die fünfte Abart scheint hauptsächlich in üppig wachsenden Kulturen vorzukommen, die von Serumagar gewonnen sind. Ein Beispiel hierfür bietet Abbildung 6. Manchmal sind die Verhältnisse mehr ausgesprochen, wie hier geschildert wurde. Ihre Kapseln sind enge und die Grenzmembran liegt dem Bakterienleib ziemlich dicht an. Oft kann man sehen, daß solche Pseudobacillen augenscheinlich aus zusammenfließenden, kleinen kokkenähnlichen Elementen bestehen.

Bevor wir zur Betrachtung der Morphologie auf den verschiedenen Nährböden und Exsudaten übergehen, dürfte es zweckdienlich sein, einen kurzen kritischen Ueberblick über die Resultate zu geben, die man mit der oben beschriebenen Technik erhält. Der Umstand, daß das Auswaschen in Wasser nach dem Gebrauch der Fixierungsflüssigkeit die Kapseln nicht zerstört, scheint auf die Annahme hinzuweisen, daß die Zenkersche Lösung sowohl den Leib wie die Kapsel fixiert. Allein die Unmöglichkeit, in einigen Fällen die Kapselsubstanz<sup>2)</sup>, zu färben, deutet darauf hin, daß vielleicht ein gewisser Grad von Verdichtung der äußeren Kapselschichten eintritt. Vielleicht ist dieser Effekt dem in der Lösung enthaltenen Sublimat zuzuschreiben. Die Verdickung der äußeren Membran beim Gebrauch gewisser Serumarten zum Ausstreichen könnte als Stütze für die Annahme betrachtet werden, daß die Kapselsubstanz eine genügende Menge von Serum aufnimmt, um für die Sublimatwirkung sowohl wie für die verschiedenen Farbstoffe empfänglicher zu werden. Wie viel Wahrheit diese Theorien enthalten, läßt sich zur Zeit noch nicht sagen.

Es ist wohl bekannt, daß der *Pneumococcus* hinsichtlich seiner Morphologie beträchtliche Veränderungen erleidet, wenn er auf künstlichen Nährböden wächst und besonders auch nach Züchtung einer Reihe von Generationen. Ich habe die folgenden Nährsubstrate als die für die Entwicklung der typischen Kapselformen am besten geeigneten gefunden:

1) In dieser Arbeit ist unter Serum, wenn nicht anderweitig bemerkt, stets Ascitesflüssigkeit zu verstehen. Hydrocelen- und Pleuraflüssigkeit geben ähnliche Resultate.

2) Unter „Kapselsubstanz“ ist die Substanz zwischen Kapselrand und Bakterienleib verstanden.

Serumagar, Glukoseserumagar (0,5—2,0-proz.) und Loefflersches Blutserum. Die Serumagar-Nährsubstrate, welche mir die besten Dienste erwiesen, waren aus flüssigem Agar und einem Drittel Volumen keimfreien Ascitesserums zusammengesetzt. Der Agar soll neutral bis leicht sauer sein (10 ccm = 0,5  $\frac{1}{10}$  normal NaOH, Phenolphthalein) und wird am besten mit Fleischwasser zubereitet. 2,5 Proz. Agar gibt die richtige Konsistenz. Sein Peptongehalt soll 1,5—2 Proz. betragen. Gleich gute und manchmal sogar bessere Kapseln bekommt man von Kulturen auf Serumagar mit einem Zusatz von Dextrose. Für praktische Zwecke sind die Serum- oder Glukoseserumagar-Nährsubstrate zu empfehlen, doch können oft wenig entwickelte Kapseln in neutralem oder schwach saurem Agar ohne Serum zur Anschauung gebracht werden. Dies hängt zum großen Teil von der Art des gerade zu Gebote stehenden Stammes ab. Sehr gute Präparate lassen sich oft von Kulturen in neutraler Bouillon machen. Noch besser als letztere ist Serum- oder Glukoseserum-Bouillon. Dieselben sind jedoch niemals verlässlich bei Organismen, die bereits eine Reihe von Umzüchtungen erfahren haben, und an ihre Stelle müssen für diagnostische Zwecke die festen Nährboden treten. Frisch isolierte Kulturen zeigen tatsächlich in Milch immer Kapseln. Dieses Nährsubstrat ist jedoch für die Herstellung klarer und zufriedenstellender Präparate, nicht geeignet.

Bei der Anfertigung von Präparaten aus den verschiedensten Nährböden habe ich gewisse Abweichungen in der Technik für die Erlangung eines erfolgreichen Resultates von einigem Werte gefunden. Aus Serumagar soll man die Kultur bei Schräghaltung entnehmen und vermeiden, dieselbe in das Kondensationswasser zu tauchen. Wenn letzteres jedoch eine genügende Quantität Serum enthält, ist diese Vorsicht unnötig. Wenn die Loefflerschen Röhrchen ein einigermaßen reiches eiweißhaltiges Kondensationswasser enthalten, können die daraus entnommenen Kulturen ausgezeichnete Kapseln aufweisen. Die flüssigen Substrate erfordern für das Ausstreichen dickes, d. h. unverdünntes Serum. Man kann oft ziemlich lange Kapselketten nachweisen, besonders in Serum- oder Glukoseserum-Bouillon. Milch gibt, wie schon erwähnt, schlechte Präparate. Am besten verdünnt man eine Oese voll Kultur mit mehreren Tropfen Serum auf einem gesonderten Objektträger, bevor man zum Ausstreichen auf dem Deckglas schreitet. Wenn ich nochmals zusammenfassen soll, möchte ich sagen, daß Serum- oder Glukoseserumagar für praktische Zwecke die besten Nährsubstrate sind.

Wenn man viele Pneumokokkenstämme in aufeinanderfolgenden Generationen auf demselben Nährboden i. e. Serumagar untersucht, kann man interessante Beobachtungen betreffs Veränderungen in der Morphologie machen. Eine Anzahl derselben behält die typische Kapselform für Monate nach der Isolierung bei. Untersuchungen mit vier solcher Organismen, die sich auf eine Zeitdauer von 4 Monaten erstreckten, ergaben nur eine ganz geringfügige Aenderung hinsichtlich der Morphologie, nämlich ein Kleinerwerden der Leiber und Kapseln. Andere Stämme wiederum zeigen deutlich eine Involution in den allerersten Generationen. Manchmal weisen die zweite, dritte oder vierte Generation viele der folgenden atypischen Formen auf, die jedoch sämtlich eingekapselt sind. Ich will die folgenden auführen: kurze Ketten, atypische Diplokokkenformen, schwach färbare Formen, solche mit degenerierten Kapseln und mit kugelförmigen anstatt lanzettförmigen Elementen. Unter diesen abnormen Kapselformen befinden sich zerfallene, degenerierte und leere

Kapseln. Wenn die kurzen Ketten typische lanzettförmige Elemente einschließen, bieten sie die bereits beschriebene und abgebildete Kapsel dar. Ihr Erkennen und Identifizierung als Pneumokokken ist dann nicht schwierig. Schwieriger jedoch wird die Diagnose, wenn einerseits die Kapseln schmaler, sogar linienförmig werden und dem Leibe der Organismen näher anliegen, oder wenn andererseits die eingeschlossenen Elemente kugelförmig werden. Derartige Typen sind in alten Kulturen etwas Häufiges. Oft sieht man zwei fast kugelige Endkörper an jedem Ende einer Reihe von scheibenförmigen Körpern, die zu zweien, viere oder mehreren zusammenliegen können. Manchmal sind dieselben von einem schmalen Saume umgeben und nur durch einen sehr kleinen, klaren Raum davon getrennt; in anderen Fällen fehlt jegliche Spur einer Kapsel. Ihre morphologische Unterscheidung von gewissen Streptokokken ist unmöglich. Es gibt sehr viele atypische Diplokokkenformen, von denen ich hier nur eine häufige Varietät erwähnen will, welcher man in alten Kulturen sowohl wie in ersten Züchtungen und sogar in Exsudatflüssigkeiten begegnet. Diese Formen bestehen aus einer großen kugelförmigen Substanz, die entweder getrennt oder verschmolzen ist mit einer sehr kleinen Kokkenform. Sie können gut entwickelte Kapseln haben. Wenn die nur schlecht färbbaren Kettenformen mit kombinierter Kapsel- und Gramscher Färbung behandelt werden, zeigen sie oft ein eigentümliches Verhalten: manche Glieder einer Kette sind Gram-positiv, andere negativ und sind von einer Gram-negativen Kapsel eingeschlossen. Es ist schwierig, betreffs des Vorkommens von leeren Kapseln in frisch isolierten Kulturen eine Theorie aufzustellen. Man trifft sehr viele Abweichungen hinsichtlich der Häufigkeit dieses Vorkommens in den verschiedenen Stämmen. Ein Umstand, der vom praktischen diagnostischen Standpunkt aus betreffs der Morphologie des Pneumococcus, der eine Reihe von Züchtungen erfahren hat, von der größten Wichtigkeit ist, ist die Annahme der Streptokokkenform, und zwar manchmal mit Kapseln (wie bereits beschrieben), manchmal ohne dieselben. Darin, wie lange die typische lanzettförmige Kapselform sich erhält, bestehen große Verschiedenheiten, und der Uebergang in die Streptokokkenform kann zu irgend einer Zeit stattfinden.

(Schluß. folgt.)

### Inhalt.

- |  |  |
|--|--|
| <p><b>Bosc, F. J.</b>, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). III. (Forts.), p. 129.</p> <p><b>Buerger, Leo</b>, Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien; zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen, p. 216.</p> <p><b>De Waele, H.</b> und <b>Sugg, E.</b>, Experimentelle Untersuchungen über die Kuhpockenlympe. (Schluß), p. 142.</p> <p><b>Ehlers, Heinrich W. E.</b>, Alsol, ein neueres Tonerdepräparat, p. 190.</p> <p><b>Gay, Frederick P.</b>, Observations on the single nature of haemolytic immune bodies, and on the existence of so-called "Complementoids", p. 172.</p> | <p><b>Kern, Ferdinand</b>, Ein neues Bakterienfilter, p. 214.</p> <p><b>Schnittrer, Josef</b>, Zur diagnostischen Verwertung der Rotzagglutination, p. 180.</p> <p><b>Sittler, Paul</b>, Die Sterilisation elastischer Katheter. (Schluß), p. 194.</p> <p><b>Theohari, A.</b> und <b>Babes, A.</b>, Ueber ein gastrotoxisches Serum, mit einem Studium des Chemismus des Magens und der von diesem Gastrotoxin veranlaßten histologischen Veränderungen. (Schluß), p. 160.</p> <p><b>Tissoni, Guido</b> und <b>Bongiovanni, Alessandro</b>, Die Wirkung der Radiumstrahlen auf das Virus rabiei in vitro und im tierischen Organismus, p. 187.</p> <p><b>Turró, E.</b> und <b>Pi y Suñer, A.</b>, Der Mechanismus der natürlichen Immunität auf physiologischer Grundlage, p. 149.</p> |
|--|--|

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kenntnis der Saccharomycosis hominis.

[Aus der Prosektur des k. k. Franz Josefs-Spitals Wien (Vorstand:  
Prof. Dr. R. Kretz).]

Von **Karl Reitmann.**

Mit 1 Tafel.

Seit längerer Zeit mit dem Studium der De- und Regenerationsprozesse des Nierenparenchyms an menschlichem Materiale beschäftigt, habe ich vor mehr als Jahresfrist in einer wenigen Stunden post mortem für diese Zwecke fixierten Niere einen eigentümlichen Befund erhoben, der, da sich banale Prozesse rasch ausschließen ließen, einer Deutung vorläufig nicht zugänglich war. Nun durch Uebertritt zur Dermatologie mit der Blastomykose und der einschlägigen Literatur näher bekannt geworden, erschien es mir in hohem Grade wahrscheinlich, daß es sich auch hier um eine solche, richtiger wäre wohl mit Busse von einer Saccharomykose zu sprechen, gehandelt habe, und von diesem Gesichtspunkte habe ich nun, um so mehr, da ich in der mir zugänglichen Literatur im ganzen nur 3 oder 4 ähnliche Fälle aufzufinden vermochte, den vorliegenden einer neuerlichen Untersuchung unterzogen.

Es handelte sich um einen 38-jährigen verheirateten Bäckergehilfen, der, soviel ich der allerdings nicht sehr eingehenden Krankengeschichte entnehme, vor 20 Jahren angeblich 16 Wochen an Typhus krank gelegen hatte, seitdem aber immer gesund gewesen ist. 7 Tage vor seiner Aufnahme in das Krankenhaus bekam er plötzlich Schüttelfrost, bald hierauf stellte sich Fieber und Schmerzen auf der Brust ein. Da sich sein Zustand spontan nicht bessert, sucht Patient das Spital auf. Bei seiner Aufnahme bietet er folgenden Befund: Patient ist mittelgroß, kräftig gebaut, gut genährt. An den Lippen finden sich einzelne eingetrocknete Herpesbläschen. Die Wirbelsäule ist in ihrem unteren Segment nach links abgewichen. Das Herz nicht vergrößert, kein Geräusch. Ueber beiden Lungenspitzen heller Schall, rechts vorne von der 4. Rippe an Dämpfung, die in die der Leber, welche bis in die Nabelhorizontale reicht, übergeht. Links vorne hypersonorer Schall, rückwärts vom Angulus scapulae abwärts handbreit Dämpfung. Ueber dem Oberlappen rauhes vesikuläres Atmen, im Unterlappen rauhes Knisterrasseln. Rechts oben dichtes Knisterrasseln, in der Gegend des Angulus bronchiales Atmen mit vereinzelt Rasseln, das nach abwärts stärker wird. Die Blase stark erweitert, im Abdomen sonst nichts Abnormes. Im Bereiche des rechten Unterschenkels Pigmentflecken nach varikösen Ulceribus Endarteritis. Temperatur 37,8°, Puls 96. Im Harn Albumen in Spuren, Chloride vermindert. Im weiteren Verlaufe nichts Anmerkenswertes. Nach 4-tägigem Spitalsaufenthalte Exitus letalis.

Die 4 Stunden post mortem vorgenommene Obduktion ergab folgenden Befund: Pneumonia crouposa in Stadio hepatitisationis griseae lobi superioris pulmonis sinistri. Pleuritis obsoleta et recens sinistra. Pneumonia crouposa centralis in lobo superiore et medio pulmonis dextri. Glomerulonephritis?

Zur mikroskopischen Untersuchung waren leider nur Stückchen beider Nieren in Müller-Formolmischung konserviert und in Paraffin eingebettet worden. Mikroskopisch — es sei gleich bemerkt, daß beide Nieren den gleichen Befund boten — erscheint das Nierenparenchym geringgradig parenchymatös und fettig degeneriert, in den Zellen des niederzelligen, nach den Untersuchungen O. Stoerks aufsteigenden Astes der Henleschen Schleife reichlich körniges braunes, die Perlsche Eisenreaktion nicht gebendes Pigment. Die Kerne sind präzise färbbar, einzelne wenige in Karyokinese; im Kapselraum der Glomeruli spärlich krümelig geronnenes, mit Hämalaun-Eosin rot tingiertes Exsudat. In manchen Tubulis contortis zweiter Ordnung schollige, rot gefärbte, hyaline Massen mit einzelnen zwischen sie eingeschlossenen, nicht mehr präzise färbbaren polynukleären Leukocyten und einzelne desquamiierte Epithelien. Im interstitiellen Bindegewebe allenthalben, doch in wechselnder Intensität, ein aus mono- und polynukleären Rundzellen — wobei erstere überwiegen —, spärlichen Plasmazellen und wenigen Eosinophilen bestehendes zelliges Infiltrat, das jedoch keine Riesenzellen aufweist. Dieses zeigt keinerlei typische Lokalisation, neben anderen dichteren Infiltratherden finden sich solche auch manchmal in der Umgebung größerer Venenstämmchen, seltener aber dann um so intensiver um Arterien.

Das aber in dieser Niere besonders Auffällige bilden auf manchem Schnitt recht reichlich vorkommende, ziemlich stark lichtbrechende, runde, doppelt konturierte, meist kugelige Gebilde, zwischen ca. 5—20  $\mu$  groß. Sie finden sich teils einzeln, teils in weniggliedrigen Ketten oder in Form der sogenannten Sproßverbände, wie wir sie bei den Saccharomyceten kennen, bei denen man kleine Vorbuchtungen, Halbkugeln und Kugeln aus großen solchen hervorgehen sieht. Entsprechend gefärbt, lassen sie einen gleichmäßig gefärbten, zentralen Körper erkennen, innerhalb welchem sich durch die Eisenhämatoxylinfärbung nach Heidenhain noch ein dunkler gefärbter, kleinerer, kernartiger darstellen läßt. Ersterer erscheint bei scharfer Einstellung von einem nahezu linearen dunkeln Kontur begrenzt, an welchen sich häufig noch eine lichtere, homogene, oft noch ein oder mehrere konzentrische Schichtungen zeigende Hülle anschließt. Dieses Bild bieten diese Gebilde bei Hämalaun-Eosinfärbung, auch mit Kresylviolett und nach Gram färben sie sich, aber weniger distinkt, Karmin und Safranin nehmen nur einzelne an. Nach der neuen von Best angegebenen Eisenreaktion behandelt, werden einzelne von ihnen blaugrün, während die anderen, die farblos geblieben, einer Gegenfärbung mit Safranin zugänglich sind.

Was die Lage dieser Gebilde in der Niere anlangt, so finden sie sich ausschließlich unmittelbar innerhalb des Epithels der Tubuli, nie in den Glomerulis, frei mitten im Stroma oder innerhalb von Gefäßen. Das Epithel zieht entweder verdünnt und gegen das Lumen vorgebuchtet über sie hinweg oder aber ist darüber gewissermaßen geplatzt, an solchen Stellen finden sich einzelne von ihnen frei im Lumen der Harnkanälchen. Einmal sah ich auch eine so abgeplattete Epithelzelle in mitotischer Teilung begriffen. Manchmal scheint, soweit sich dies eben ohne längere Schnittserie beurteilen läßt, ein einzelnes Schlauchsystem besonders von der Affektion ergriffen zu sein.

Wenn wir nun die für vorliegenden Fall in Betracht kommenden Möglichkeiten zu diskutieren versuchen, so können bloße Niederschläge, wenn sie wohl auch schon oft zu ihrer Verwechslung mit Mikroorganismen

geführt haben, schon auf Grund des histologischen Befundes ausgeschlossen werden. Ich habe zwar ab und zu in anderen Nieren den oben beschriebenen Bildern entfernt ähnliche beobachten können, diese fanden sich aber stets in einem Gefäßlumen und scheinen einem Gerinnungs- bzw. einem Kristallisationsprozesse ihren Ursprung zu verdanken. Kolloid, das, ich verweise diesbezüglich auf die betreffende Abbildung in Ziegler's Handbuch, auch ähnlich aussehen konnte, kommt bei der Färbbarkeit dieser Gebilde mit Hämatoxylin kaum in Betracht. Kalkkonkremente, wie sie schon physiologischerweise als konzentrisch geschichtete Gebilde in den Meningen und der Glandula pinealis und vielfach unter pathologischen Verhältnissen anderweitig auftreten, färben sich zwar mit Hämatoxylin ähnlich, lösen sich aber in verdünnten Mineralsäuren und lassen speziell bei Zusatz von Acidum sulfuricum die typischen Gipskristalle erscheinen, deren Darstellung trotz mehrfacher diesbezüglicher Versuche in unserem Falle nicht gelang. Neben konzentrischer Schichtung zeigen die erwähnten Konkreme vielfach lappigen Bau, der ein ähnliches Bild wie Landkarten mit eingezeichneten Isohypsen darbietet, das von dem der beobachteten „Sproßformen“ doch einigermaßen differiert. Nach Ziegler entstehen solche vornehmlich aus hyalinen Massen, die ihrerseits wieder einer Degeneration hyalin gewordenen Bindegewebes ihren Ursprung verdanken; auch solche „Vorstadien“ waren in vorliegendem Falle nicht nachweisbar. Corpora amylacea geben, allerdings nicht immer, eine typische Reaktion, sind gewöhnlich unizentrisch und kommen außer an den für sie typischen Stellen im Zentralnervensystem und der Prostata, in Entzündungsherden und bei blutigen Extravasaten, wie ich z. B. für die Lunge aus eigener Erfahrung bestätigen kann, vor, Verhältnisse, die eigentlich hier nicht vorliegen.

Die Färbbarkeit dieser Gebilde oder richtiger ihre Affinität zu den diversen uns zu Gebote stehenden Tinktionsmitteln kann wohl kaum als Argument für oder gegen ihre Hefenatur verwertet werden. Nach den Angaben Busses färbt sich ebenso mit saurem Hämatoxylin wie auch den verschiedenen Karminlösungen nur ein Teil der Hefen, während ein anderer ungefärbt bleibt, ein Befund, den ich meinen Versuchen zufolge ad verbum bestätigen muß. Das von demselben Autor angegebene spezifische Färbverfahren mit Hämalaun und Karbolfuchsin ist seiner eigenen Angabe zufolge auch kein streng elektives, da auch bei diesem einzelne Individuen, „die sich vielleicht auf einem besonderen Entwicklungsstadium befinden“, sich wie die Kerne färben. Eigentlich ist es schon a priori kaum zu erwarten, daß die Saccharomyceten in jedem Falle die gleichen Farbenreaktionen geben, da es sich ja wahrscheinlich nicht immer um Hefen derselben Art und Provenienz handeln dürfte. Abgesehen hiervon, sind alle innerhalb des tierischen Organismus befindlichen Mikroorganismen den Abwehrvorrichtungen desselben ausgesetzt, und dieses Moment spielt hier auch sicher eine gewisse Rolle. Von prinzipieller Bedeutung hierfür sind die zwar das gegenteilige Verhältnis betreffenden interessanten Untersuchungen von v. Behrings und Muchs, im Gegensatz zu diesen dürfte bei der bekannt geringen Virulenz der Hefen hier die Aktivität auf Seite des Organismus liegen und ihrerseits Färbungsunterschiede bedingen. Auch sind die bei den wenigen übrigen bekannt gewordenen ähnlichen Fällen angewandten Fixierungs- und Vorbehandlungsmethoden sicher nicht stets die gleichen

15\*

gewesen, welcher Einfluß ihnen für spätere Färbungen zukommt, ist ja allgemein bekannt.

Da für unseren Fall der kulturelle Nachweis der Pilznatur der oben beschriebenen Gebilde im Nachhinein nicht mehr zu erbringen ist, so sind wir bei der Wertung des Befundes lediglich auf seine morphologischen Charakteristica angewiesen, und der Schluß hieraus auf ihre Saccharomycetennatur erscheint insofern berechtigt, als eigentlich gar nichts anderes das gleiche Bild zu liefern vermag. Unser Befund deckt sich auch im wesentlichen mit dem, was Busse bei seinem Falle und auch auf Grund seiner Tierexperimente beschrieben hat. Hier wie dort handelt es sich um stark lichtbrechende, doppelt konturierte, rundliche Körper, die vielfach in typischen Sproßverbänden angeordnet waren und zum Teil eine Art Kapselbildung aufwiesen, welche letztere bei den Hefen nach Busse lediglich im Organismus auftritt.

Fälle von Hefenbefunden in den Nieren finden sich in der Literatur nur äußerst spärlich verzeichnet. Ernst konnte in einem Falle von Diabetes mit ascendierender Pyelonephritis bakteriologisch neben *Staphylococcus aureus* und *Bacterium coli* auch Hefen in den Nieren nachweisen, die für Kaninchen, Meerschweinchen und Maus nicht pathogen waren, sie im histologischen Präparate aufzufinden, ist ihm aber nicht geglückt.

Curtis berichtet von einem Fall, den er als allgemeine Infektion mit *Saccharomyces* anspricht, die Verifizierung dieser Diagnose durch eine Autopsie ist jedoch nicht erfolgt.

In Busses, den wissenschaftlichen Anforderungen entsprechend sichergestellten Fall von universeller Saccharomykose fanden sich Veränderungen nicht nur in den Nieren, sondern auch in ihrer Umgebung, die Rindensubstanz war zum großen Teil zerstört und in eine grauweiße dickflüssige Masse verwandelt. Außerdem fanden sich in den besser erhaltenen Teilen einzelne Abscesse, die mit weißlichen weichen Massen erfüllt waren, die an verfetteten Eiter erinnerten. In diesen Abscessen finden sich sehr reichlich Parasiten. Mikroskopische Schnitte der Grenzzone zeigen erhebliche frische Entzündung mit Schrumpfung von Kanälchen und Glomerulis. Das ganze Nierengewebe erscheint ziemlich gleichmäßig mit kleinen Rundzellen infiltriert, Riesenzellen fehlen hier ganz. Ueber das ganze Gebiet zerstreut, nach dem Erweichungsherd allmählich an Menge zunehmend, finden sich Parasiten. Bezüglich ihrer Lage innerhalb des Gewebes findet sich bei diesem Autor nur folgende Bemerkung in der Tafelerklärung: Die Hefen liegen teils im Glomerulus, teils zwischen den einzelnen gewundenen Harnkanälchen. In den Epithelien derselben kleine, hell glänzende Punkte, wahrscheinlich Zerfallsprodukte degenerierter Hefen darstellend. Auch im Text spricht er an einer Stelle davon, daß sie teils intra-, teils extracellulär im Gewebe liegen, ohne aber näher auf diese Frage einzugehen.

Walker-Montgomery beschränken sich bei ihrem obduzierten Fall auf auszugsweise Wiedergabe des Sektionsprotokolls und genauere Mitteilung des histologischen Lungenbefundes.

Genauere Angaben bezüglich der Nieren bieten uns sonst bloß Rixford-Gilchrist und Ormsby-Miller, letztere fanden eine geringe Anzahl Miliartuberkulose ähnlicher Knötchen an der Oberfläche und in der Substanz der Niere. Mikroskopisch waren ihren Angaben zufolge die Veränderungen in denselben gering und denen der Haut nur wenig ähnlich. Die Herde waren klein und enthielten eine große Anzahl



von Parasiten. Sie bestanden aus einer geringen Menge neugebildeten Bindegewebes, wenigen mehrkernigen Leukocyten und vielen kleinen Rundzellen; auch etliche Riesenzellen mit eingeschlossenen Parasiten sind in ihnen enthalten. Das Kanälchenepithel fand sich im Zustande trüber Schwellung, einzelne Glomeruli hyalin und amyloid degeneriert. Erstere geben nur an, daß die Nieren bleicher und härter als normal waren, die Kapsel adhärent und die Rinde 6 mm dick war. An anderer Stelle bemerken sie noch: „Whereas the kidneys were to all appearances healthy“.

Wenn auch die morphologischen Charaktere der Gebilde in der Niere ihre Hefenatur genügend sicherstellen, so erhebt sich nun die Frage, wie der Fall in toto zu erklären ist, ob es sich hier um einen lokalen, auf den Urogenitalapparat beschränkten Prozeß oder eine generalisierte Infektion gehandelt hat. Für erstere Auffassung sprechen die geringgradigen reaktiven Erscheinungen, die Lokalisation der Parasiten, die im Falle einer Infektion auf dem Wege des Kreislaufes eine andere sein müßte, und schließlich der akute Verlauf des Lungenprozesses, der für eine bakterielle Pneumonie spricht, pathologisch-anatomisch bot die Lunge im Falle Gilchrists ein ähnliches Bild wie bei Miliartuberkulose, im Falle Busses waren zwei größere abgekapselte Abscesse vorhanden, Befunde, die sich mit vorliegendem auch nicht decken. Was die Dauer der Erkrankung anlangt, so bestand die Affektion in den Fällen Gilchrists schon seit Jahren, auch Busse gibt seiner Meinung dahingehend Raum, daß in dem von ihm beobachteten Falle die Infektion von viel früherer Zeit als ihrem Manifestwerden her datiert. In dem vorliegenden konnte es sich dem histologischen Bilde nach höchstens um ein Frühstadium von allgemeiner Infektion, bei dem das betroffene Individuum durch eine interkurrierende Pneumonie zum Exitus gekommen, handeln, indes spricht nicht viel hierfür und es erscheint wahrscheinlicher, daß lediglich der Urogenitaltrakt von außen her infiziert worden ist.

Ueber die Art der Infektion und wo die Einbruchspforte gewesen, könnten für vorliegenden Fall selbstverständlich nur Vermutungen ausgesprochen werden, die Quelle für sie ist unschwer in dem Berufe des Betroffenen, dem Bäckergerwebe, bei dem er täglich ungezählte Male mit Hefen zu tun hatte, zu finden.

Wenngleich der hier mitgeteilte Befund zur Klärung der Frage der universellen Blastomyceteninfektion recht wenig beizutragen vermag, so glaube ich doch bei der ungeheuren Seltenheit solcher Fälle die Mitteilung des vorliegenden nicht unterlassen zu dürfen, um wenigstens neuerlich das Augenmerk der Pathologen auf diese seltene Erkrankungsform zu lenken.

#### Literatur.

- v. Behring und Much, Ueber die Beziehungen der Milzbrandbacillen zu den endothelialen Zellen im Mäusekörper und Meerschweinkörper. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. p. 2.)  
 Best, Ueber mikroskopische Eisenreaktion. (Verh. d. deutsch. pathol. Ges. 8. Tagung. Jena 1905.)  
 Buschke, Ueber Hefemykosen bei Mensch und Tieren. (Volkmannsche Vorträge. Heft 218. 1898.)  
 Busse, O., Ueber Saccharomycosis hominis. (Virchows Archiv. Bd. CXL. p. 23.)  
 — Experimentelle Untersuchungen über Saccharomycosis. (Virchows Archiv. Bd. CXLIV. — Ueber pathogene Hefen und Schimmelpilze. (Lubarsch-Ostertag,

- Ergebnisse, Bd. V. 1900. p. 377.) — Die pathogenen Sproßpilze. (Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. I. Jena 1903. p. 661.)  
 Curtis, Contribution à l'étude de la Saccharomycosis humaine. (Annales Pasteur 1896.)  
 Ernst, P., Ueber eine Nierenmykose und das gleichzeitige Vorkommen verschiedener Pilzformen bei Diabetes. (Virchows Archiv. Bd. CXXXVII. p. 486.)  
 Montgomery, A case of cutaneous Blastomykosis followed by laryngeal and systemic tuberculosis, Death, Autopsy. (Journal of cutaneous diseases. 1903.)  
 Ornesby-Miller, Report of a case of systemic blastomycosis with multiple cutaneous and subcutaneous lesions. (The journal of cutaneous diseases. 1903. No. 244.)  
 Rixford-Gilchrist, Two cases of protozoan (coccidial) infection of the skin and other organs. (The John Hopkins Hospital Reports. 1896. p. 209.)  
 Walker-Montgomery, Further report of a previously recorded case of Blastomycosis of the skin, systemic infection with Blastomyces; death; autopsy. (Journal of the American Medical Association. 1902. p. 867.)

#### Tafelerklärung.

- Fig. 1. Tubulus contortus erster Ordnung, die Epithelien stark abgeplattet, rechts über eine Hefenkolonie vorgebuchtet, im Lumen einzelne desquamirte Epithelzellen. Hämalaun-salzsaurer Alkohol-Eosin. Vergr. Reichert, Immers.  $\frac{1}{11}$ . Okul. 2.  
 Fig. 2. Zugehöriges Sammelröhrchen, die Hefen zeigen hier besonders deutlich Hüllen und Anordnung in Ketten. Hämatoxylin-salzsaurer Alkohol-Eosin. Vergr. Reichert. Immers.  $\frac{1}{12}$ . Okul. 2.

Nachdruck verboten.

## Notes de parasitologie et de technique parasitologique.

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

Par Bruno Galli-Valerio.

(Avec 3 Figures.)

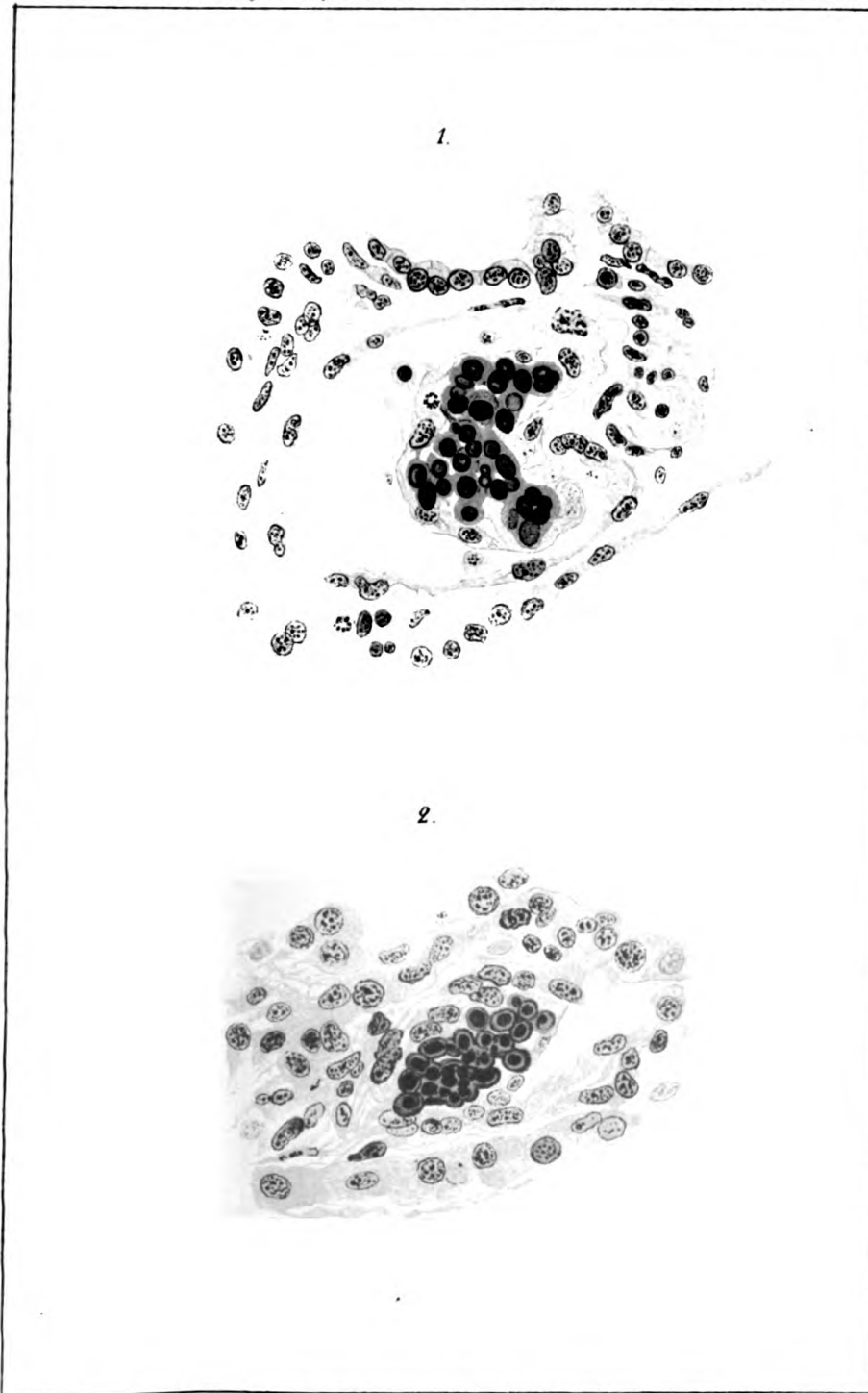
Comme dans les notes de parasitologie déjà publiées dans ce journal, j'ai réuni dans celles-ci une série d'observations de laboratoire qui me semblent pouvoir présenter quelque intérêt pour les études sur les agents parasitaires végétaux et animaux.

### A. Parasites végétaux.

1) Sur une bactérie du groupe *B. pestis* et *B. pseudotuberculosis rodentium*. Plus on s'occupe du *B. pestis* et plus on reconnaît, qu'à côté de lui prennent place des formes très analogues, qui pourraient, dans certains cas, donner lieu à des confusions. J'ai le premier attiré l'attention sur l'analogie très grande qu'il y a entre *B. pestis* et *B. pseudotuberculosis rodentium*<sup>1)</sup> et mes observations ont été complètement confirmées par Zlatogoroff<sup>2)</sup>, Klein<sup>3)</sup>, Neumann<sup>4)</sup>, Amako<sup>5)</sup>, Kister et Schmidt<sup>6)</sup> ont aussi décrit des formes très analogues à *B. pestis*.

Il y a 2 ans, j'ai reçu une culture d'une bactérie, qui avait été isolée de l'exsudat péritonéal d'un cobaye, mort à la suite d'inoculation de cultures faites avec des crachats et le contenu d'un foyer de pneumonie

- 1) Centralbl. f. Bakt. (Orig.) Bd. XXXIII. p. 321.
- 2) Centralbl. f. Bakt. (Orig.) Bd. XXXVII. p. 654.
- 3) Centralbl. f. Bakt. (Ref.) Bd. XXXII. p. 673.
- 4) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI. p. 450.
- 5) Centralbl. f. Bakt. (Ref.) Bd. XXXIV. p. 315.
- 6) Centralbl. f. Bakt. (Orig.) Bd. XXXVI. p. 454.



F. Cizek gez.

Verlag v. Gustav Fischer, Jena.

Lith. Anst. v. J. Arndt, Jena.



d'un homme décédé d'une affection, qui avait été considérée comme suspecte d'être la peste bubonique.

Cette bactérie se présentait morphologiquement comme un bâtonnet court, trapu, ovoïde, de  $\mu$  2—3, tout à fait immobile. Avec les couleurs d'anilines, il se colorait seulement aux extrémités, de sorte qu'il présentait un espace clair au milieu. Il ne se colorait pas par la méthode de Gram. Dans le bouillon on observait souvent des formes allongées en filaments, dont l'extrémité était légèrement renflée en massue, tandis que dans le lait les formes étaient très courtes, presque en coque. Sur agar de Hankin, formes involutives en coque, en poire, renflées en massue à filaments tordus, très analogues à celles de *B. pseudotuberculosis rodentium*. Cette bactérie cultivait très bien à 20° comme à 37°, en présentant les caractères suivants :

Gélatine en plaque: Colonies rondes, granuleuses, à contours nets, à centre plus opaque que la périphérie.

Gélatine par piqûre: En surface plaque blanchâtre s'étendant à toute la surface. En profondeur très léger développement.

Agar en plaque: Colonies blanc-grisâtres à contours ondulés.

Agar par piqûre: En surface plaque blanc-grisâtre, lissé, à contours ondulés, et en profondeur série de petites colonies.

Agar de Hankin incliné: Colonies grisâtres, granuleuses, à contours ondulés, parfois se réunissant entr'elles.

Pomme de terre: Couche blanc-jaunâtre luisante, sur les bords de laquelle il y a des colonies nombreuses.

Bouillon peptonisé: Trouble uniforme sans voile et avec un léger dépôt brunâtre au fond.

Lait: Fort développement avec coagulation.

Gélatine de Piorkowsky en plaque: Colonies rondes, granuleuses, irisées, non disposées en comète.

Les inoculations faites par moi avec cette bactérie à la fin de 1904 sous la peau et dans la cavité abdominale du cobaye et dans les cavités nasales du rat blanc sont restées absolument sans résultat. Déjà au début, du reste, dans les mains du médecin qui l'avait isolée, cette bactérie n'avait pas déterminé de péritonite chez le cobaye, sinon inoculée à de très fortes doses dans l'abdomen.

Cette bactérie, par ses caractères morphologiques et ceux de ses cultures se rapproche de *B. pestis* et de *B. pseudotuberculosis rodentium*. Elle diffère du premier par le fait de coaguler le lait, de donner sur agar de Hankin des formes involutives moins manifestes, de ne pas donner sur gélatine de Piorkowsky les colonies disposées en comètes, parce qu'elle n'est pas pathogène pour le rat blanc et très peu pour le cobaye. Elle diffère du second, surtout par le fait de ne pas déterminer des lésions pseudotuberculeuses chez le cobaye.

## 2) *B. dysenteriae* Shiga et *B. coli dysentericum* Celli.

En 1896<sup>1)</sup> j'ai décrit dans la dysenterie de la Valteline (Italie), une bactérie que j'ai considérée comme une variété du *B. coli dysentericum* qui venait d'être décrit par Celli<sup>2)</sup> dans la dysenterie de l'Italie du sud. Dans l'été de 1904, dans des cas de dysenterie chez des enfants à Piateda (Valteline) j'ai isolé une bactérie qui par certains caractères

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. 1896. p. 901 et Giorn. della R. Soc. It. d'Igiene. 1897. No. 2, 3, 4.

2) Ann. d'Igiene sperimentale. 1896. p. 203.

tères se rapproche de *B. coli dysentericum*, et par d'autres de *B. dysenteriae* de Shiga. Voici comparativement les caractères de la bactérie que j'ai isolé cette année et de *B. dysenteriae* de Shiga, tel que j'ai pu les constater sur une culture du laboratoire du Prof. Král de Prague.

<i>B. dysenteriae</i> Shiga.	<i>B. de Piateda.</i>
Sur agar: Bâtonnets ovoïdes ou légèrement allongés, parfois légèrement rétrécis au centre, de 2—4 $\mu$ .	Idem. Souvent très courts ovoïdes, de 2—4 $\mu$ .
Sur agar préparé avec des limaces: Beaucoup de formes allongées.	Idem.
Sur pomme de terre: Formes plus minces et plus longues que sur agar ordinaire. Beaucoup de filaments droits et sinueux, parfois renflés en massue.	Idem.
Dans le bouillon peptonisé: A côté de formes normales il y a de courts filaments.	Idem et plusieurs chainettes.
Dans le lait prédominent les formes très courtes.	Idem.
Légers mouvements sur place.	Mobilité très nette.
Pas de cils par la méthode de De Rossi.	Cils disposés à la périphérie par la méthode de De Rossi <sup>1)</sup> .
Se colore uniformément par les couleurs d'aniline.	Idem.
Ne prend pas le Gram.	Idem.
Agar par piqûre: Plaque de surface blanchâtre, à bords légèrement festonnés. En profondeur, légère ligne à bords festonnés.	Idem, mais coloration jaunâtre.
Agar incliné: Couche blanchâtre à bords festonnés et avec de petites colonies rondes sur les bords.	Idem, mais coloration jaunâtre et ensuite brunâtre.
Agar en plaque: Colonies rondes à contours légèrement ondulés, à centre opaque, d'une coloration blanchâtre.	Idem, mais légèrement brunâtre.
Sérum de bœuf gélatinisé. Couche grisâtre.	Idem.
Pomme de terre: Pas de développement bien visible.	Couche grisâtre luisante puis brunâtre.
Carotte: Idem.	Comme sur pomme de terre.
Gélatine par piqûre: Petite plaque blanchâtre à bords ondulés en surface. Léger développement en profondeur. Pas de liquéfaction.	Idem, mais jaunâtre.
Bouillon peptonisé: Trouble uniforme sans voile. Léger dépôt blanchâtre au fond.	Idem, mais léger voile en surface.
Lait: Point de coagulation.	Idem.
Réaction de l'indol négative.	Idem.
Pathogène pour le cobaye en injection péritonéale.	Idem.

Ces 2 bactéries ont été faiblement agglutinées à 1 : 50 par du vieux sérum de chien hyperimmunisé par moi en 1896 avec la bactérie que j'avais isolée de la dysenterie de Valteline.

La bactérie que j'ai isolée du cas de dysenterie de Piateda en

1) Dans mon institut, on applique pour la coloration des cils la méthode de De Rossi non modifiée, et les résultats qu'on obtient sont excellents.

1904, tout en se rapprochant par plusieurs caractères du *B. dysenteriae* de Shiga avec lequel j'ai pu la comparer, en diffère par quelques caractères (caractère des cultures — mobilité très nette). Elle diffère aussi de celle isolée par Celli et par moi en 1896 par la coloration brune des cultures et par le fait de ne pas coaguler le lait. Mais d'un autre côté, nous savons que des différences ont été signalées par ceux qui ont examiné les formes les plus typiques du *B. dysenteriae*: ainsi tandis que Shiga<sup>1)</sup> a décrit comme mobile son bacille, Kruse<sup>2)</sup> lui a nié toute mobilité et Flexner<sup>3)</sup> non seulement a constaté la mobilité, mais a pu colorer chez des bacilles isolés par lui-même, par Shiga et par Kruse des cils longs de 8—10 fois le bacille lui-même et en légère spirale à la surface du corps. Il semble donc bien que le *B. dysenteriae* présente une variabilité assez grande et qu'on doive se rattacher à l'idée de Celli<sup>4)</sup> que les formes décrites doivent se rattacher à un bacille unique variable dans ses caractères, idée à laquelle semble prêter un appui la bactérie que j'ai isolée de la dysenterie de Piateda.

Au point de vue prophylactique, il me semble utile d'attirer l'attention sur le fait, que sur des mouches capturées par moi sur des selles dysentériques provenant des malades de Piateda et déposées dans le voisinage des maisons de paysan, j'ai trouvé le même bacille. Il n'y a pas de doute que ces mouches, se posant ensuite sur des matières alimentaires, puissent servir à la dissémination de la dysenterie. Les mesures les plus énergiques doivent donc être prises même à la campagne, pour la désinfection ou la destruction des matières fécales des dysentériques.

3) Sur la morphologie de *M. tuberculosis* var. *bovis* et *M. tuberculosis* var. *hominis*.

Déjà en 1894<sup>5)</sup> j'avais attiré l'attention sur les différences morphologiques présentées par le bacille de la tuberculose de l'homme et par celui de la tuberculose des bovidés. Tout dernièrement Beck<sup>6)</sup> à complètement confirmé que les premiers sont plus courts, souvent épais, à extrémité nettement coupée, souvent en massue, tandis que les seconds sont longs et minces, souvent courbés et à extrémité effilée. Kossel, Weber et Heuss<sup>7)</sup> sont arrivés aux mêmes conclusions.

Je me suis toujours occupé de comparer, chaque fois qu'il m'a été possible de le faire, les caractères morphologiques des bacilles de Koch dans les crachats de l'homme et dans les lésions des bovidés et j'ai toujours constaté que tandis que ceux des bovidés sont plus courts, plus trapus, se colorant uniformément par la fuchsine de Ziehl, ceux de l'homme sont plus longs, beaucoup plus minces et presque toujours légèrement courbés, se colorant par places de sorte qu'ils se présentent souvent comme de véritables séries de points rouges alternés avec des espaces clairs.

Il est donc réellement à se demander, dans les cas dans lesquels on se trouve en présence de bactéries du premier type chez l'homme

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIII. p. 599 et Bd. XXIV. p. 817.

2) Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 40.

3) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXX. p. 449.

4) Leyden, Festschrift. Bd. I.

5) Zoonosi (Manuali Hoepli). Milan 1894. p. 115.

6) Festschrift zum 60. Geburtstag von R. Koch. Jena 1904.

7) Tuberkulosearbeiten aus dem kais. Gesundheitsamt. 1904. p. 1.

et du second chez les bovidés, si on n'a pas à faire à une tuberculose de l'homme d'origine bovine ou à une tuberculose des bovidés d'origine humaine. Bien que la chose soit très probable, je ne pense pas qu'on puisse l'affirmer d'une façon absolue, vu la facilité avec laquelle, dans certains cas, un type se transforme dans l'autre par inoculation sur le cobaye. J'ai en effet dernièrement inoculé 2 cobayes sous la peau, l'un avec des nodules caséux d'une vache, nodules qui contenaient des bacilles à forme typique de la var. *bovis* et un autre avec des crachats de l'homme contenant la forme typique de la var. *hominis*. Or tandis que le premier cobaye a présenté des lésions à bactériés granuleuses, le second a présenté des bactéries plutôt courtes et se colorant uniformément.

Il semble donc bien, que dans certains cas des conditions individuelles de l'animal, puissent influencer la morphologie de *M. tuberculosis* assez rapidement et un phénomène analogue pourrait peut-être se produire chez quelques personnes et chez quelques bovidés. Il ne me semble donc pas possible de conclure d'une façon absolue à l'origine humaine ou bovine d'une tuberculose, sur le simple aspect morphologique des bacilles de Koch, bien que dans la grande majorité des cas la variété humaine et bovine de *M. tuberculosis* soient morphologiquement nettement séparées.

4) Sur des amas lenticulaires de *M. tuberculosis* var. *hominis*.

Dans aucun traité de bactériologie, parmi ceux que je connais, je n'ai trouvé l'indication d'un groupement particulier de *M. tuberculosis* var. *hominis*, groupement qui donne lieu à la formation de corpuscules lenticulaires qui font penser, jusqu'à un certain point, aux amas formés par *Actinomyces bovis*. J'ai reçu deux fois de M. le Dr. Pochon, assistant à l'Institut anatomo-pathologique de l'Université de Lausanne, des corpuscules blancs, d'aspect lenticulaire, de la dimension de 2—4 mill. de diamètre, de consistance molle, corpuscules qu'il avait trouvés dans les cavernes pulmonaires de personnes mortes de tuberculose. Ces nodules qui s'écrasent très facilement, étendus sur un couvre-objet et colorés par la fuchsine de Ziehl suivie de décoloration à l'acide nitrique à  $\frac{1}{3}$ , étaient formés par d'énormes amas des bacilles de Koch présentant les caractères ordinaires. Plusieurs essais de culture directe sur sérum de bœuf glycérimé et glycosé et sur agar de Hesse, n'ont donné que dans un seul cas sur sérum, un léger développement sous forme de petites colonies blanc-jaunâtres, sèches, plissées, mais dont le repiquage n'a pas réussi.

Une inoculation sous-cutanée chez un rat blanc a déterminé une forte tuméfaction des ganglions du voisinage, et l'animal tué environ un mois après a présenté une tuberculose du système ganglionnaire avec de très abondants bacilles de Koch typiques.

Une inoculation sous-cutanée à un cobaye a aussi déterminé une forte tuméfaction des ganglions, et l'animal tué après 1 mois et  $\frac{1}{2}$  a présenté tuberculose diffuse du foie et de la rate. Ces curieux amas sont donc bien formés par des bacilles de la tuberculose vivants et virulents.

5) Sur un leptothrix en symbiose avec *M. tuberculosis* var. *hominis*.

Grâce à l'obligeance de M. le Prof. Roux, directeur de la clinique chirurgicale de l'Université de Lausanne, j'ai eu l'occasion de pratiquer



l'examen bactériologique de pus qu'il avait extrait d'un abcès rétro-pharyngien, d'un abcès au poignet gauche, de l'avant-bras, de la malléole externe droite et du genou chez un jeune homme. La recherche directe du bacille de Koch était tout à fait négative. En revanche dans les préparations colorées à la fuchsine de Ziehl et non décolorées par les acides, on remarquait par-ci par-là de courts filaments segmentés, se colorant souvent fort mal par la fuchsine.

Les cultures faites sur les différents milieux restaient absolument stériles. Seulement dans celles en bouillon peptonisé on remarquait toujours au fond un très léger dépôt, surtout visible en agitant l'éprouvette, agitation qui le faisait soulever comme en spirale. Examiné au microscope après coloration par la fuchsine, ce dépôt apparaissait formé par des formes bactériennes allongées, disposées en chaînettes, par de longs filaments enchevêtrés, disposés en fausses ramifications et souvent segmentés vers une extrémité. Ces microorganismes se coloraient fort mal par le bleu, mieux par la fuchsine, pas du tout par le Gram. Ils ne résistaient pas à la décoloration par les acides. Aucun repiquage n'a jamais réussi. L'inoculation au cobaye n'a donné aucun résultat, tandis que l'inoculation directe du pus a déterminé chez un premier cobaye une tuberculose fort limitée aux ganglions et à de petits tubercules du péritoine et par le passage sur un autre cobaye du matériel pris sur le premier, une tuberculose diffuse absolument typique. Dans les lésions des cobayes il n'y avait que des bacilles de Koch et point de formes analogues à celles que je viens de décrire, ni par l'examen direct ni par les cultures.

Nous nous trouvons donc en présence d'un cas de symbiose d'un microorganisme non pathogène avec le bacille de Koch. Quel est ce microorganisme? Les caractères morphologiques qu'il présente me portent à le considérer comme un leptothrix. Le fait d'une légère pullulation dans le bouillon et de l'impossibilité de le repiquer parle aussi pour un Leptothrix. Il doit avoir pénétré dans l'abcès rétro-pharyngien et de là il semble avoir suivi le bacille de Koch dans ses différentes localisations. Ce cas est intéressant non seulement au point de vue des phénomènes de symbiose, mais par le fait qu'il démontre toujours plus comme dans les diagnostics bactériologiques il ne faut pas se fier à une première trouvaille, mais il faut toujours faire plusieurs expériences pour vérifier si à côté d'une première forme, qu'on pouvait trouver même dans un foyer complètement fermé, il n'y en a pas une autre qui est vraiment pathogène.

6) Sur la présence de Blastomycètes dans un cas de molluscum contagiosum.

L'étiologie du molluscum contagiosum est toujours à l'ordre du jour. Depuis 1865, époque à laquelle Virchow avait trouvé une certaine analogie entre les corpuscules du molluscum et les coccidies des lapins, de nombreuses recherches faites soit sur cette affection, soit sur une forme très analogue, l'épithélioma contagiosum des poules et des pigeons, ont tour à tour admis ou nié la nature parasitaire du molluscum, mais même parmi ceux qui ont considéré cette affection comme de nature parasitaire il y en a eu qui ont nié tout caractère de parasite aux corpuscules du molluscum, tout en décrivant à côté de celui-ci d'autres corpuscules qu'ils ont considérés comme des protozoaires. Ainsi Piana et moi<sup>1)</sup>

1) *Moderno zooiatro* 1892. — Galli-Valerio: *Le néoformazioni nodulari*. Parma 1897.

dans une étude comparative sur épithélioma et molluscum contagiosum nous avons considéré les corpuscules décrits par Virchow, comme des cellules dégénérées nous rattachant complètement à l'opinion déjà exprimée par Bizzozero et Manfredi<sup>1)</sup> dans leur intéressante étude sur l'origine et la nature de molluscum contagiosum. Mais soit dans l'épithélioma soit dans le molluscum nous trouvâmes des corpuscules de  $\mu$  2—6 présentant des mouvements amiboïdes dans le premier, sans mouvement dans le second et que nous considérâmes comme des protozoaires. A son tour Sanfelice<sup>2)</sup> a observé et cultivé dans l'épithélioma contagiosum des pigeons un blastomycète qu'il a considéré comme l'agent spécifique de la maladie. Tout dernièrement enfin Marx et Stricker<sup>3)</sup> ayant filtré sur bougie Berkefeld une bouillie faite en écrasant des nodules de l'épithélioma contagiosum des poules dans la solution physiologique de NaCl, ont pu par l'inoculation du liquide filtré, qui était stérile, reproduire la maladie parmi les poules. Insistant sur ce fait, ils considèrent l'agent de l'épithélioma contagiosum comme très petit et capable de passer à travers les filtres. Mais comme observe justement Juliusberg<sup>4)</sup>, qui a obtenu le même résultat avec l'épithélioma contagiosum des pigeons, le temps d'incubation est plus long si on inocule du virus filtré, chose qui laisse penser qu'à travers le filtre ne passent que des jeunes éléments qui ont besoin de subir un développement avant d'agir.

Le 6 novembre 1903, j'ai reçu de la clinique dermatologique de l'Université de Lausanne, dirigée par M. le Prof. Dind, quelques nodules de molluscum contagiosum ayant été extirpés chez une femme dont le front était parsemé d'un grand nombre de nodules. Ces nodules, soit à l'examen macroscopique, soit à l'examen microscopique présentaient les caractères de nodules de molluscum contagiosum.

A l'examen microscopique à frais de ces nodules, dans une solution physiologique de NaCl, j'ai remarqué les faits suivants: Cellules ovoïdes, granuleuses, en dégénérescence correspondant aux corpuscules du molluscum de Virchow. Entre ces cellules il y avait un grand nombre de petits corpuscules ronds ou ovoïdes de 2,5—3  $\mu$ , à double contour très net à tache sombre centrale présentant de légers mouvements d'oscillation mais point de mouvements amiboïdes. Quelques-uns de ces corpuscules présentaient un bourgeon à leur périphérie de telle sorte qu'ils prenaient l'aspect en gourde. Les caractères de ces corpuscules ne laissaient pas de doutes: il s'agissait de cellules de blastomycètes. Traités par le bleu au thymol, ils se coloraient assez bien en azur, la capsule et le noyau se colorant beaucoup plus que le protoplasma. Par-ci par-là ils se trouvaient inclus dans de grandes cellules dégénérées et alors, après coloration ils apparaissaient comme entourés par une auréole plus claire: Dans les coupes colorées par le bleu au thymol, il y avait les mêmes formes rondes, ovoïdes pourvues de petits bourgeons, les unes uniformément colorées en bleu, avec un contour plus sombre; d'autres présentant nettement un ou deux noyaux faiblement colorés par le bleu. Ils étaient en grande partie extra-cellulaires mais plusieurs étaient à l'intérieur de cellules dégénérées.

1) Archivio per le scienze mediche. 1876. p. 1.

2) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXVI. 1897. p. 298.

3) Deutsche med. Wochenschr. 1902. p. 893 und 1903. p. 49. (Résumés dans Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. XXXIII. p. 13 et Revue vétérinaire. 1903. p. 158.)

4) Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 23.

Des essais de culture sur carotte et agar, liquide de Raulin sont restés sans résultat.

L'inoculation par frottage des nodules de molluscum au lapin, cobaye et poule est restée négative.

Les blastomycètes que je viens de décrire, présentent la plus grande analogie avec ceux qui ont été vus par Löwenbach et Oppenheim dans un cas de blastomycose chez l'homme<sup>1)</sup>.

Ont-ils joué le rôle d'agent spécifique dans le molluscum contagiosum? Il me semble impossible de répondre d'une façon affirmative à cette question. Ce n'est qu'en songeant au rôle important que les blastomycètes jouent dans certaines infections et dans les maladies de la peau qu'il faut se demander si le molluscum contagiosum ne serait pas réellement sous la dépendance de ces blastomycètes.

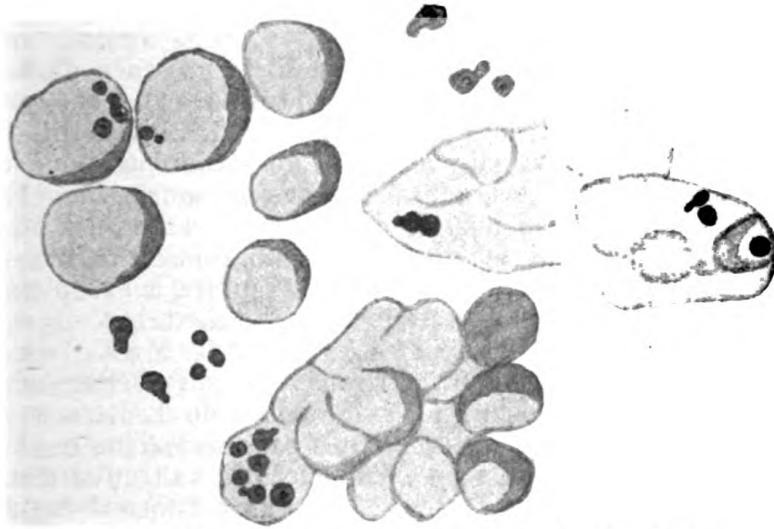


Fig. 1. Oc. 4, Ob. im. hom., tube 17, chambre claire.

Des observations ultérieures surtout si elles étaient appuyées par des cultures pourraient résoudre la question. Pour le moment, j'ai seulement désiré attirer l'attention sur le fait qu'il existe des blastomycètes dans des cas de molluscum contagiosum comme en ont trouvé Sanfelice et Juliusberg dans l'épithélioma contagiosum des pigeons.

### B. Parasites animaux.

1) *Achromaticus vesperuginis*. Dionisi chez *Vesperugo noctula* en Valteline (Italie).

En 1899 Dionisi<sup>2)</sup> a décrit chez les chauves-souris, à Rome, des Hémospories très analogues à celles de la malaria de l'homme et précisément:

*Polychromophilus melanipherus*. Dionisi chez *Miniopterus Schreibersi*, très analogue à *H. vivax* de l'homme,

*P. murinus*. Dionisi chez *Vespertilio murinus*, très analogue à *H. malariae* de l'homme,

1) Archiv für Dermatologie und Syphilis. Bd. LXIX. 1904. p. 121.

2) Annali d'igiene sperimentale. Vol. IX. 1899. p. 377.

*Achromaticus vesperuginis*. Dionisi chez *Vesperugo noctula*, très analogue à *H. praecox* de l'homme.

A ma connaissance, personne ne s'est plus occupé depuis lors des hémospories des chauve-souris. Au mois de septembre 1904, j'ai eu l'occasion d'examiner à Sondrio (Valtelline, Italie) quelques exemplaires de *Vesperugo noctula*. Chez un de ceux-ci, j'ai trouvé dans le sang quelques hémospories occupant  $\frac{1}{4}$  à  $\frac{1}{3}$  d'une hématie, dépourvues de pigment, dont les formes au repos présentaient un aspect rond ou ovoïde ou en anneau, tandis que les formes en mouvement apparaissaient comme de petites amibes, qui poussaient et retiraient rapidement des pseudopodes de sorte qu'elles présentaient successivement les aspects les plus variés. Ces parasites qui se rapprochaient beaucoup de l'*H. praecox* de l'homme, doivent certainement être rattachés à *A. vesperuginis* Dionisi.

2) Présence de *Trypanosoma Lewisi-Kent* chez *Mus rattus* à Lausanne.

Dans un travail précédent<sup>1)</sup>, j'ai signalé la présence d'un trypanosome chez un *Myoxus avellanarius* capturé dans le canton de Vaud, trypanosome qui a reçu le nom de *T. myoxi*, R. Blanchard.

Depuis 1898, j'ai aussi fait beaucoup de recherches pour constater la présence de trypanosomes dans le sang de souris blanches, chez *Mus musculus*, des rats blancs, de *Mus decumanus* et de *Mus rattus*. Les résultats ont toujours été négatifs jusqu'au 9 mars 1905, date à laquelle j'ai trouvé un *Mus rattus* capturé à l'Hôpital de Lausanne, dont le sang était rempli de *T. Lewisi-Kent*<sup>2)</sup>.

C'est donc un exemplaire infecté sur 200 *Mus decumanus* et *Mus rattus* de Lausanne et environs que j'ai eu l'occasion d'examiner. Nous savons du reste que la fréquence de *T. Lewisi* est très variable non seulement dans les différents pays mais dans les différentes villes. Ainsi par rapport à l'Europe, à Londres on l'a trouvé dans le 25 % des rats examinés; à Paris 3 fois sur 50 rats; à Alfort il est fréquent; à Lille chez la moitié des rats examinés; à Krommenie (Hollande) dans le 90 % des rats; à Berlin dans le 41,8 %; fréquent dans le sud de la Russie; à Bordeaux dans 15 sur 15 rats examinés; rare à St. Pétersbourg; en Italie, Grassi l'a recherché en vain à Rovellasca et moi je ne l'ai jamais trouvé sur plusieurs *Mus decumanus* examinés en Valtelline<sup>3)</sup>. Il serait vivement à recommander de multiplier les recherches de *T. Lewisi* en Europe, pour établir si sa grande fréquence dans certaines villes ne serait pas en relation avec une importation par les navires de rats infectés des pays chauds et si dans certains cas il ne s'agit que d'une fréquence ou d'une rareté en relation avec la partie d'une ville ou la maison où les rats examinés ont été capturés.

Mon observation de *T. Lewisi* est la première fait en Suisse. La coloration de ce trypanosome a réussi avec le Romanowsky, le Giemsa, le violet de gentiane, la fuchsine, le bleu de méthylène. J'ai obtenu une belle coloration des préparations avec la solution de v. Wahl<sup>4)</sup> qui colore en vert les hématies, en azur les globules blancs et les trypanosomes. Contrairement à ce que j'ai remarqué avec *T. Brucei*, le trypanosome que j'ai trouvé fixait très lentement et faiblement les couleurs d'aniline. J'ai pu le garder vivant pendant 2 jours dans une

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. 1903. p. 81.

2) Communic. à la Soc. vaud. des Sc. nat. 15 mars 1905.

3) Laveran et Mesnil, Trypanosomes et Trypanosomiasis. Paris 1904.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 239.

solution de 100 g d'eau distillée, 0,5 g de NaCl et 0,5 g de citrate de potasse.

Des inoculations faites sous la peau d'un lapin, d'un cobaye et de 3 rats blancs, ainsi que des inoculations dans le péritoine d'un cobaye et de 2 rats blancs ont été tout à fait négatives.

3) Sur un *Bothriocephalus latus*. Brems à chaîne double.

Parmi les monstruositéés présentées par *B. latus*. Brems, on n'a jamais signalé le cas d'exemplaires présentant une tête unique suivie de deux chaînes.

L'exemplaire que j'ai examinée et qui est conservé dans la collection de mon institut, a été trouvé par M. le Dr. Pochon, premier assistant à l'Institut anatomo-pathologique de Lausanne, dans l'intestin d'un homme âgé de 40 ans et mort de tuberculose.

Tel que je l'ai reçu, cet exemplaire était un peu ratatiné par la formaline. La tête longue d'environ 2 mill. présentait les caractères ordinaires. Elle était suivie par une chaîne unique longue de 15 cent., large de 1—2 mill. à la partie antérieure et de 3 mill. à la partie moyenne et de 7 mill. à 1 cent. à la partie postérieure. A 6 cent. de la tête commençait à se montrer au centre des anneaux, une petite tache sombre. Vers l'extrémité de cette partie de la chaîne on voyait la tache sombre du centre des anneaux se dédoubler et présenter l'aspect de deux points noirâtres nettement séparés l'un de l'autre. A 15 cent. de la tête se détachaient du dernier anneau, deux chaînes complètement indépendantes l'une large de 9 mill., longue de 65 cent., l'autre large de 1 cent., longue de 60 cent. Les deux chaînes se terminaient chacune par un anneau arrondi postérieurement.

A l'examen microscopique, on remarquait que les 2 taches noirâtres dans les derniers anneaux de la partie unique de la chaîne étaient dues au dédoublement des organes génitaux. Quant aux anneaux des deux chaînes séparées, ils semblaient absolument normaux, avec organes génitaux simples et contenant des œufs bien développés. Le fait du dédoublement des organes génitaux a été assez souvent noté chez *B. latus*. Dans le cas en question, la monstruosité a été plus loin, jusqu'à la séparation complète des anneaux, donnant ainsi lieu à la formation d'une double chaîne.

En 1903, Boas a décrit sous la dénomination de *Triplotaenia mirabilis*<sup>1)</sup> un taenia trouvé chez un kaugourou (*Petrogale pennicillata*?) essentiellement caractérisé par un skolex suivi de deux chaînes. v. Janicky<sup>2)</sup> se demande s'il s'agit d'une espèce ou d'une monstruosité et il croit cette dernière hypothèse plus probable. La monstruosité que je viens de constater chez *B. latus* me semble appuyer l'opinion de v. Janicky.

4) Oeufs de *Dicrocoelium lanceolatum*. Stil. et Hass dans les fèces de l'homme.

Suivant Braun<sup>3)</sup> la présence de *D. lanceolatum* chez l'homme a été signalée 7 fois en Allemagne, Bohême, Italie et France, mais il pense qu'il est peut-être plus fréquent, car il échappe par le fait de ne pas déterminer de symptômes. Au cours de mes recherches sur la présence d'œufs d'Helminthes dans les matières fécales de l'homme, matières

1) Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XVII. 1903. p. 329.

2) Zool. Anzeiger. Bd. XXVII. 1904. p. 243.

3) Die tierischen Parasiten des Menschen. 3. Aufl. Würzburg 1903.

fécales déposées le long des chemins, j'ai examiné 365 matières fécales et une seule fois dans des matières fécales trouvées à Villeneuve (canton de Vaud) le 3 fév. 1905; j'ai trouvé de nombreux œufs de *D. lanceolatum* associés avec des œufs de *T. trichiurus*.

Ils présentaient une coloration jaunâtre et des dimensions de  $38-40 \times 22-25 \mu$ .

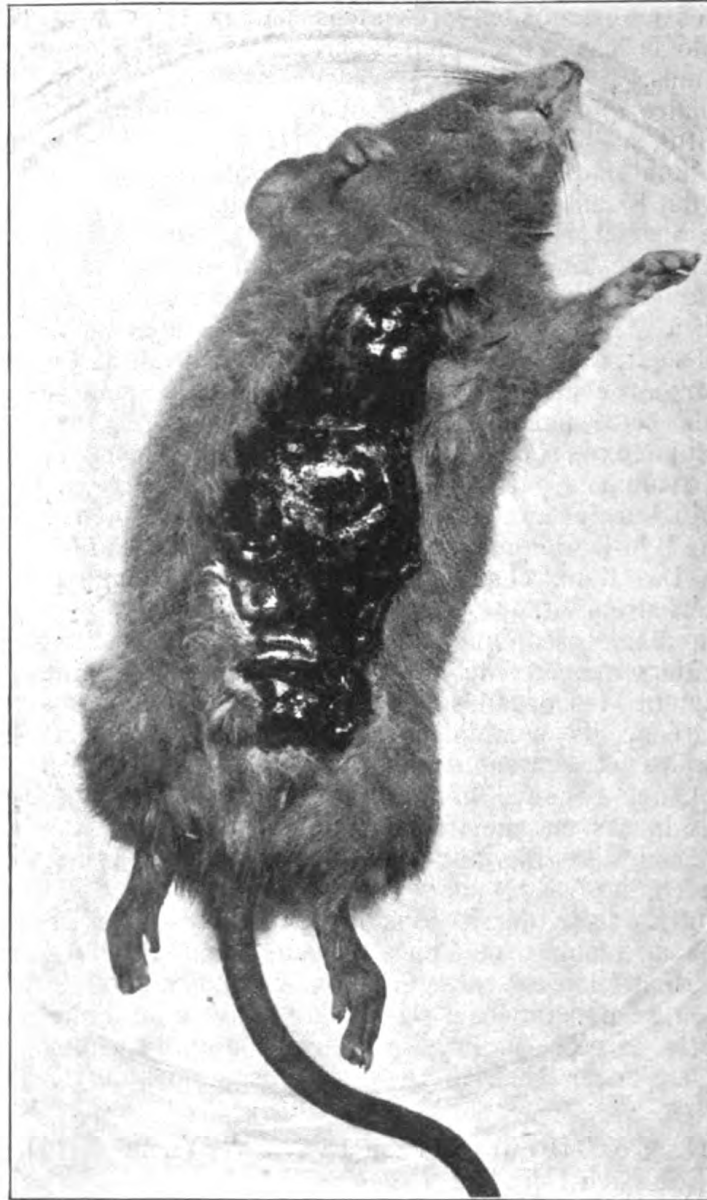


Fig. 2.

5) Lésions à *Trichosoma hepaticum*. Bancr. chez *Mus rattus*.

Dans un précédent travail<sup>1)</sup> j'ai décrit des lésions du foie déterminées chez deux *Mus decumanus* de Lausanne par *T. hepaticum*.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. Orig. p. 81.

Je viens maintenant d'observer 4 cas chez *Mus rattus* capturés à l'hôpital de Lausanne. Sur environ 200 *Mus decumanus* et *Mus rattus* examinés par moi à Lausanne et environs, j'ai donc constaté 6 fois la présence de ces intéressantes lésions. Dans les quatre derniers cas observés, les lésions étaient plus récentes, le foie se présentait parsemé d'une série de petites taches blanches grosses comme un pointe ou tête d'épingle, simulant tout à fait une pseudotuberculose (fig. 2). Sur les coupes, les lésions étaient identiques à celles que j'ai décrites chez *Mus decumanus*; mais en plus j'ai pu trouver cette fois, dans les petits canaux biliaires, des fragments du ver lui-même.

Des œufs de *T. hepaticum* pris le 30 avril 1900 sur un *Mus decumanus* et placés de suite dans l'eau, examinées le 2 nov. 1904 présentaient un embryon très bien développé. Donnés à manger à un rat blanc le même jour, ils ont pu s'y développer, de sorte que l'animal autopsié le 9 mars 1905 présentait des lésions du foie analogues à celles remarquées spontanément chez *Mus decumanus* et *Mus rattus*, mais moins accentuées.

6) Sur la pénétration des larves d'*Uncinaria duodenalis*. Dubini, à travers la peau.

La pénétration de larves d'*U. duodenalis* à travers la peau a été soutenue pour la première fois par Looss<sup>1)</sup> qui l'a appuyée par des recherches successives<sup>2)</sup>. Les expériences de Looss, confirmées par celles de Schaudinn<sup>3)</sup>, de Lambinet<sup>4)</sup>, de Hermann<sup>5)</sup>, Calmette<sup>6)</sup>, Smith<sup>7)</sup> ne l'ont pas été par celles de Pieri<sup>8)</sup> et Boycott et Haldane<sup>9)</sup>. Il n'était pas sans intérêt de faire quelques nouvelles recherches à ce sujet. Deux expériences ont été faites sur moi-même et 3 sur un cobaye, ces dernières dans le but de constater si les larves tendent à pénétrer à travers la peau de cet animal comme Van Durme<sup>10)</sup> l'a constaté pour les larves de *Strongyloides intestinalis*. Le 1 nov. 1904 j'ai placé sur mon bras gauche quelques centaines de larves encapsulées d'*U. duodenalis*. Je les ai gardées toute la nuit à l'aide d'un bandage humide. Au point d'application je n'ai remarqué qu'une légère rougeur. Jusqu'à maintenant je n'ai aucun trouble et je n'ai point éliminé d'œufs d'*uncinaria*.

Le 18 décembre j'ai répété la même expérience avec quelques centaines de larves encapsulées placées encore sur le bras gauche et le résultat a été identique<sup>11)</sup>.

Trois fois j'ai placé sur la peau du ventre d'un cobaye, des centaines de larves d'*U. duodenalis* encapsulées, dans de l'eau et je les ai laissées jusqu'à dessiccation des gouttelettes d'eau dans lesquelles elles étaient contenues. J'ai alors excisé plusieurs fragments de peau pour des examens

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIV. 1898. p. 483.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXIX. p. 733. Bd. XXXIII. p. 330. Bd. XXXV. p. 602.

3) Deutsche med. Wochenschr. 1904. 18. Sept.

4) Deutsche med. Wochenschr. 1904. p. 1848.

5) Sem. méd. 1905. p. 57 et 162.

6) Sem. méd. 1905. p. 140.

7) Ref. im Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI. p. 147.

8) Rend. ac. dei Lincei. Vol. XI. p. 217 e Vol. XII. p. 393.

9) Journal of Hygiene. Vol. IV. p. 73.

10) Thompson Yate Laboratory Reports, Liverpool. 1902. p. 471.

11) On moment de la révision des épreuves (20 juin 1905) la résultat est toujours négatif.

directs et des coupes. Dans un seul cas j'ai trouvé dans un fragment de peau une larve dont la tête était dans l'ouverture d'un follicule des poils. Dans les coupes je n'en ai point trouvé. L'animal sacrifié après quelques mois n'a point présenté d'ankylostomes dans l'intestin. Mes expériences ont donc donné des résultats tout à fait négatifs, tout en ayant démontré sur le cobaye la possibilité que les larves cherchent à pénétrer dans les follicules des poils. Je me garderai donc de considérer mes expériences comme contraires à l'affirmation de Looss. Des expériences positives bien faites, et à ce point de vue celles de Schaudinn surtout semblent ne laisser aucun doute, tandis que celles de Lambinet et Calmette s'éloignent tout à fait de l'infection cutanée admise par Looss, ont bien plus de valeur que des expériences négatives. Si mes expériences ont une certaine valeur, c'est qu'elles ont été faites dans un pays (Lausanne) où l'uncinariose n'existe pas et où on n'observe que de rares cas importés, par conséquent absolument à l'abri de toute possibilité d'infection accidentelle par une autre voie que celle par laquelle on expérimente.

7) Essai d'infection des grenouilles avec les larves d'*Uncinaria duodenalis*. Dubini.

Au cours de mes recherches, j'ai essayé s'il était possible d'infecter des grenouilles (*Rana esculenta* et *Rana temporaria*) avec des larves d'*U. duodenalis*. En donnant de ces larves (13 fév. 05) par la voie digestive dans aucun cas je n'ai pu obtenir un développement et les larves ont disparu (24 fév. 05). Chez une grenouille que j'avais inoculé dans l'abdomen avec des larves d'*U. duodenalis*, j'ai trouvé 2 jours après les larves très bien conservées mais mortes, renfermées dans des flocons d'exsudat de la cavité péritonéale.

8) Sur le rôle des mouches dans la dissémination des œufs et des larves d'*U. duodenalis* Dubini.

Les mouches jouent-elles un rôle dans la dissémination d'*U. duodenalis*? A priori la chose n'est pas douteuse, vu que les mouches peuvent transporter des œufs d'helminthes et les déposer sur les matières alimentaires.

Pour pratiquer l'expérience j'ai placé dans une boîte vitrée de nombreuses mouches avec des matières fécales remplies de larves et d'œufs d'*U. duodenalis*. En lavant ces mouches dans de l'eau, j'ai trouvé plusieurs larves vivantes et œufs encapsulés qui adhéraient à leur corps tandis que dans leur appareil digestif je n'en ai pas trouvé.

Il n'y a donc aucun doute que les mouches, se posant sur les matières fécales contenant des larves et des œufs d'*U. duodenalis*, peuvent les transporter à distance et, en déposant les larves sur les matières alimentaires, peuvent provoquer l'infection de l'homme.

9) Sur la résistance des œufs et des larves d'*U. duodenalis*. Dubini.

La résistance des œufs et des larves d'*U. duodenalis* aux causes de destruction est très grande. Dans un flacon dans lequel j'avais placé des fèces avec des œufs d'*U. duodenalis* le 16 février 1904 j'ai trouvé des larves encapsulées et vivantes le 21 mars 1905. Ces fèces étaient maintenues à l'état de pâté légèrement humide, et les larves se trouvaient exclusivement à la surface. Des fèces des séchées dans un verre de montre le matin du 17 fév. 1905 à 22° ensemencées sur plaque d'agar à 5 h. après-midi, n'ont pas donné d'éclosion, mais des larves encapsulées



Résultate de l'examen.

Date de l'ensemencement	Plaques	8 févr. 1905	10 févr. 1905	13 févr. 1905	15 févr. 1905	17 févr. 1905	20 févr. 1905	28 févr. 1905	10 mars 1905
16 févr. 1905	1. Contrôle	Oeufs embryonnés, plusieurs embryons libres	Innombrables larves très mobiles	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem
	2. Contrôle	"	"	"	"	"	"	"	"
	3. Contrôle	"	"	"	"	"	"	"	"
	4. Bisulfate de soude 2‰	Oeufs segmentés; point d'embryons libres	Oeufs ségmentés. Beaucoup de larves très mobiles	Idem	Idem	Idem	Oeufs dégénérés, larves immobiles	Idem	Idem
	5. Saprol	Oeufs segmentés ou dégénérés	Majorité des œufs dégénérés. Plusieurs en segmentation, rares les embryonnés. Rares embryons libres en majorité immobiles	Oeufs dégénérés, larves immobiles	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem
	6. Saprol	"	"	Idem, mais quelques rares larves mobiles	"	"	"	"	"
13 févr. 1905	Plaques	15 févr. 1905	17 févr. 1905	20 févr. 1905	28 févr. 1905	10 mars 1905	10 mars 1905	10 mars 1905	10 mars 1905
	1. Contrôle	Beaucoup de larves mobiles	Très nombreuses larves mobiles	Idem	Idem	Larves encapsulées mobiles	Larves encapsulées mobiles	Larves encapsulées mobiles	Larves encapsulées mobiles
	2. Saprol	Rares larves mobiles	La plus grande partie des œufs en dégénérescence granuleuse. Très rares larves mobiles	Idem	Idem	Idem. Les rares larves vivantes sont peu développées	Idem	Idem	Idem
	3. Saprol	"	"	"	"	"	"	"	"
	4. Pétrole	"	"	"	"	"	"	"	"
	5. Pétrole	"	"	"	"	"	"	"	"
17 févr. 1905	Plaques	20 févr. 1905	20 févr. 1905	10 mars 1905	10 mars 1905	21 mars 1905	21 mars 1905	21 mars 1905	21 mars 1905
	1. Contrôle	Beaucoup de larves mobiles	Idem	Larves nombreuses encapsulées	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem
	2. Contrôle	"	"	"	"	"	"	"	"
	3. Contrôle	"	"	"	"	"	"	"	"
	4. Saprol	Quelques larves mobiles	Beaucoup d'œufs dégénérés. Majorité des larves immobiles	Oeufs et larves dégénérés. Rares les larves vivantes	Oeufs et larves dégénérés. Rares les larves vivantes	Idem. Quelques rares larves encapsulées peu mobiles	Idem.	Idem.	Idem.
	5. Saprol	"	"	"	"	"	"	"	"
	6. Pétrole	"	"	"	"	"	"	"	"
	7. Pétrole	"	"	"	"	"	"	"	"
23 févr. 1905	Plaques	2 mars 1905 (6 <sup>h</sup> soir)	6 mars 1905soir (5 <sup>h</sup> )	10 mars 1905	10 mars 1905	21 mars 1905	21 mars 1905	21 mars 1905	21 mars 1905
6 <sup>h</sup> soir	1. Contrôle	Beaucoup d'œufs embryonnés et de larves mobiles	Nombreuses larves mobiles	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem
	2. Saprol	Plusieurs œufs en segmentation et embryonnés	Plusieurs œufs en segmentation. Quelques œufs embryonnés. Point d'embryons libres	Beaucoup d'œufs généralement dégénérés. Quelques œufs segmentés ou embryonnés	Beaucoup d'œufs généralement dégénérés. Quelques œufs segmentés ou embryonnés	Oeufs dégénérés; quelques embryons mobiles.	Oeufs dégénérés; quelques embryons mobiles.	Oeufs dégénérés; quelques embryons mobiles.	Oeufs dégénérés; quelques embryons mobiles.
	3. Pétrole	Plusieurs œufs embryonnés. Un seul embryon libre dans une préparation	Idem	Idem, plus quelques embryons mobiles	Idem, plus quelques embryons mobiles	"	"	"	"

16\*

desséchées et placées ensuite dans l'eau ont repris leurs mouvements au maximum 24 heures après la dessiccation.

Sur la platine chauffante les larves non encapsulées meurent rapidement à une température de 40° tandis que les larves encapsulées résistent à 50° quelques instants. Des larves à peine écloses placées sur la platine chauffante à 20°—22° dans une solution de bisulfate de soude à 2‰ succombent en 2 minutes à 1/4 d'heure; mais plus elles sont développées et surtout lorsqu'elles sont encapsulées elles peuvent résister 1/2—1 heure; et même il y en a qui ne sont pas influencées<sup>1)</sup>. Dans les mêmes conditions placées dans une goutte de pétrole ou de saprol, les larves ont cessé tout mouvement dans des périodes variant entre 5'—40'. J'ai fait quelques recherches pour constater l'influence, que la mélange des fèces riches en œufs d'*U. duodenalis* avec bisulfate de soude à 2‰, saprol et pétrole peuvent avoir sur le développement du parasite. Dans ce but, une petite quantité de matières fécales riches en œufs était intimement mélangée avec quelques gouttes de la solution de bisulfate de soude 2‰, de saprol ou de pétrole et ensemencée immédiatement, avec une plaque de contrôle, sur l'agar de Nissle et W ag e n e r placé à 21°—22°. Les résultats peuvent être résumés dans la tablelle précédente (p. 243).

Dans une autre expérience, j'ai pris des larves encapsulées développées sur des plaques d'agar, je les ai portées en partie sur une plaque d'agar comme contrôle, en partie sur d'autres plaques d'agar après les avoir mélangées avec quelques gouttes d'une solution de bisulfate de soude 2‰, de saprol et de pétrole. Les résultats obtenus sont les suivants:

1<sup>re</sup> Série.

10 mars 1905 6 <sup>h</sup> soir		10 mars 1905 (4 <sup>1/2</sup> h soir)	13 mars 1905 (4 <sup>h</sup> soir)
1. Contrôle		Larves très mobiles	Idem
2. Bisulfate de soude 2‰		Larves mobiles	Larves immobiles
3. Saprol		" "	" "
4. Pétrole		" "	" "

2<sup>e</sup> Série.

10 mars 1905 matin		10 mars 1905 (4 <sup>1/2</sup> h soir)	13 mars 1905 (4 <sup>h</sup> soir)	21 mars 1905
1. Contrôle		Larves très mobiles	Idem	Idem
2. Bisulfate de soude 2‰		Larves mobiles	Idem	Idem
3. Saprol		" "	Plusieurs larves sont immobiles	Larves immobiles
4. Pétrole		" "	" "	" "

Si nous considérons les résultats sus-indiqués, nous constatons que tandis que le bisulfate de soude 2‰ exerce une certaine action sensible sur les embryons, très faible et même dans plusieurs cas nulle sur les larves encapsulées, n'empêche pas l'éclosion des œufs; le pétrole et le saprol, tout en ne représentant pas un moyen absolu de destruction des larves, agissent surtout en empêchant le développement d'une bonne partie des œufs qui deviennent granuleux, et dégénèrent. Une fois que ceux-ci ont éclos, et l'éclosion a souvent lieu en retard sur les contrôles, la plus grande partie des larves succombe ou subit un retard dans son développement. Si elles arrivent à s'encapsuler, elles peuvent alors vivre, même en présence du pétrole ou du saprol. Que saprol et pétrole

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. 1903. p. 82.

puissent jouer un rôle important pour empêcher le développement des œufs s'explique surtout par le fait que les œufs d'ankylostome ont besoin de beaucoup d'air pour se développer, de sorte que même sous une couche épaisse d'eau, ou au milieu des matières fécales en grosses masses ils ne se développent pas et dégénèrent. Il est important de noter qu'il est à recommander dans les expériences sus-indiquées plus que la quantité, de bien mélanger le pétrole et le saprol avec les matières fécales car s'il reste une partie non en contact avec ces substances, les œufs s'y développent très bien. Le saprol qui est doué aussi d'un pouvoir désodorisant, pourrait être employé avec avantage comme moyen de désinfection des tinettes recevant les matières fécales des ankylostomateux et à ce point de vue il est vivement à recommander, comme Bruns l'a déjà fait<sup>1)</sup>; mais je le répète, la méthode n'offre pas de sécurité absolue.

### C. Technique parasitologique.

#### 1. Sur une méthode de coloration d'*Actinomyces bovis*.

Parmi les procédés proposés pour colorer *Actinomyces bovis* dans le pus, aucun de ceux ordinairement indiqués ne donne des résultats bien brillants, de sorte qu'il reste toujours préférable de garder les préparations en glycérine non colorées. Et pourtant il existe une méthode de coloration fort pratique et très jolie, qui a échappé à presque tous les bactériologistes, et qui a été indiquée en 1892 par Lemièrre et Bécue<sup>2)</sup>.

Voici comment la coloration doit se pratiquer suivant ces observateurs: On dépose un peu de pus sur la lamelle, ou lave abondamment à l'éther, puis on laisse le pus baigner quelque temps dans une solution concentrée de potasse ou de soude caustique préparée récemment. On remplace ensuite la potasse par une solution aqueuse d'éosine 5 %, qu'on laisse agir 10—15 minutes; puis on lave la préparation avec une solution concentrée d'acétate de soude ou de potasse, on monte dans la même solution et on lute à la paraffine. Ces observateurs ont gardé leurs préparations jusqu'à 6 mois.

En 1894 j'ai expérimenté cette méthode<sup>3)</sup>, à laquelle j'ai apporté une modification, c'est-à-dire qu'au lieu de garder la préparation dans la solution même d'acétate de soude, procédé qui empêche de la garder longtemps, j'ai appliqué la conservation dans le baume du Canada.

Voici comment j'applique depuis 1894 cette méthode de coloration: J'étends les pus à actinomyces sur un porte-objet ou sur un couvre-objet. Je sèche légèrement à la flamme d'un bec de Bunsen. Je laisse tomber sur la préparation une goutte d'éther que je laisse agir quelques secondes, puis j'y laisse tomber quelques gouttes d'une solution de potasse caustique 10—20 % que je laisse aussi en place quelques secondes.

Je lave alors longuement à l'eau et j'y ajoute une solution aqueuse d'éosine 5 % pendant 10—15 minutes. Je lave alors dans une solution concentrée d'acétate de soude jusqu'à ce que j'obtienne une faible coloration rose. J'enlève alors l'acétate de soude par un lavage à l'eau. Je sèche à la flamme et j'ajoute une goutte de baume dissous dans le xylol. On obtient de la sorte filaments et massues très bien colorés en

1) Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 73.

2) Guermontprez et Bécue: Actinomyose. p. 15. Paris (sans date).

3) Mod. Zooliatro. 1894. No. 22.

rose plus ou moins foncé, se détachant très bien sur le champ incolore ou faiblement coloré en rose. Des préparations faites de cette manière, se gardent pendant des années. J'ai des préparations qui datent de 1894 et où les rosettes, les filaments et les massues sont encore parfaitement colorés.

Cette méthode offre le grand avantage de permettre de déceler dans du pus la présence de massues isolées par-ci par-là. C'est grâce à elle en effet, que j'ai pu retrouver des massues dans du pus actinomycosique contenu dans des lésions d'ostéosarcome de la mâchoire d'un bœuf, mâchoire qui avait été ensevelie pendant 6 mois.

C'est donc une méthode qui mérite de trouver place dans tous les manuels de bactériologie, et qui est au contraire bien à tort complètement inconnue.

## 2. Sur la culture des larves d'*Uncinaria duodenalis*. Dubini.

Parmi les procédés proposés pour cultiver les larves d'*U. duodenalis*, celui qui m'a donné les meilleurs résultats et qui me semble vraiment à recommander aussi au point de vue de sa simplicité c'est celui proposé par Nissle et Wagener, qui consiste à étendre les fèces délayées dans l'eau à la surface de plaques d'agar 1 %<sup>1)</sup>. Dans ce but j'emploie des plaques de Pétri de 4 cm. de diamètre dans lesquelles je coule et laisse solidifier de l'agar. Pour l'ensemencement, au lieu du pinceau proposé par Nissle et Wagener j'emploie un fil de fer coudé à angle droit que je trempe dans les matières fécales délayées dans une petite quantité d'eau et que je promène à la surface de l'agar de manière à étendre les matières en couche mince. Il faut éviter de déposer à la surface de l'agar de gros amas de matières fécales, car les œufs qui y restent enfermés, dégénèrent et n'éclosent pas. Je place les plaques après les avoir couvertes dans une chambre à 22—23 °. Déjà après 48 heures on observe le développement des larves qui se gardent très bien pendant des mois, pourvu qu'on maintienne humide la surface de l'agar. On peut ainsi avoir toujours à disposition des larves d'*Uncinaria*, à différents degrés de développement. L'agar ordinaire préparé pour la culture des bactéries sert aussi très bien mais il est préférable d'employer l'agar de Nissle et Wagener<sup>2)</sup> si simple à préparer.

## 3) Sur la préparation des œufs et des larves d'*Uncinaria duodenalis*. Dubini.

Pour la conservation des œufs et des larves, je garde les préparations dans la glycérine. Pour colorer, j'étend le matériel délayé dans l'eau sur une porte-objet, je laisse sécher à l'air et je colore à la fuchsine, le bleu au thymol, la solution de Giemsa. Soit les œufs soit les larves se colorent par ces solutions, mais le plus souvent on obtient une coloration négative, c'est-à-dire que la couleur s'accumule autour des œufs et des larves qui demeurent incolores et on peut les garder dans le baume du Canada. J'ai obtenu d'assez bonnes préparations même d'œuf embryonnés en traitant du matériel étendu et séché à l'air sur porte-objet, avec une solution d'acide osmique à 10 %. Laissés ainsi 15 heures, j'ai pu obtenir des œufs et des larves bien conservés

1) Hygienische Rundschau. 1904. 15. Jan. p. 57. Ref. résumé dans Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXV. p. 568.

2) Cet agar comme j'ai pu constater se prête fort bien aussi pour l'étude de quelques protozoaires. Ainsi j'ai pu garder vivant et suivre le développement de *Trichomonas batrachorum* Perty.

et colorés en brun et les garder dans du baume. Pour la conservation des œuf et des larves pour des exercices de laboratoire, on peut garder les matières fécales qui en contiennent dans de la formaline 1 0/0 et faire des préparations au fur et à mesure des besoins.

#### 4) Flaçon pour l'huile de cèdre.

Les flaçons pour l'huile de cèdre qu'on trouve dans le commerce présentent un défaut: Présentant un fond très large, l'huile de cèdre qu'on y met évapore rapidement, devient épaisse, et on ne peut plus l'employer. J'ai trouvé plus économique de garder l'huile de cèdre dans des flaçons bien bouchés et de faire un flaçon spécial destiné à recevoir seulement une faible quantité d'huile de cèdre qui peut être employée dans l'espace de quelques jours. Le flaçon en question qui est fabriqué maintenant par la maison Morin et fils de Bâle présente une large base seulement pour éviter qu'il ne se renverse, mais l'huile de cèdre n'est pas contenue dans le flaçon lui-même mais dans un petit tube conique qui forme une seule pièce avec le flaçon et qui est fermé à sa partie inférieure, vers le fond du flaçon. Dans ce petit tube conique entre une fine baguette en bois qui sert pour prendre les gouttes d'huile. Le flaçon est fermé par un capuchon en verre rodé sur les bords. L'huile de cèdre est introduite dans le tube conique avec une baguette en verre qu'on charge d'huile, qu'on laisse ensuite couler dans le tube.

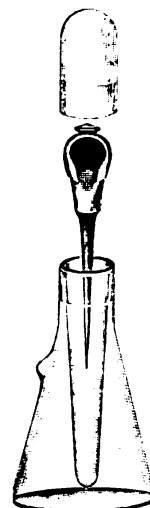


Fig. 3.

Ce flaçon, que j'emploie déjà depuis une année dans mon institut, fonctionne très bien et économise beaucoup l'huile de cèdre tout en la gardant bien liquide.

Lausanne, 6. avril 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

### 3<sup>e</sup> Mémoire.

#### La variole et son parasite (*Plasmodium variolae*).

Par F. J. Bosc, Professeur à l'Université de Montpellier.

Avec 2 planches et 12 figures.

(Fortsetzung.)

#### Réactions leucocytaires.

a) Dans le sang (formule hémoleucocytaire): Après les recherches de Brouardel (1874), celles de Verstroeten, Halla, Pee, Pick, Hayem qui les continuent, arrivent à des résultats contradictoires. Courmont et Montagard (74) constatent en 1900 une hyperleucocytose nette dès le début de la vésiculation (10 à 20 000 leucocytes), qui augmente au début de la pustulation (15 à 40 000), pour baisser lentement puis remonter pendant la convalescence. Cette hyperleucocytose est une mononucléose, avec diminution des polynucléaires (50, 40, 35 pour cent) et surtout composée de moyens et de grands mononucléaires. D'après Weil (71, 72) l'hyperleucocytose variolique (10 à 35 000) commence dès le début, est surtout prononcée au moment de la vésiculation, demeure stationnaire pendant la pustulation pour aboutir à une leucopénie qui précède le retour à la normale. Cette hyperleucocytose est une mononucléose mais à gros myélocytes granuleux ou non: c'est une myélocytose avec prédominance de neutrophiles et de mononucléaires non granuleux mais colorés en rose violet par le triacide.

Roger (73) a vu ces myélocytes persister encore 40 jours après la pustulation. Margraff, Brinckerhoff et Bancroft (95) ont vu que la leucocytose qui est une mononucléose se marque surtout au cours de l'éruption cutanée. Il y a augmentation des mononucléaires mais les variations d'ailleurs faibles au cours de la maladie dépendent surtout du nombre absolu des polynucléaires neutrophiles.

En résumé, le fait qui domine la formule hémoleucocytaire de la variole c'est l'existence d'une mononucléose à grands et moyens mononucléaires surtout marquée à partir du moment où le virus passe dans le sang et qui est, par suite, identique à celle de la vaccine, à celle que j'ai décrite pour la clavelée (103) et pour la syphilis (Compt. rend. soc. biol. 1903. Juin.)

b) Leucocytes dans la lésion. Le nodule variolique est formé de cellules épithéliales et conjonctives de nouvelle formation. Pendant l'évolution de la prolifération épithéliale il n'existe aucun polynucléaire ou mononucléaire dans toute l'épaisseur de celle-ci; dans les vaisseaux dilatés du derme et les petits nodules périvasculaires, on trouve quelques mononucléaires moyens et de très rares polynucléaires. Au stade de vésico-papule, avec vésicule intraépithéliale et formation d'une néoformation conjonctive en nappe qui a remplacé le derme, on assiste à une pénétration plus abondante de mononucléaires moyens et grands dans les espaces conjonctifs dilatés par l'œdème. Dans les figures 7 et 8 on note, disséminés entre les cellules conjonctives hypertrophiées (*x, x, ce, ce* fig. 8 et *cel, g* fig. 7), des grands et moyens mononucléaires (*mon, mon* fig. 7 et 8), des lymphocytes (*ly, ly* fig. 7 et 8), des mononucléaires granuleux (myélocytes) mais rares (*mono* fig. 7) et des mastzellen (*mast* fig. 7 et 8). Il est souvent difficile d'établir une distinction entre les mononucléaires et les plasmazellen qui sont très abondantes et qui représentent, à notre avis, des cellules fixes en prolifération rapide. Cette distinction soulève la question très importante de savoir si les leucocytes mononucléaires peuvent se transformer en cellules fixes et servir ainsi à la réparation d'un tissu. Au niveau de la prolifération épithéliale on n'observe aucune pénétration de leucocyte et de fait la vésicule n'en renferme point à son début et elle n'en contient que tout autant que la dissociation et la dégénérescence des cellules épidermiques profondes permet le passage des leucocytes dans leurs interstices. Les leucocytes que l'on constate d'abord dans la vésicule sont des mononucléaires; les polynucléaires sont très rares.

La néoformation conjonctive est formée, au voisinage de l'épithélium, de grandes cellules varioliques vacuolisées dans un liquide d'œdème abondant et parcourue par des vaisseaux de nouvelle formation (fig. 7 et 8): dans les espaces intercellulaires on constate surtout des mononucléaires mais du moment où les grandes cellules varioliques dégèrent et que la vésicule s'agrandit aux dépens de la néoformation conjonctive, les polynucléaires apparaissent de plus en plus abondants dans les vaisseaux, dans les espaces intercellulaires et dans le liquide de la vésicule, avec formation de fibrine et thromboses de capillaires. Mais ce processus de désintégration avec polynucléose ne s'étend pas d'emblée à toute la profondeur de la néoformation conjonctive: y il pénètre très progressivement la néoformation et au fur et à mesure de l'hypertrophie claire et de l'utriculisation des cellules fixes. Dans les parties hypertrophiées mais non dégénérées parcourues par des vaisseaux à endopérivascularite (*va, va* fig. 7 et 8) il existe entre les cellules des mononucléaires (*mon, mon* fig. 7 et 8), des mastzellen en grand nombre (*mast, mast* fig. 7 et 8), des polynucléaires peu nombreuse et des plasmazellen abondantes; on y trouve également d'énormes cellules en karyokinèse (*kar* fig. 8) qui représentent des grands mononucléaires en division mitotique.

On voit donc que les néoformations épithéliale et conjonctive varioliques en évolution active ne sont pas un point d'attraction pour les polynucléaires; la prolifération épithéliale demeure libre de leucocytes et la partie conjonctive ne contient que des mononucléaires et en nombre relativement restreint. Les polynucléaires ne surviennent qu'au moment où la dégénérescence des cellules proliférées épithéliales mais surtout conjonctives a atteint une intensité considérable et alors que l'accroissement de la pustule, c'est-à-dire la période d'activité du virus est terminé. La polynucléose ne doit donc pas être une réaction spécifique et en rapport avec la présence du virus; si l'on rapproche au contraire la mononucléose progressive de la néoformation conjonctive de l'hyperleucocytose mononucléaire du sang au moment de l'invasion du virus, on est en droit de conclure que la réaction leucocytaire spécifique (dans le sang et dans les lésions) est constituée par une mononucléose à grands et moyens mononucléaires. Cette mononucléose doit représenter une partie de la défense de l'économie contre le virus variolique et à notre avis une petite partie seulement car le processus défensif véritable contre la pullulation et l'invasion du virus est représenté par la prolifération cellulaire épithéliale et conjonctive qui englobe les parasites au fur et à mesure de leur multiplication. La polynucléose qui n'apparaît d'abord que dans la lésion et non dans le sang, qui dans cette lésion ne s'étend que progressivement avec

la dégénérescence des cellules varioliques, apparaît comme un acte localisé en rapport avec la désintégration granuleuse de plus en plus considérable des cellules proliférées et sans aucune relation avec le virus. La polynucléose doit être considérée comme une phagocytose de nettoyage en rapport avec la nécessité pour l'économie d'éliminer les produits de nécrose très abondants qui résultent de la pustule. Cette polynucléose peut agir aussi sur les microbes d'infection secondaire mais elle se manifeste d'une façon aussi intense alors que la cavité vésiculaire est libre de microorganismes.

Il existe donc deux sortes de réaction leucocytaire dans la variole: l'une spécifique qui se produit dans le sang et dans les lésions et qui est une mononucléose; l'autre, polynucléose, qui n'existe ni dans le sang, ni dans les lésions pendant les périodes actives de la maladie, qui n'apparaît qu'avec les progrès de la dégénérescence et de l'élimination des néoformations cellulaires varioliques et qui constitue une phagocytose de nettoyage.

### B. Lésions des organes.

Les lésions spécifiques de la variole doivent présenter au niveau des organes la même évolution générale qu'au niveau de la peau, c'est-à-dire une néoformation cellulaire aboutissant à la dégénérescence et à l'élimination totale, avec phagocytose de nettoyage terminale. Les lésions qui ont été décrites par les auteurs dans les organes se rapportent ou à de simples phénomènes de congestion ou au stade terminal de nécrose avec polynucléose qui a laissé penser à une inflammation microbienne banale. L'étude de cas favorables nous a permis de trouver des lésions varioliques spécifiques du poumon, de véritables pustules pulmonaires et d'en suivre l'évolution depuis leur constitution exclusivement cellulaires (adénomes) jusqu'à la destruction de ces cellules et une polynucléose terminale qui seule vue par les observateurs avait laissé penser à une inflammation microbienne surajoutée. L'existence de ces lésions spécifiques du poumon est d'une grande importance pour l'étiologie; elle montrerait que le poumon peut jouer le rôle de porte d'entrée pour le virus variolique.

1) Lésions variolique du poumon. On a décrit des pustules du larynx, de la trachée et des bronches jusqu'au niveau de plus petites ramifications (Joffroy); leur ulcération explique le développement de la bronchite varioleuse (Breynaert).

Dans le parenchyme pulmonaire on a décrit des noyaux d'apoplexie ou d'hépatisation (broncho-pneumonie), de la splénisation, des abcès métastatiques. ... En dehors de phénomènes de congestion ou d'hémorragie qui peuvent être dus à l'action du virus variolique, toutes les lésions sont secondaires.

Nous avons mis en évidence les lésions pulmonaires spécifiques en faisant l'autopsie d'enfants qui n'avaient pas été vaccinés et morts avant une suppuration trop avancée, au cours d'une variole grave. Le poumon présentait un léger degré d'emphysème surtout des bords, des foyers de congestion œdémateuse et sur ce fond rosé ou rougeâtre tranchaient des nodules gris blanchâtres ou bleuâtres, en légère saillie sous la plèvre, du volume d'un grain de mil à un grain de chenevis. La palpation du poumon permettait de percevoir d'autres nodules dans l'intérieur du parenchyme. A la coupe, le poumon présentait une surface de section rose ou rose violacé et disséminés, de petits nodules arrondis, rouge chair ou gris, ne donnant pas d'air à la pression, compacts mais friables et ne renfermant pas trace de pus ni de fibrine, mais donnant au râclage un suc formé de cellules. Les parties périphériques de ces petits nodules étaient parfois congestionnées ou même hémorragiques.

A l'examen histologique, les nodules de consistance ferme, présentent une structure tout à fait spéciale qui ne permet pas de les confondre avec des lésions de broncho-pneumonie. Ils sont formés par des alvéoles pulmonaires dilatés dont les cellules épithéliales ont proliféré et subi une hypertrophie d'abord sombre (*al* fig. 9), puis demi-claire (*dm*, *dm* fig. 9) et claire (*cla*, *cla* fig. 9); elles finissent par remplir la cavité alvéolaire (*alv*, *alv* fig. 9) ou se disposent autour d'une lumière centrale (*la*, *la* fig. 9) de façon à ressembler à un acinus de glande salivaire. La paroi alvéolaire est remplacée par une prolifération de cellules conjonctives arrondies ovales ou fusiformes (*co*, *co* fig. 9), formant par places des carrefours centrés par un vaisseau à endothélium volumineux (*am*, *am* fig. 9). Il s'est constitué ainsi aux dépens des cellules alvéolaires du poumon, un véritable adénome pulmonaire alvéolaire. Les cellules bordantes prolifèrent

et donnent naissance à des bourgeons qui augmentent de volume, s'isolent et constituent un amas cellulaire (*foe* fig. 9) puis un alvéole de nouvelle formation (*al* fig. 9). On note quelques mononucléaires dans les vaisseaux et dans la prolifération conjonctive; les polynucléaires sont très rares (*poly* fig. 9).

Les nodules un peu ramollis (2<sup>o</sup> stade), présentent au niveau du formations adénomateuses alvéolaires, des cellules arrivées au maximum de l'hypertrophie claire, devenues globuleuses (*glo, glo* fig. 10) puis subissant un processus de dégénérescence granulo-aqueuse actif (fig. 10) qui est le début du stade de regression et d'élimination de la pustule variolique pulmonaire. Sur les bords du nodule on constate encore des formations adénomateuses non dégénérées (*ve* fig. 10) avec des mitoses (*ky* fig. 10), mais partout ailleurs, les cellules de la néoplasie deviennent énormes, vacuolaires (*glo* fig. 10), se séparent de la paroi (*m, m, ca* fig. 10) dans le liquide d'œdème (*m* fig. 10) où elles dégèrent. A mesure que ce processus nécrosique se développe, des polynucléaires de plus en plus nombreux apparaissent autour des vaisseaux (*po, po, po* fig. 10) puis dans les cavités adénomateuses. Dans la partie *M* fig. 10 les polynucléaires sont devenus très abondants tandis que les cellules épithéliales ont presque totalement disparu.

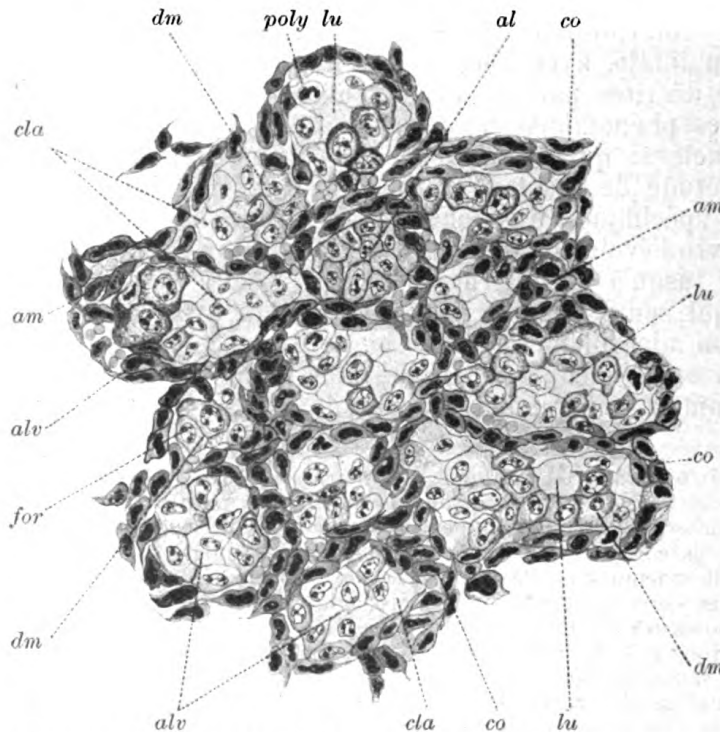


Figure 9. Pustule variolique du poumon (adénome alvéolaire). *al* alvéole plein, constitué de cellules sombres; *alv* alvéole plein formé de grandes cellules claires; *lu* prolifération épithéliale disposée autour d'une lumière; *for* bourgeon épithélial qui donnera naissance à un alvéole adénomateux; *co co* prolifération des cellules conjonctives, qui forment des amas (*am*) périvasculaires volumineux, avec fragmentation et disparition des vaisseaux.

On aboutit alors rapidement au dernier stade dans lequel la prolifération cellulaire adénomateuse totalement dégénérée (*ced, ced* fig. 11) est remplacée par une infiltration intense de polynucléaires (*tr, tr* fig. 11) et par des amas de microbes (*mic* fig. 11), dans une trame conjonctive dissociée. L'aspect de la lésion est à ce moment celui d'un petit abcès d'origine microbienne.

La structure et l'évolution du nodule variolique du poumon sont donc tout à fait superposables à celles de la pustule cutanée, avec les phases de prolifération cellulaire pure avec légère mononucléose, d'hypertrophie puis de dégénérescence des cellules aboutissant à une élimination totale et accompagnée d'une polynucléose de nettoyage. Ces lésions sont exactement semblables à celles de la pustule clavelleuse du poumon (103) et à celles que nous avons pu reproduire dans le poumon du lapin par inoculation de



vaccin (106). Il existe donc dans le poumon des varioleux une éruption nodulaire spécifique à structure et à évolution caractéristiques<sup>1)</sup>.

2) Lésions du tube digestif. On a constaté des pustules sur l'œsophage, au niveau de la muqueuse stomacale (Grisolle) où elles sont rares. Nous n'avons pas pu observer de pustule variolique de l'estomac, mais il est à peu près certain que leur examen histologique permettrait de constater des lésions de prolifération adéno-épithéliomateux au même titre que dans la clavelée.

Jaccoud a présenté un intestin de varioleux dans lequel chaque pustule avait donné lieu à une ulcération arrondie; parfois l'éruption intestinale présente une remarquable symétrie, les ulcérations étant rangées suivant les trois bandelettes longitudinales. On a signalé des pustules sur la muqueuse du rectum.

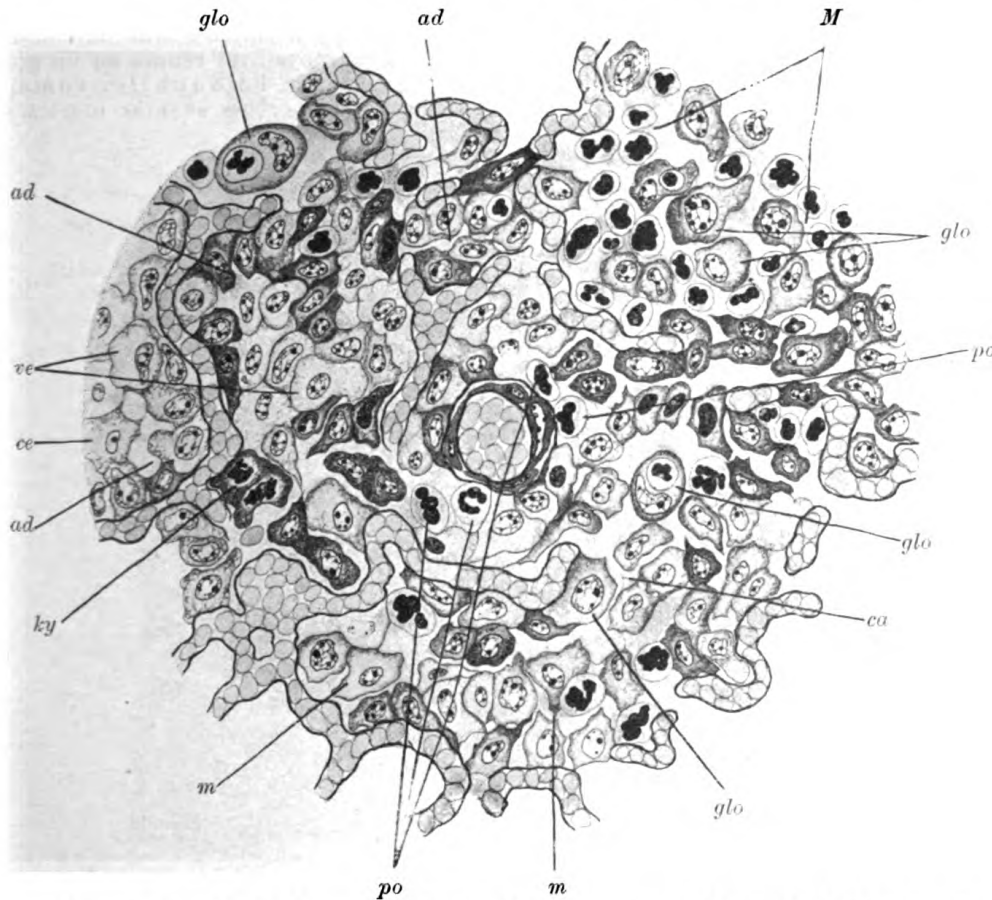


Figure 10. Pustule variolique du poumon; début de l'élimination. *ad ad* alvéoles adénomateux encore bien conservés; *ve* grandes cellules claires en voie de plasmolyse; *ky* cellules en mitose; *ca* alvéole dont les cellules se dissocient; *po po* leucocytes polynucléaires envahissant la prolifération en dégénérescence; *M* point de dégénérescence plus accentué avec infiltration forte de polynucléaires.

3) Lésions du foie. Généralement augmenté de volume (2000 g, Roger et Garnier), le foie a une teinte rouge jaunâtre ou marron, avec des taches ou des placards blanc jaunâtre légèrement saillants sous la capsule, s'enfonçant dans le parenchyme et

1) Une recherche bibliographique attentive nous a fait voir qu'aucun auteur n'avait observé les pustules varioliques du poumon. Ivanowski (14) toutefois avait, en 1876, noté dans le poumon de certains varioleux des nodules rouge foncé formés d'alvéoles remplis de globules rouges et de cellules épithéliales à protoplasma nuageux et qu'il considère comme de petits foyers varioliques, mais sans aucune raison précise. C'est grâce à la connaissance que nous avons acquise des lésions clavelées et vaccinales spécifiques du poumon que nous avons pu découvrir les nodules pulmonaires varioliques.

qu'il est possible de confondre au premier abord avec de petits nodules cancéreux. Il s'agit là de nodules infectieux avec dégénérescence graisseuse, mais en outre de ces foyers, Weigert avait décrit, „disséminés dans le foie, de petits nodules blanchâtres, du volume d'un tubercule miliaire et formés de cellules semblables à celles des lésions cutanées“. Nous n'avons pas pu faire un assez grand nombre d'autopsies pour retrouver ces nodules, mais ce que nous avons fait voir au sujet du foie claveléux, nous permet d'affirmer que les lésions de Weigert sont les lésions vraiment spécifiques de la variole. Elles devront être recherchées systématiquement.

En dehors de ces lésions nodulaires, les lésions histologiques du foie correspondraient, d'après Roger et Garnier (80) à une suractivité fonctionnelle de l'organe aboutissant à une prolifération anatomique active. Les cellules hépatiques après avoir subi une hypertrophie prononcée, présentent une dégénérescence graisseuse ou hyaline. Councilman (92) insiste sur l'hypertrophie des cellules hépatiques qui deviennent volumineuses et granuleuses et dont la chromatine du noyau est réunie en un gros amas central ou attaché à la membrane et peut devenir acidophile, comme dans la leucémie. Ces noyaux peuvent aussi devenir homogènes et subir une transformation hyaline.

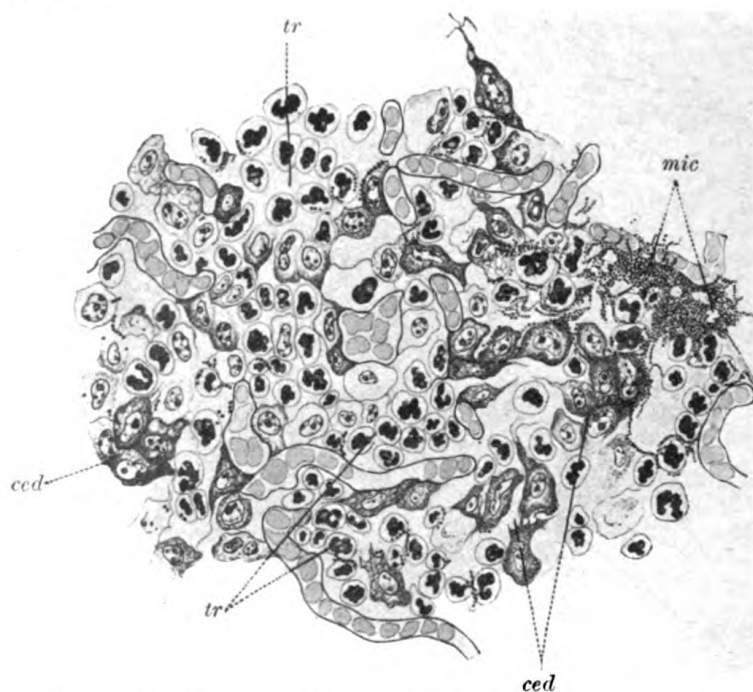


Figure 11. Pustule variolique du poumon; regression totale avec amas microbiens et polynucléose intense (simulant un petit abcès).

Roger et Garnier ont noté que dans la variole il peut se produire „une dislocation des cellules hépatiques et une disposition en une sorte de revêtement pavimenteux continu presque dépourvu de vaisseaux“; à un degré plus avancé, ces cellules se sépareraient les unes des autres et prendraient l'aspect d'une macération. Nous avons montré l'existence d'une pareille lésion, fort curieuse, dans le foie d'agneaux atteints de clavelée grave (103) et sur une assez grande étendue.

En dehors de leur hypertrophie, les cellules hépatiques peuvent subir une dégénérescence hyaline qui débute au centre du lobule: la cellule renferme, dans des vacuoles, des corps hyalins, réfringents, éosinophiles. Il peut se produire encore une nécrose centrale du lobule par dégénérescence vitreuse et nous avons vu que celle-ci était bien réellement sous la dépendance du virus variolique.

Une des lésions les plus prononcées du foie varioleux est la dégénérescence graisseuse des cellules, étudiée par Quinquaud (6) et tellement intense, d'après Curschmann, que le foie de la variole serait comparable au foie phosphoré. Plus

prononcée au centre du lobule pour les uns (Siredey), elle serait surtout marquée à la périphérie et gagnerait ensuite le centre (Arnaud, Roger et Garnier).

Le tissu conjonctif présente aussi des lésions, en particulier des néoformations de cellules embryonnaires qui se disposent en nodules ou en nappes, surtout au niveau des espaces portes, pénètrent dans les trabécules (Arnaud, Siredey) et qui, d'après Roger et Garnier devraient être considérés comme des foyers d'infiltration de mononucléaires. L'endothélium des vaisseaux est tuméfié et il existe une périvasculite très prononcée.

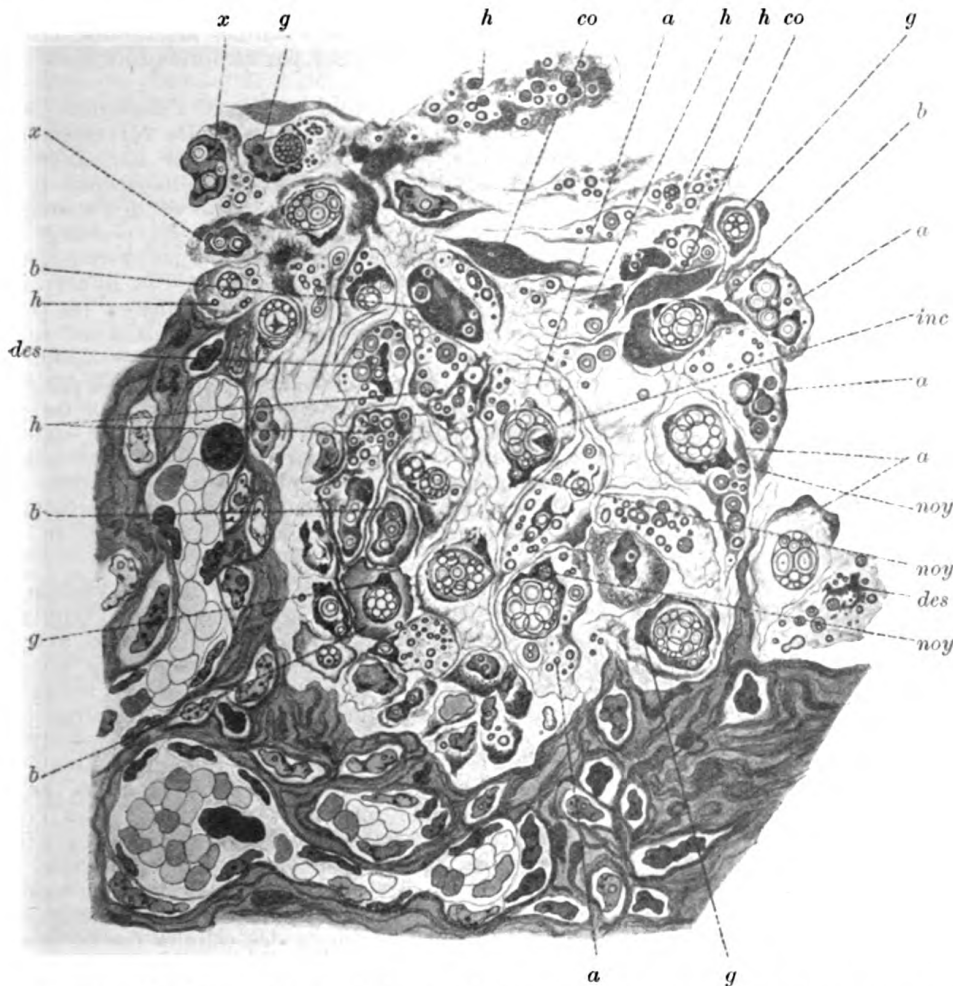


Figure 12. Papule variolique à inclusions intranucléaires. *a a a* cellules de la prolifération malpighienne en grande hypertrophie claire; *b b b* cellules en dégénérescence colloïdale; *co co* restes de dégénérescence colloïde; *x x* noyaux renfermant des inclusions corpusculaires; *g g g* noyaux renfermant des inclusions kystiformes; *noy noy noy* restes du noyau distendu par de volumineuses inclusions kystiformes de structure variée; *inc* inclusion de structure très précise correspondant à la figure 29 de la Planche II; *des des* des agrégation du noyau avec mise en liberté des inclusions dans le protoplasma; *h h h* inclusions devenues intraprotoplasmiques.

Nos recherches personnelles nous ont montré qu'il existe des lésions conjonctives et épithéliales.

Les cellules hépatiques ont subi une hypertrophie prononcée; elles conservent leur aspect et leur disposition trabéculaire dans la partie centrale du lobule avec un ou deux gros noyaux chargés de chromatine et parfois elles constituent des lésions d'hépatite nodulaire; mais dans toute la région périportale, et pénétrant irrégulièrement vers le centre du lobule, les cellules hépatiques apparaissent complètement claires, tassées les unes contre les autres et constituant des placards de cellules à disposition d'appa-

rence pavimenteuse traversée par quelques capillaires dilatés. Dans ces placards de cellules claires tranchent des trainées de cellules de grand volume, à protoplasma homogène très fortement coloré, parfois en karyokinèse, qui le plus souvent forment un renflement, une sorte de bourgeon, qui va se continuer par un boyau étroit avec un capillaire biliaire de l'espace porte. Ce renflement formé de grandes cellules hépatiques prend parfois l'aspect d'une néoformation adénomateuse à lumière centrale; de même les cellules claires des placards de la région périportale s'orientent très souvent sous formes de nodules d'aspect adénomateux.

Il y a en somme une grande ressemblance entre ce processus d'origine variolique et celui que j'ai décrit longuement au niveau du foie claveleux (103) et caractérisé par la prolifération, l'hypertrophie, la transformation claire des cellules hépatiques, leur disposition adénomateuse et même épithéliomateux, et aussi par la formation d'adénomes d'origine biliaire.

Comme dans la clavelée, on constate dans le foie varioleux l'existence de très volumineuses cellules au voisinage des capillaires intralobulaires; elles correspondent à des cellules conjonctives hypertrophiées et semblent pouvoir donner naissance à de grandes cellules colorées ou claires difficiles à différencier des cellules hépatiques proprement dites. Au niveau de l'espace porte, autour de la veine porte et des canalicules biliaires il existe une prolifération conjonctive jeune formée de cellules à types de plasmazellen et de cellules arrondies ou ovalaires susceptibles de s'hypertrophier et de constituer de grandes cellules conjonctives varioliques; l'endothélium est proliféré et hypertrophié.

4) Lésions des reins. Il existe des lésions de glomérulo-néphrite; les cellules de la capsule sont hypertrophiées, claires, vésiculeuses et dégèrent dans la lumière du glomérule après avoir subi un processus de multiplication au niveau de nodules ou d'amas formés de cellules du type lymphoïde avec vaisseaux atteints d'endopérivasculairite; les tubuli contorti présentent des lésions de dégénérescence et parfois de prolifération et d'hypertrophie de l'épithélium. Councilman (92) a observé dans ces foyers d'aspect embryonnaire des cellules plus volumineuses qui présentent des stades de transition avec les grandes cellules mononucléaires basophiles.

Ces lésions ressemblent de très près à celles que nous avons décrites dans la clavelée et ici, comme dans le rein claveleux, on est frappé de l'absence totale de polynucléaires.

5) Lésions du testicule. L'orchite est assez fréquente dans la variole (1% de cas, d'après Curschmann). Wagner avait noté à la coupe, des nodules gris rougeâtre, et Chiari (33) avait constaté à leur niveau une nécrose centrale avec une zone périphérique de gros éléments cellulaires. Nos recherches personnelles nous ont montré, au centre des nodules, des tubes remplis de cellules dégénérées et renfermant, de même que le tissu conjonctif voisin fortement proliféré, des mononucléaires et un assez grand nombre de polynucléaires. En allant vers la périphérie, on rencontre des tubes dilatés, exactement remplis de cellules à tendance atypique mélangées de quelques mononucléaires, tandis que le tissu conjonctif œdématisé renferme, dans ses espaces, de grandes cellules conjonctives à prolongements multiples, de volumineuses cellules à type de plasmazellen, des mononucléaires et assez souvent des amas de cellules hypertrophiées qu'il est difficile de différencier d'une néoformation épithéliale. Les capillaires et les artérioles sont le siège d'un processus intense d'endo-périvasculairite.

Dans la clavelée j'ai montré des lésions identiques du tissu conjonctif et au niveau des tubes une prolifération beaucoup plus énergique des cellules épithéliales qui subissent enfin une nécrose totale. Les lésions décrites d'ordinaire au niveau du testicule varioleux ne représentaient que le stade terminal nécrosique. Councilman a mieux vu le stade de début: il a noté des cellules épithéliales gonflées, parfois placées sur plusieurs rangs, avec des noyaux vésiculeux.

6) Lésions de la rate. Elle est hypertrophiée, parfois ramollie. Golgi (1873) avait noté une augmentation des leucocytes et la présence de globules rouges nucléés. D'après Roger, la pulpe est distendue par des cellules leucocytaires de type varié parmi lesquelles prédominent les mononucléaires neutrophiles. Councilman insiste, avec raison, sur la rareté des polynucléaires et sur le fait que le trait essentiel de la lésion splénique est la formation de grandes cellules de type basophile, à la fois dans la pulpe et les corpuscles de Malpighi; ces derniers présentent des karyokinèses nombreuses et peuvent être uniquement composés de grandes cellules; les éosinophiles sont nombreux et il y a quelques rares hématis nucléées; dans les sinus, les cellules se multiplient et forment de grandes cellules endothéliales phagocytaires qui peuvent renfermer des globes hyalins acidophiles (Arnaud).

Nos recherches nous montrent que les follicules de Malpighi sont formés de cellules du type adénoïde qui s'hypertrophient, deviennent ovalaires ou très irrégulières, ou arrondies, avec des figures de karyokinèse; elles peuvent aboutir à la formation de grandes cellules et aussi d'énormes cellules à noyau vacuolisé à peine visible et à proto-

plasma en voie de plasmolyse. Le follicule peut se trouver ainsi totalement transformé en un amas de grandes cellules et il présente à sa périphérie des vaisseaux atteints d'endopérivasculite intense. Si l'on examine le passage entre les cellules du bord du follicule et les cellules de la pulpe on remarque que les cellules adénoïdiennes de la périphérie se transforment en cellules plus volumineuses de telle sorte que les cellules des cordons pulpaire sont formées par de grandes cellules à prolongements multiples, de grands mononucléaires et aussi des cellules allongées; les sinus sont gorgés de cellules à type de plasmazellen du volume d'un globule rouge et qui, s'hypertrophiant, prennent un volume triple et quadruple, deviennent énormes et ont une tendance à s'arrondir et à devenir vésiculeuses; certaines de ces cellules présentent une figure de mitose.

Dans les parties plus anciennement atteintes une partie de ces cellules s'allonge et constitue un tissu tendant de plus en plus vers la formation fibreuse. Les artères sont le siège d'une endopériartérite très prononcée.

7) Lésions des ganglions lymphatiques. Les ganglions sont hypertrophiés surtout au début de l'éruption généralisée des formes pustuleuses (Roger). Dans les sinus, on voit apparaître des myélocytes neutrophiles ou basophiles de telle sorte que les lésions sont semblables à celles de la leucémie (Roger).

D'après Councilman (92) la plupart de ces cellules sont basophiles; ressemblent beaucoup aux cellules basophiles de la moelle mais elles sont encore plus volumineuses avec un noyau vésiculeux à chromatine abondante réunie en boules. On peut voir apparaître ces grandes cellules des sinus dans les follicules; leur protoplasma vacuolaire devient basophile et elles présentent fréquemment des karyokinèses ou bien une dégénérescence de la chromatine du noyau qui se réunit en boules. En dehors de ces grandes cellules basophiles, il peut exister d'énormes cellules phagocytaires qui peuvent atteindre jusqu'à 6 fois le diamètre des précédentes et renferment des globules rouges; elles sont d'origine endothéliale. Les cellules du réticulum augmentent de nombre et présentent des mitoses nombreuses de sorte qu'il peut devenir difficile d'établir une différenciation entre les follicules et les sinus. Dans les cas moins avancés on constate les grandes cellules des sinus dans l'intérieur des follicules et on suivrait toutes les phases de transition entre les grandes cellules et les lymphocytes. Parfois les cellules prendraient le type de plasmazellen.

Nos recherches personnelles nous ont montré que les lésions des ganglions varioloux sont exactement celles que nous avons indiquées dans la clavelée et elles sont semblables à celles de la vaccine. Elles sont de même ordre que celles de la rate. Elles consistent essentiellement dans la transformation des cellules des follicules en cellules plus volumineuses avec mitoses fréquentes, en cellules colossales qui renferment parfois des débris de globule rouge, et en cellules fusiformes de grande taille qui paraissent provenir des cellules du réticulum.

Les sinus dilatés renferment des mononucléaires ronds, des cellules du type de plasmazellen qui peuvent prendre un grand volume, des cellules colossales identiques aux grandes cellules varioliques conjonctives de la pustule cutanée, et qui sont dûes à la prolifération et à l'hypertrophie des cellules endothéliales des sinus. Lorsque cette transformation cellulaire est avancée il peut être très difficile de distinguer le sinus de la pulpe; le tissu tend à devenir de plus en plus homogène.

### III.

#### Le virus variolique.

##### 1° Caractères généraux du virus.

a) Virulence des tissus et des humeurs. Le virus variolique existe dans toutes les néoformations qui ont la structure typique que nous avons indiquée pour le nodule variolique. Les tissus intermédiaires sont dépourvus de virulence, mais le sang peut renfermer le virus, à un moment donné.

Les néoformations varioliques, en particulier les éléments éruptifs de la peau, sont d'autant plus virulentes qu'elles sont plus jeunes (Violi, Monti). Immermann (1896) a montré que les qualités les plus infectieuses apparaissent au moment de la vésiculation, avant toute suppuration. Fischer (1892) après avoir indiqué que le maximum de virulence doit être placé avant la suppuration, établit expérimentalement que le produit de râclage des éléments varioliques est d'autant plus

grande que ces éléments se trouvent à une période plus rapprochée de leur apparition et qu'ils font partie de la première poussée éruptive; les éléments tardifs, survenus à la phase terminale de l'éruption, ont une virulence très atténuée. Ces expériences laissent penser, contrairement aux opinions longtemps admises, que la partie solide est beaucoup plus virulente que la partie liquide. Si, après avoir enlevé le liquide d'une vésico-papule avancée, on râcle le plancher, le produit de râclage est bien plus actif que la lymphe, de sorte que, pour la variole comme pour la vaccine, il faut, pour avoir le virus le plus énergique, employer non le liquide seul mais la pulpe produite par trituration des parties solides.

Lorsque la vésicule a atteint son complet développement, l'épithélium est détruit dans tout le centre et le plancher de la vésicule est formé par la prolifération conjonctive; le produit de râclage du plancher qui est très virulent est uniquement formé des grosses cellules varioliques; on peut donc affirmer que le virus n'est pas localisé dans la prolifération épithéliale mais qu'il existe, au même degré, dans la prolifération conjonctive. Nous sommes arrivé aux mêmes conclusions pour la pustule vaccinale et elles étaient d'autant plus importantes que la néoformation conjonctive fournit la partie la plus considérable de la pulpe vaccinale.

La croûte des pustules varioliques est très virulente, ce qui est connue depuis bien longtemps (Chinois) de telle sorte que le varioleux demeure infectant pendant toute la période d'élimination. Les croûtes ne sont pas constituées uniquement par de la lymphe coagulée et desséchée mais aussi par tous les débris cellulaires dûs à la régression de la pustule.

Le virus n'existe pas seulement dans les pustules cutanées; il doit nécessairement exister dans tout nodule variolique spécifique quel que soit son siège. L'examen histologique nous a permis d'attribuer nettement ce caractère de spécificité à certaines lésions précoces nodulaires du poumon: or Monti (59) a fait voir que le virus variolique existait dans le parenchyme pulmonaire et, par assimilation, nous rappellerons la démonstration faite par nous que les nodules vaccinaux qui ont la même structure générale sont virulents, et que les nodules claveleux du poumon renferment une grande quantité de virus.

Monti a démontré encore que les petites nodosités du testicule variolique sont virulentes et nous avons vu que ces lésions présentent les caractères histologiques de néoformations varioliques.

Councilman (92) rapporte les expériences de Tyzzer (1904) qui prouveraient la virulence des ganglions lymphatiques hypertrophiés: si chez le singe infecté avec du pus variolique on recueille le suc des ganglions lymphatiques de l'arsielle et qu'on l'inocule à la cornée du lapin, on obtient une lésion typique. Cette virulence des ganglions lymphatiques surviendrait de bonne heure, avant la virulence du sang, la lésion ganglionnaire étant en rapport immédiat par de gros lymphatiques hypertrophiés avec la lésion locale d'inoculation. Nous avons montré les mêmes faits pour la variole du mouton: hypertrophie ganglionnaire dure, non suppurée, en relation avec la lésion d'inoculation par des lymphatiques volumineux et indurés, et virulence du suc ganglionnaire (103).

Le sang des varioleux est virulent à un moment donné. Il est nécessaire, pour que l'on puisse comprendre la production de l'éruption généralisée, d'admettre que le virus est passé de la pustule d'inoculation

dans le courant circulatoire. J'ai démontré pour la variole ovine la réalité de la virulence du sang (Compt. rend. soc. biol. 1902. 1. févr.) dans les quelques jours qui précèdent l'éruption et pendant le cours des poussées éruptives. Un fait qui devait encore laisser penser à la dissémination du virus par le sang c'est que, dans la variole, comme dans la clavelée, les parties de la peau irritées par un vésicatoire ou une sinapisation énergique sont le siège d'une éruption beaucoup plus intense. Senator a signalé un cas dans lequel la variole fut transmise par une greffe épidermique prise sur un sujet en incubation de variole; Blumlein a montré que la lymphé vaccinale prise chez un enfant en incubation de variole pouvait donner la variole. On sait en outre que le virus variolique peut se transmettre de mère au fœtus. Expérimentalement, Zuelzer (12) a produit, en 1874, des pustules varioliques typiques, chez le singe, aux points où il avait fait des inoculations de sang de varioleux prélevé avant l'éruption généralisée. Monti (59) n'obtient, il est vrai, que des résultats négatifs par inoculation du sang du cœur de varioleux à la cornée de lapins, mais il est certain que si le sang renferme la virus ce n'est qu'en très petite quantité ce qui permet de comprendre, comme nous l'avons fait voir pour la clavelée, les échecs obtenus par l'inoculation d'une quantité de sang infinitésimale. D'ailleurs Roger et Weil (81) ont vérifié les expériences de Zuelzer: l'inoculation du sang de varioleux hémorrhagiques à la peau de singes macaques, par scarification, a donné naissance, entre leurs mains, à de belles pustules, dans la proportion élevée de 4 fois sur 10. Magrath et Brinckerhoff (96) après inoculations à la cornée du lapin bien moins sensible que le singe du sang de 5 cas de variole de 2 à 12 jours et de 1 cas de purpura variolique ont eu un succès donné par le sang du purpura.

La salive ne paraît pas douée de propriétés virulentes et il est probable que sa virulence doit être sous la dépendance de l'existence de pustules varioliques au niveau de la muqueuse buccale. Il en est de même des sécrétions bronchiques.

b) Réceptivité. La variole est une maladie qui paraît, en tant que maladie spontanée, être spéciale à l'espèce humaine, de même que la vaccine est spéciale au poulain, et la clavelée au mouton. Toutes les races humaines et les deux sexes sont également sensibles mais tous les individus n'ont pas la même réceptivité. Comme on l'observe pour les troupeaux de moutons atteints de clavelée, la variole agissant sur un ensemble d'individus enfermés (dans une prison) n'atteint qu'une partie des sujets et cela successivement, et, comme il paraît vraisemblable, suivant la réceptivité des sujets.

Le singe est l'animal le plus sensible à la variole. Zuelzer a montré dès 1874 sa réceptivité; Copeman (37), Haan, Roger et Weil (81) ont vérifié les conclusions de Zuelzer sur des singes macaques, Park (84) sur les singes de Java et Ewing (86) sur les singes africains (1902). Magrath et Brinckerhoff ont obtenu chez *Rhesus macacus* 10 résultats positifs sur 12 singes inoculés à la peau: la lésion d'inoculation débute au 3<sup>o</sup> jour, s'indure, devient rouge, s'acumine, atteint son développement maximum au 8<sup>o</sup> jour et présente alors jusqu'à 3 cm. de diamètre; il se développe ensuite de petites vésico-pustules (pustules satellites) au voisinage de la pustule mère (pocken-master) et enfin l'éruption se généralise à tout le corps.

Viborg a transmis la variole au porc; Vy et surtout Eternod

et Haccius ont pu inoculer la variole à la peau du mouton par le procédé de la dénudation de la peau. Chauveau en inoculant la variole au cheval obtint de larges boutons coniques qui disparurent sans donner de lymphé ni de croûte plus volumineuses que chez la génisse. L'inoculation de la variole au veau et à la génisse soulèvent l'important problème de la transformation possible de la variole en vaccine. Thiele (1839) puis Chauveau (1865) montrent qu'il est possible d'inoculer la variole à ces animaux: Chauveau obtient des petites papules rougeâtres. Mais Fischer (1892) par inoculation en scarifications larges du produit pulpaire de raclages à fond des éléments varioliques avant la pustulation, obtient de belles vésicules ombiliquées. De même Haccius, inoculant avec du pus variolique la peau du veau par dénudation, obtient un semis de pustules. Après l'inoculation variolique les animaux sont réfractaires du vaccin et les pustules obtenues se transmettent facilement de veau à veau. Fischer et Haccius concluent de leurs expériences que la variole est sûrement inoculable à l'espèce bovine quand le mode opératoire est bon et la récolte du virus faite au moment opportun. Pourquier (1893) a également obtenu par inoculation de virus variolique au veau une petite pustule ombiliquée.

La variole est inoculable du lapin. Guarnieri (54) obtient après inoculation de virus variolique à la cornée les mêmes lésions qu'après l'inoculation de lymphé vaccinale et Borrel (91) a constaté l'existence de pustules cornéennes visibles seulement au microscope. D'après Tyzzer l'inoculation de lymphé variolique fraîche à la cornée du lapin réussit toujours et peut se transmettre en séries du lapin au lapin et du lapin au singe. Par inoculation de pus variolique dans la chambre antérieure de l'œil, Roger n'observe pas de pustule locale, mais de l'amaigrissement et une sorte de septicémie subaiguë. A la suite d'inoculation de pus ou de sang varioliques sous la peau il se produirait encore, d'après Roger, une septicémie sans éruption cutanée avec augmentation de la mononucléose du sang comme cela a lieu pour la variole des nouveau-nés. Tyzzer qui a fait des essais multiples d'inoculations souscutanées n'a obtenu que des résultats négatifs (Journ. of med. research. 1904. Febr.).

c) Porte d'entrée; généralisation. La recherche de la porte d'entrée a une grande importance. Chez les animaux, l'inoculation est positive à la peau, pour le singe, le veau, la génisse, le cheval et peut être le lapin; elle est positive à la cornée pour le singe, le veau, le lapin, le cobaye. L'inoculation de virus sous la peau n'a pas donné de résultats positifs, par même chez le singe. Zuelzer a essayé, sans succès, l'inoculation du virus variolique par le tube digestif, chez le singe, mais ce même auteur a pu inoculer la variole au singe en enposant cet animal à l'air chargé de fines particules de croûtes desséchées; les voies respiratoires saines pourraient donc servir de porte d'entrée au virus.

L'inoculation intraveineuse peut donner lieu à une éruption généralisée. Varloment, après injection à la génisse de pus variolique dans les veines, obtint, dans trois cas, une éruption généralisée de papules nombreuses disséminées dans tout le corps; Berthet a obtenu une éruption généralisée après inoculation de lymphé variolique dans la jugulaire du cheval.

On voit donc que les deux portes d'entrée essentielles du virus



variolique sont la surface cutanée y compris les muqueuses épidermiques et la voie respiratoire. Les observations chez l'homme conduisent aux mêmes conclusions. L'inoculation variolique à la peau montre que la variolisation par cette voie est très facile et aboutit, si le virus est assez virulent, à une éruption généralisée. L'observation rapportée par Trousseau avec existence d'une pocken-master à la joue accompagnée de ses papules satellites et suivie d'une éruption généralisée doit faire admettre que pour la variole spontanée la porte d'entrée peut être à la peau. Il est rare toutefois d'observer la pustule d'inoculation au niveau des téguments. Il est bien plus vraisemblable que la porte d'entrée ordinaire est au niveau de l'appareil respiratoire. La démonstration en a été faite par Zuelzer chez le singe, et nos recherches qui mettent hors de doute l'existence de pustules varioliques pulmonaires précoces au niveau du poumon humain permettent de penser que dans la variole spontanée le virus apporté par l'air pénètre dans l'organisme par les poumons.

d) Résistance du virus. Le virus variolique résiste très longtemps à la dessiccation. Des fils imprégnés de virus demeurent actifs pendant plusieurs mois; des couvertures imprégnées de pus variolique demeurent virulentes pendant deux ans si on les garde pliées dans du papier, à l'ombre et au frais (Sunderland). Les croûtes conservent le plus longtemps la virulence: les Chinois gardent les croûtes enfermées dans des boîtes de porcelaine bouchées à la cire, avec leur virulence, pendant un temps extrêmement long; Weil les a gardé actives pendant deux ans. Il est donc juste et de la plus haute importance, au point de vue hygiénique, d'affirmer que le varioleux peut transmettre la variole tant qu'il élimine des croûtes. Dans certaines conditions la persistance de la virulence peut être encore bien plus considérable puisque des cadavres de varioleux exhumés après vingt ans ont pu transmettre la maladie (Grisolle).

Tyzzar et Brinckerhoff ont montré que le virus variolique ne résiste pas longtemps dans les milieux glycérolés; en cela il se rapproche du virus claveléux qui est tué par la glycérine ou ses dilutions.

e) Variations de virulence — Identité de la variole et de la vaccine. De même qu'on l'a nettement observé chez le mouton pour la clavelée, si, chez l'homme, on fait des passages successifs de virus variolique en prenant toujours, pour chaque passage, les cas la plus discrets, on arrive à n'avoir qu'une pustule d'inoculation, sans généralisation consécutive. Le maître-bouton se développe seul, entouré de ses vésicules satellites et il n'y a pas de maladie générale. Pour la clavelée, comme pour la variole, on aurait obtenu là un véritable vaccin, s'il s'agissait d'une atténuation fixe, définitive. Mais en réalité la sélection des pustules les moins virulentes n'a pas créé un vaccin car la pustule de clavelée ainsi atténuée (Pourquier) ne met les animaux sensibles à l'abri d'une éruption généralisée et de même l'inoculation du maître-bouton variolique atténué peut donner lieu, dans un passage suivant, à une variole généralisée grave.

Il semble toutefois que les passages successifs du virus variolique chez les bovidés puissent produire une atténuation non plus passagère mais fixe du virus et sa transformation en vaccin. Chauveau pensait que la papule produite chez le veau par le virus variolique n'avait aucune ressemblance avec la pustule de vaccine; mais nous avons vu que

Fischer et Haccius ont obtenu chez le veau, par inoculation de variole, de belles pustules ombiliquées ayant la plus grande ressemblance avec les pustules vaccinales. Il n'y aurait pas seulement une ressemblance morphologique des éléments éruptifs, mais Fischer et Haccius pensent que la variole inoculée au veau s'atténue et donne la vaccine et le virus variolique atténué évolue dès lors exactement comme la vaccine, gardant ses caractères après les passages les plus répétés d'animal à animal, d'animal à homme et d'homme à homme. Est-ce à dire cependant que cette transformation du virus variolique en un vaccin vrai entraîne nécessairement la transformation de ce virus variolique en virus vaccinal? Une objection sérieuse peut être faite à cette manière de voir: jamais chez l'homme même le moins réceptif, l'inoculation directe de variole n'a donné de vaccine et jamais les inoculations de vaccine n'ont donné de variole. En outre Collin a noté la réceptivité pour la variole de certains sujets réfractaires à la vaccine. Je dois ajouter que ces objections ne me paraissent pas fondamentales car étant bien forcé d'admettre que le virus variolique peut par passage chez certains animaux passer à l'état de vaccin variolique, on pourrait admettre que le virus vaccinal n'est pas un virus distinct mais n'est justement que du virus variolique ayant évolué spontanément chez un animal susceptible de l'atténuer: il ne serait donc dans tous les cas qu'un vaccin variolique de sorte qu'en inoculant le vaccin animal à l'homme on ne lui inoculerait en somme qu'un virus variolique définitivement atténué (vaccin-variolique). Mais si l'on admettait cette manière de voir il faudrait admettre également que le horse-pox n'existe pas en tant que maladie spéciale et qu'elle n'est qu'une variole évoluant chez le cheval non plus avec les caractères de vaccin-variolique mais de virus variolique susceptible de produire une éruption généralisée. Il faudrait donc que l'inoculation de horse-pox à l'homme produisit une variole typique ou tout au moins que l'inoculation de virus variolique produisit chez le cheval un horse-pox bien caractérisé. Or le fait que l'inoculation de lymphé variolique dans la jugulaire de cheval produit une éruption généralisée (Berthet) devrait faire examiner de très près la question à ce point de vue.

## 2° Recherche de l'agent virulent.

a) Siège intracellulaire du virus. Tous les microbes trouvés dans les lésions varioliques sont des microbes d'infection secondaire. Aucun de ceux qui ont été isolés et cultivés n'a pu reproduire la maladie. D'ailleurs, de même que pour la vaccine, l'ensemencement de la vésicule à son début ou l'ensemencement de la partie profonde (virulente) de la vésico-papule au 3<sup>o</sup> jour incisée aseptiquement par sa face postérieure demeure stérile.

Dans la variole inoculée il existe une période assez longue entre l'apparition de la papule d'inoculation et l'éruption généralisée: il faut admettre d'une part que le virus demeure localisé un certain temps dans le nodule d'inoculation et qu'il passe ensuite dans le sang. La localisation stricte du virus dans le nodule d'inoculation pendant plusieurs jours est démontrée expérimentalement par ce fait que le sang ne devient virulent que dans la phase terminale de la période prééruptive, c'est-à-dire la plus rapprochée de l'éruption généralisée.

Or le nodule d'inoculation à l'état de papule est uniquement composé de cellules fixes, surtout de cellules épithéliales, et quand le virus

passé dans le sang il se porte aux épithéliums soit de la peau, soit des organes. Le virus variolique, au même titre que le virus claveleux et le virus vaccinal, présente une affinité spéciale pour les cellules épithéliales. Mais il est attiré aussi par les cellules conjonctives car le nodule variolique, à partir du stade de vésico-papule, et surtout au stade de pustule, est formé autant par la prolifération des cellules conjonctives fixes (grandes cellules varioliques) que par la néoformation malpighienne et l'expérimentation nous a montré que les parties profondes purement conjonctives sont douées d'une virulence non moins grande que celle des parties superficielles. On ne peut pas dire que la virulence de la prolifération conjonctive soit due à son imbibition par la lymphe puisque nous savons que la partie liquide est bien moins active que la partie solide et que les proliférations varioliques sont douées d'une virulence d'autant plus prononcée qu'elles sont plus rapprochées de leur début et par suite dépourvues de lymphe.

La structure de l'élément variolique, comme de l'élément claveleux ou vaccinal, est en rapport avec une néoformation de cellules fixes et de type néoplasique. Cette réaction cellulaire spéciale avec limitation du virus à son étendue est une preuve indéniable des relations étroites qui existent entre ce virus et les modifications cellulaires. Or l'étude histologique des cellules de la prolifération variolique nous a montré [comme nous l'avons déjà bien mis en lumière pour la clavelée (1901) et la vaccine (1902)] que ces cellules sont des cellules néoplasiques, c'est-à-dire des cellules malades, qui ne sont pas tuées et nécrosées d'emblée, mais qui présentent une excitation de leur nutrition caractérisée par une hypertrophie avec transformation claire du protoplasma et qui ne s'épuisent et ne dégèrent qu'après une période relativement longue de suractivité. Ces lésions cellulaires du nodule claveleux, vaccinal ou variolique sont très exactement celles qui se produisent sous l'influence du développement de parasites vrais à évolution intracellulaire et en particulier des protozoaires. Leuckart, Chatin, Schaudinn, Siedlecki, Laveran et Mesnil ont fait voir que des cellules parasitées par une coccidie ou une grégarine présentent d'abord un état d'hypernutrition avec hypertrophie suivi d'une hypertrophie claire colossale, d'une vacuolisation du protoplasma et qui aboutit, lorsque le parasite est arrivé à sa phase terminale de développement intracellulaire, à la dégénérescence et à la mort. De même que pour les cellules des proliférations varioliques, claveleuses ou vaccinales, le noyau des cellules habitées par un protozoaire, surtout pathogène, s'hypertrophie, subit une distension vésiculaire avec condensation de la chromatine, étalement et disparition du nucléole. Dès 1898 [Le Cancer. Paris (Naud) 1898] en étudiant les lésions déterminées par des sporozoaires pathogènes, en particulier par *Coccidium oviforme*, j'avais signalé (67<sup>bis</sup>) non seulement la lésion papillomateuse des conduits biliaires et l'hypertrophie claire progressive des cellules, mais encore la prolifération très active des cellules épithéliales biliaires qui peuvent se tasser sur 6 et 8 rangées superposées et subissent, au fur et à mesure, une hypertrophie claire volumineuse, une plasmolyse avec vacuolisation et une dégénérescence granuleuse avec destruction consécutive, chacune de ces lésions étant bien nettement en rapport avec les divers stades de l'évolution intracellulaire du parasite. Je montrais également que *Coccidium oviforme* peut donner naissance du côté de l'épiderme à des proliférations malpighiennes avec hypertrophie claire

progressive, transformations kératique ou kérato-colloïde, désorientation et formation de sphérules épidermiques. Depuis lors j'ai pour-suivi très attentivement cette étude des lésions cellulaires déterminées par les sporozoaires pathogènes. J'y reviendrai longuement dans mon prochain mémoire sur le cancer. Je dirai simplement ici que dans des cas particulièrement remarquables de coccidiose du foie du lapin ayant abouti à la formation de véritables tumeurs intrahépatiques, j'ai pu suivre non seulement le développement d'adénomes papillomateux biliaires de grand volume dont chaque cellule était parasitée, mais encore étudier des adénomes et des adéno-épithéliomes biliaires, à cellules cylindriques, à inclusions parasitaires rares et invisibles et d'adénoépithéliomes d'origine trabéculaire. Dans ces derniers cas, les cellules hépatiques avaient subi une hypertrophie claire colossale.

J'ai montré encore que l'inoculation de spores de *Monocystis* du Lombric dans le testicule du cobaye détermine des proliférations cellulaires épithéliales et conjonctives, de même ordre et bien en rapport avec la présence et l'évolution intraprotoplasmique d'un parasite (Compt. rend. soc. biol. 1902. 24 mai).

Nous sommes donc en droit de penser que les lésions varioliques sont, au même titre que celles produites dans les coccidioses, sous la dépendance d'un parasite vrai intracellulaire. La présence dans les cellules des lésions varioliques de corps susceptibles d'être interprétés comme parasites devait être considérée comme d'autant plus probable que les mêmes raisons nous avaient permis de trouver et de décrire, dans la clavelée ou variole du mouton, et aussi dans la vaccine, des formations que nous avons interprétées comme des parasites (103, 106).

Les inclusions parasitaires de la variole: structure, types évolutifs. Renaut (23) a le premier décrit dans le protoplasma des cellules malpighiennes en transformation cavitaire, des corps globuleux, sphériques et brillants auxquels van Loëff (27) attribua des mouvements amiboïdes. Guarnieri en étudia la forme et la structure et décrivit des corps cocciformes et des corps mûrifformes, les premiers présentant des mouvements amiboïdes et une multiplication par scission ou par mitose (36, 54). Monti (59) retrouve les mouvements amiboïdes, de même que Clarke (52, 56, 58) qui décrit une structure plus précise et en particulier des divisions nucléaires et que Vasielewsky (61) qui indique un mode de reproduction par sporulation. Il est très difficile de se prononcer sur la nature des corpuscules décrits par Roger et Weil (68, 73) dans les pustules varioliques et qui existeraient aussi dans le sang, la rate, la moëlle osseuse. Quant aux spores libres et aux kystes de Funck (78), identiques à ceux que ce même auteur a décrits dans la vaccine, nous avons vu que pour la variole comme pour la vaccine (106) ces kystes représentent des leucocytes vésiculés ou des cellules utriculaires globuleuses kystiformes ou encore des cellules sébacées. Doehle (38) et Weber ont vu, dans le sang, des corpuscules ronds, verdâtres, très mobiles, les uns très petits, d'autres plus gros à granulations disséminées et Doehle aurait même constaté l'existence d'un cil vibratile qui ferait rentrer ces parasites de la variole parmi les parasites ciliés à mouvements rapides.

Nous n'avons eu connaissance des recherches de Councilman (92)

et du travail de Calkins (93) sur les parasites de la variole qu'en 1904 et grâce à l'envoi gracieux que ces auteurs ont bien voulu nous faire de leurs publications. A ce moment, nos recherches étaient déjà terminées et nous avons publié leurs résultats essentiels avec figures à l'appui (Compt. rend. soc. biol. 1903. 17 octobre). Comme mes descriptions des inclusions se rencontrent sur beaucoup de points avec celles de Councilman et de Calkins, quoique entreprises et continuées d'une façon tout à fait indépendante, elles retireront de ce fait une importance bien plus grande et en recevront la valeur d'une vérification réciproque. Je suis heureux que mes descriptions coïncident pour une bonne part avec celles d'un zoologiste qui, comme Calkins, a une connaissance approfondie des protozoaires. D'ailleurs toutes mes recherches depuis l'année 1898 se tiennent étroitement et il est facile de se rendre compte que depuis la publication de mes recherches sur les parasites de la clavelée, de la vaccine de la variole (Arch. de méd. sc. 1901. Mai; Compt. rend. soc. biol. 1902 à 1904; Centralbl. f. Bakt. etc. 1903 et 1904), mes études sur les lésions générales et les parasites de la vaccine, de la variole et du cancer (16<sup>bis</sup>, 99, 102, 103), en représentent le développement logique et régulier et qu'elles ne doivent rien à personne.

**Recherches personnelles.** Dans les cellules de la prolifération variolique on trouve, dans le protoplasma, des inclusions de même ordre que celles que nous avons décrites pour la clavelée et surtout pour la vaccine: elles sont identiques par leur forme, leurs réactions colorantes, leur structure, leur évolution, de même que par leur siège dans la cellule et par le rapport qui existe entre leur développement et la marche des lésions de la cellule-hôte.

Ces inclusions existent dans tous les foyers varioliques virulents, mais elles ne sont pas uniquement enfermés dans le protoplasma; nous verrons qu'il existe des inclusions à développement intranucléaire. Celles-ci aboutissent à des figures qui ont la plus grande analogie avec des formations kystiques et parfois kystiques sporulées, de façon à prendre l'aspect d'un stade sporogonique, tandis que les formes intraprotoplasmiques présenteraient les caractères d'un stade schizogonique. Mais autant ces formes schizogoniques sont universelles, car on les trouve dans toutes les lésions varioliques, autant les formes intranucléaires sont rares puisque nous n'avons pu les observer que deux fois. Cette rareté est un argument en faveur de leur nature parasitaire. D'autre part, il existe un lien étroit entre les inclusions intraprotoplasmiques et les inclusions intranucléaires, celles-ci pouvant siéger dans le protoplasme ou donner naissance à des formations intraprotoplasmiques. Comme les formations intraprotoplasmiques doivent, pour nous, être interprétées bien réellement comme une évolution schizogonique, il s'en suivrait que les formations intranucléaires devraient aussi être considérées comme des parasites et représenteraient un stade sporogonique. (Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die zur Vertilgung von Ratten und Mäusen benutzten Bakterien.

Von L. Bahr, Kopenhagen.

### I.

Ratten sind bekanntlich äußerst widerstandsfähig gegen Bakterieninfektionen, Infektionen mit dem Pestbacillus ausgenommen. Ansteckende Krankheiten bei Mäusen sieht man häufiger; die Maus ist ja aber auch für die meisten Infektionen sehr empfänglich.

Die Bakterien, die als Mittel zur Vertilgung von Ratten und Mäusen praktische Anwendung gefunden haben, gehören sämtlich zur Coli-

Typhusgruppe und erregen Enteriten verschiedenen Charakters, wie auch Septikämie. Zur Bekämpfung der Mäuseplage wandte Loeffler (1) seinerzeit in Thessalien einen Bacillus an, den er bei einer ansteckenden Krankheit unter seinen Versuchsmäusen gefunden hatte; dieser Bacillus ist später an vielen Orten geprüft worden und gab fast überall, wo man virulente Kulturen auf rechte Weise anwandte, guten Erfolg. Der *Bacillus typhi murium* tötete mit Sicherheit die Feldmaus, erwies sich dagegen nicht als sicher tödlich für die gewöhnliche graue Hausmaus, die Rotmaus und die Wasserratte. Die Waldmaus erwies sich als fast unempfindlich, und die Brandmaus war gegen diese Infektion immun; Ratten ließen sich nicht infizieren (2). Es zeigte sich, daß der Bacillus, ebenso wie die unten besprochenen, für den Menschen und die gewöhnlichen Haustiere relativ unschädlich war, wo es sich nicht um ganz junge Individuen handelte; Milchkälber (3) z. B. waren empfänglich.

1892 fand Laser (4) einen Bacillus, dessen Wirkung im großen und ganzen der des Mäusetyphusbacillus glich. In demselben Jahre fand Mereschkowsky (5) bei einer ansteckenden Krankheit unter Zieselmäusen (*Spermophilus murium*) ebenfalls einen kleinen ovalen Bacillus, der mit Erfolg zur Bekämpfung der Zieselmäuse in Anwendung kam, welche oft stellenweise in Rußland eine große Plage sind.

Gegen diesen Bacillen sind Ratten immun. Behufs der Vertilgung dieser Nagetiere, die ja oft nicht nur in ökonomischer, sondern auch in sanitärer Beziehung (z. B. durch Uebertragung ansteckender Krankheiten auf den Menschen und die Haustiere) eine bedeutende Rolle spielen können, sucht man seit langem Bacillen zu ermitteln, die auf Ratten dieselbe Wirkung haben könnten, wie der Mäusetyphusbacillus auf Mäuse. Bis jetzt ist dies jedoch nicht gelungen, indem die unten zu besprechenden Bakterien allerdings angewandt worden sind und noch angewandt werden, oft zwar mit gutem Resultate, ihre Wirkung sich indes nicht mit dem mittels des Mäusetyphusbacillus erzielten Erfolge vergleichen läßt. Dies steht wohl zum Teil damit in Verbindung, daß Ratten gegen Infektionen sehr widerstandsfähig sind; zugleich ist es hierbei aber sicherlich von großer Bedeutung, daß Mäuse einander leicht anstecken, was bei Ratten nicht so leicht geschieht, da letztere nicht so begierig wie Mäuse ihre toten Kameraden fressen; auch machen sich andere Momente geltend, die wir später hervorheben werden.

Die rattenötenden Bacillen, die in der Praxis angewandt wurden, sind folgende:

1) Der Danysz-Bacillus, gefunden von Danysz (6) (Paris) während einer Epidemie unter Feld- und Waldmäusen in Charny en Seine et Marne. Dieser Bacillus erwies sich als bei Verfütterung für alle Mäusearten pathogen, während er anfangs für Ratten nur wenig pathogen war. Indem man den Bacillus Mäuse- und Rattenkörper passieren ließ (Kollodiumsäckchen), gelang es, demselben so gesteigerte Virulenz zu geben, daß er — bei Verfütterung — für Ratten jetzt äußerst virulent war. Versuche mit diesem Bacillus als Vertilgungsmittel gaben im großen und ganzen ein befriedigendes Resultat an 50 Proz., Verminderung an 30 Proz. und negatives Resultat an 20 Proz. der Versuchsorte. Danysz' Versuche zeigten ferner, daß der Bacillus durch fortgesetztes Passieren durch Ratten gradweise abgeschwächt wurde, so zwar, daß die 2. und 3. Generation sich im Besitze gesteigerter Virulenz erwies, die darauf allmählich abnahm, so daß der Bacillus nach der 5.—6. Passage oft schwach oder avirulent wurde und seine 10.—12. Generation stets avirulent erschien.

Der Bacillus erregte Enteritis und Septikämie und tötete bei Verfütterung die Ratten nach 6—12 Tagen, selten nach Verlauf längerer Zeit. Es war dies ein kleiner ovaler Bacillus, von welchem Danysz behauptete, er färbe sich nach Gram, welche Behauptung dieser Forscher später als irrig zurücknahm, indem der Bacillus sich bei dieser Methode im Gegenteil entfärbt. Mit gutem Resultate unternahm Bronstein (7) Versuche mit dem Bacillus. Er kam ebenfalls zu dem Ergebnisse, daß derselbe durch die Passage durch Ratten geschwächt wird, und meint, man müsse den Bacillus fortwährend an grauen und braunen Ratten prüfen, bevor man ihn benutzen könne, da Kulturen, die für weiße Ratten hochvirulent seien, auf graue oder braune nur schwach wirkten, und zugleich fand er, was meiner Ansicht nach von großem Interesse ist, daß eine Kultur auf Ratten aus verschiedenen Gegenden verschiedene Wirkung hatten, so daß man ein besseres Resultat erzielte, wenn man den Bacillus durch Ratten aus der betreffenden Gegend passieren ließ, um auf diese Weise einen „akklimatisierten“ Bacillenstamm zu erhalten. Kister und Köttgens (8) Versuche zeigen mit Bezug auf die Abschwächung durch Ratten hindurch dasselbe Resultat. Nach der 9.—10. Passage ist der Bacillus für Ratten durchaus avirulent, und Verfütterungsversuche an Mäusen führten zu demselben Ergebnisse. Abels (9) Versuche sprechen ebenfalls zu Gunsten des Danysz'schen Bacillus, während Markl (10) mehr skeptisch ist und meint, der schnelle Verlust der Virulenz durch das Passieren durch Ratten rühre davon her, daß dieser Bacillus eigentlich nur ein Schmarotzer der Maus sei, den man auf „künstliche“ Weise für Ratten virulent gemacht habe. Indes hält er den Bacillus für ein brauchbares Mittel. Klein und Williams (11) und Krauss (12) erhielten dagegen ein völlig negatives Resultat, und Rosenau (13), der 115 Ratten mit Kultur in großen Mengen fütterte, tötete nur 46 derselben. Man meint, daß der Grund dieser verschiedenen Resultate in schwankender Virulenz zu suchen sei; ich glaube indes, daß die Sache sich auch in einem anderen Lichte sehen läßt, worauf ich später zurückkommen werde.

2) Issatschenkos Bacillus. Diesen fand Issatschenko (14) bei der Untersuchung einer spontan gestorbenen Ratte. Namentlich in Rußland hat man diesen Bacillus in großem Maßstabe und an vielen Orten mit günstigem Erfolge versucht. Unter 443 gefütterten Ratten starben in Laboratorienversuchen 431 nach durchschnittlich 10 Tagen. In der Praxis gaben 70 Proz. der Orte ein günstiges Resultat.

Unter anderen Bacillen, die in Krankheitsfällen bei Ratten gefunden wurden, nenne ich folgende, die jedoch nicht zur praktischen Anwendung gekommen sind. Im Jahre 1900 fand C. Schilling (15) während einer Krankheit unter den Versuchsratten in den Versuchsställen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes eine Krankheit, welche anfangs hauptsächlich die jungen Tiere angriff; die Tiere bekamen Enteritis und Septikämie und starben nach Verlauf von 2 oder mehreren Tagen. Die Sektion ergab zugleich, daß die Lungen oft in hohem Grade angegriffen waren. Er unterscheidet deshalb zwischen einer akuten und einer chronischen Krankheit. Die akute ist zunächst eine Enteritis, die chronische zeichnet sich durch Veränderungen der Lungen aus. Aus dem Blute und den Organen erhielt er Reinkultur eines ovalen Bacillus, der zunächst zur Coli-Typhusgruppe zu zählen ist, und den er den „Bacillus pneumoenteritidis murium“ nannte. Der Bacillus verlor indes ziemlich

schnell seine Virulenz, und kam deshalb in der Praxis nicht zur Anwendung.

M. Tartakowsky (16) untersuchte eine bei weißen und bunten Ratten auftretende suppurative Bronchopneumonie; er fand als deren Ursache einen kleinen, ovalen Bacillus und glaubt, es sei dieselbe Krankheit, die Schilling früher beschrieben hat. Bei fortgesetzter Impfung steigerte sich die Virulenz etwas; es gelang aber nicht, eine so beträchtliche Steigerung zu erzielen, daß der Bacillus in der Praxis zur Bekämpfung der Rattenplage anwendbar gewesen wäre.

Endlich werde ich hier einen Bacillus näher besprechen, der in der jüngsten Zeit als Mittel zur Vertilgung von Ratten und Mäusen zur Anwendung gekommen ist, den „Ratinbacillus“ nämlich, der 1903 vom cand. Jolyt. G. Neumann in Aalborg gefunden wurde. Nach den mir von Herrn Neumann zugestellten Mitteilungen isolierte er den Bacillus aus dem Harn eines 2-jährigen Kindes, das an einer Cystitis litt, später aber völlig genas. Aus dem Harn, der in sterilen Gläsern angesammelt Herrn Neumann von einem Arzte zugestellt wurde, wurden Plattenkulturen angelegt, und auf den Platten erschienen verschiedene Bakterienkolonien, teils Kolonien eines Streptococcus und teils Coli-ähnliche Kolonien. Die Coli-ähnliche Form erwies sich — nach Neumann — ebenso wie Danysz' Bacillus anfangs nur sehr wenig virulent gegen Ratten, während Mäuse durch Verfütterung mit Kultur getötet wurden. Durch Injektion von Kultur in Ratten gelang es ihm, die Virulenz so zu steigern, daß der Bacillus darauf gegen Ratten sehr virulent war. Es erwies sich auch, daß der Bacillus sowohl gegen Ratten als gegen Mäuse höchst virulent war, als ich — auf Verlangen — in demselben Jahre eine Reihe von Fütterungsversuchen anstellte. Nach Verlauf eines Jahres wurde der Bacillus mir wieder zu näherer Untersuchung zugestellt, und unten werde ich die von mir angestellten Versuche näher erörtern. Die Verhältnisse ergaben bald, daß die Sache komplizierter ist als anfänglich angenommen, weshalb meine Versuche bis jetzt auch nur als zum Teil abgeschlossen zu betrachten sind.

Bevor ich mich näher auf diese Versuche einlasse, werde ich indes einige vergleichend-biologische Untersuchungen mitteilen, die ich über die mir zu Gebote stehenden Rattenbacillen und über den Mäusetyphusbacillus angestellt habe, um genauer zu bestimmen, wo diese Bacillen im System anzubringen sind, und zugleich, um zu erfahren, ob sie einander näher oder ferner stehen. Die Bacillenformen, die ich untersuchen konnte, sind folgende: Danysz' Bacillus (direkt aus dem Institut Pasteur in Paris bezogen), Issatschenkos Bacillus (den Dr. phil. Raebiger, Vorsteher der bakteriologischen Abteilung der Landwirtschaftskammer, Halle a. S. mir gütigst überließ); aus der bakteriologischen Abteilung der St. Petersburger Landwirtschaftsakademie erhielt ich ferner die Bouillonkultur eines Bacillus, der in Rußland unentgeltlich ausgeteilt wird, um Ratten und Mäuse zu bekämpfen, aus Stockholm erhielt ich Kulturen eines Bacillus, den Dr. Levin isoliert und Ratts genannt hat. Endlich isolierte ich aus einer angekauften kranken Ratte einen Bacillus, der anfangs für Ratten pathogen war, seine Virulenz aber bald verlor. Des Vergleichens wegen nahm ich noch den *B. typhi murium* mit (Král).

Morphologie. Diese Bacillen bieten sämtlich keine morphologischen Abweichungen untereinander dar. Sie sind ovale, Coli-ähnliche Stäbchen, die sich oft nur an den Enden färben lassen und sich nach Gram entfärben; sie bewegen sich leicht mittels einer größeren



Anzahl langer Geißelfäden, die am ganzen Bacillenkörper angebracht sind. Sporen bilden sie nicht.

Biologie. Sie wachsen auf den meisten der gewöhnlich angewandten Nährböden, langsamer bei gewöhnlicher Temperatur, am besten bei etwa 37° C.

Gelatine wird nicht verflüssigt; es bilden sich große, runde oder ein wenig zackige, weiße Kolonien, oft mit Perlmutterglanz; die Kolonien sind einander ähnlich. Dasselbe ist mit dem Wachstum und den Kolonien auf Agar der Fall. Auf Kartoffeln wachsen sie bald schwach braun gefärbt, bald dem Typhusbacillus ähnlich, je nach der Sorte der Kartoffeln. Bouillon trüben sie, und nach Verlauf einiger Tage bilden sie (besonders in alkalischer Bouillon) Häutchen an der Oberfläche. Nach längerem Stehen im Thermostaten sinken die Bacillen zu Boden, so daß die obenstehende Flüssigkeit klar wird. Auf Serum wachsen sie langsamer und bilden hier einen trockenen, weißlichen Belag. Keine der Formen koaguliert Milch; diese bleibt längere Zeit hindurch (bei 37° C) unverändert; nach Verlauf von 14—21 Tagen wird die Milch molkenähnlich durchscheinbar und deutlich alkalisch. Untersuchen wir ihr Gärungsverhalten zur Glykose, Laktose und Saccharose, so erweist es sich, daß diese Bacillen zur Typhus-Coli-Gruppe gehören, welche Th. Smith bekanntlich in folgende 3 Unterabteilungen teilt:

1) die Typhusgruppe, die sich dadurch auszeichnet, daß sie kein Gas erzeugt, die Laktose nicht vergärt und Milch nicht koaguliert;  
 2) die Schweinepestgruppe. Diese Formen entwickeln Gas, vergären jedoch die Laktose nicht, während

3) die Coligruppe im stande ist, diese Zuckerart (Laktose) zu vergären, und sich wieder teilen läßt in

Gruppe a) welche die Saccharose nicht spaltet, und

Gruppe b) welche die Saccharose zu spalten vermag.

Prof. C. O. Jensen, dessen Versuche über diese Gruppe wohl die umfassendsten sind, teilt die Typhus-Coli-Gruppe, indem er die vier Zuckerarten: Glykose, Maltose, Laktose, Saccharose zur Unterscheidung der Gruppen benutzt, auf folgende Weise ein:

	Glykose	Maltose	Laktose	Saccharose
Gruppe A	0	0	0	0
" B	S	0	0	0
" C	S + L	0	0	0
" D	S	S	0	0
" E	S + L	S + L	0	0
" F	S	S	S	0
" G	S + L	S + L	S + L	0
" H	S	S	S	S
" I	S + L	S + L	S + L	S + L

Untersuchen wir jetzt das Verhalten der genannten Bacillen gegen diese Zuckerarten, so erweist es sich, daß sie sämtlich im stande sind, Glykose und Maltose unter Gas- und Säurebildung zu spalten, während sie weder Laktose noch Saccharose zu vergären vermögen. Wir können sie deshalb sogleich in die Gruppe E einordnen, sondern sie mithin scharf von der Gruppe D, zu welcher der Typhusbacillus gehört, indem diese nur unter Säurebildung Glykose und Maltose zu spalten vermag, jedoch nie Gas entwickelt.

Betrachten wir nun näher, welche anderen Formen zur Gruppe E zu zählen sind, so finden wir (nach Prof. C. O. Jensens Untersuchungen), daß außer anderen Formen auch die sogenannten Paratyphusbacillen hierzu gehören. Eine große Reihe von Untersuchungen (17) ergab, daß man diese Bacillen in Untergruppen teilen kann, wenn man sie sondert nach ihrer Gärungsfähigkeit gegen Sorbose, Arabinose, Xylose, Dulcitol und Adonit und ihrer Fähigkeit, Ammoniakverbindungen zu benutzen, indem eine frühere Reihe Untersuchungen von C. O. Jensen (18) dargetan hat, daß mehrere Formen der Gruppe E nicht im stande sind, den Stickstoff der Ammoniak- und Amidverbindungen zu benutzen, sondern darauf angewiesen sind, von Albumosen und Peptonen zu leben<sup>1)</sup>, während andere ebensogut oder besser in Lösungen von Ammoniaksalzen oder in Amidverbindungen gedeihen; unter fernerer Berücksichtigung des Verhaltens der Milchkultur und des Wachstums auf Gelatine wurden die Paratyphusbacillen folgendermaßen eingeteilt:

	Ammoniak	Milch	Sorbose	Arabinose	Xylose	Dulcitol	Adonit	Wachstum auf Gelatine
Ia	kein Wachstum	unverändert	0	S + L	0	S + L	0	grünlich, trocken
Ib	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	weiß, feucht
II	do.	Alkali	0	S + L	0	S + L	0	grünlich, trocken
IIIa	do.	do.	0	S + L	S + L	S + L	0	do.
IIIb	do.	do.	0	S + L	S + L	S + L	0	weiß, feucht
IV	Wachstum	do.	0	S + L	S + L	S + L	0	do.
V	do.	do.	0	0	S + L	0	0	do.
VI	do.	do.	0	S + L	S + L	0	0	grünlich, trocken
VII	do.	Koagul. Ferment	S + L	S + L	S + L	S + L	S + L	do.

Untersuchen wir das Verhalten der Rattenbacillen gegen Sorbose, Arabinose, Xylose, Dulcitol und Adonit, so finden wir, daß sie sämtlich Arabinose, Xylose und Dulcitol zu spalten vermögen, während sie nicht im stande sind, Sorbose und Adonit zu vergären, ferner, daß sie alle in Ammoniakverbindungen vorzüglich gedeihen. Die Milchkultur wurde oben erwähnt: nach Verlauf von 2—3 Wochen bilden sie sämtlich Alkali. Das Wachstum auf Gelatine ist weiß und feucht. Sie verhalten sich also wie obenstehende Untergruppe IV. Nach Prof. C. O. Jensens Untersuchungen gehören hierzu die Paratyphusformen, die von folgenden Forschern beschrieben wurden: von Korte, Achard und Bensaude, Schottmüller B., Saarbrücken, Kurth und Lucksch. Außerdem folgende Formen der Gruppe E: ein Bacillus aus einer Quarkkäsevergiftung, Bacillen aus Fleischvergiftungen in 1) Breslau (Kaensche), 2) Posen (Günther) und 3) Gaustad (P. Holst), Bacillen aus einem Falle der Enteritis membranosa bei einem Kalbe, Bacillen aus einem Ausbruch der Schweinepest in Deutschland und endlich der

1) Zu diesen Untersuchungen bedient man sich am zweckmäßigsten einer angemessenen Salzlösung, die man am besten erhält, wenn man Cibils-Bouillon eindampft und glüht, so daß nur die Salze zurückbleiben. Diese werden in destilliertem Wasser gelöst in demselben Verhältnisse, in welchem sie in der Cibils-Bouillon vorkommen, und dieser Lösung werden darauf die zu prüfenden Ammoniak- und Amidverbindungen zugesetzt.

Bacillus der französischen Psittacose. Die Frage ist nun: können wir diese Bacillen wieder voneinander unterscheiden, oder sind sie sich völlig gleich?

Eine Untersuchung ihres Gärungsverhaltens gegen andere Zuckerarten und polyvalente Alkohole führt zu keiner fernerer Sondernung der Formen, indem die Gärungsfähigkeit die nämliche ist gegen Rhamnose (S + L), Mannose (S + L), Glycerin (geringe Säurebildung), Galaktose (S + L), Fruktose (S + L), Sorbit (S + L) und Erythrit (0); alle Rattenbacillen und der Mäusetypusbacillus verhalten sich auf dieselbe Weise. — Prof. C. O. Jensen äußert in seiner Abhandlung über die Paratyphusbacillen, er bezweifle nicht, daß diese sich noch weiter unterscheiden ließen, nämlich wenn man ihr Gärungsverhalten gegen organische Säuren prüfte. Um die zur Untergruppe IV gehörenden Formen näher zu bestimmen, habe ich nun — auf Grundlage einer Reihe Untersuchungen von Prof. Jensen (18) — eine Reihe vergleichender Untersuchungen über das Verhalten derselben gegen Zitronensäure, Bernsteinsäure, Aepfelsäure, d-Glukonsäure, Zuckersäure, Schleimsäure und Traubensäure angestellt. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß der Cibils-Bouillon 1 Proz. der genannten Säuren zugesetzt wurde, worauf Neutralisation mittels verdünnten Ammoniakwassers bis zu einem ganz bestimmten Titer (Indikator Phenolphthalein) stattfand. Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß die zur Untergruppe IV gehörenden Formen sich noch ferner sondern lassen, wie untenstehendes Schema zeigt (+ bedeutet Spaltung der Säure; 0 keine Spaltung).

	Glukon- säure	Schleim- säure	Zucker- säure	Zitronen- säure	Traubensäure	
a	+	+	+	0	+	Holst. Quarkkäsevergiftung, Psittakose. Enteritis membranosa (Kalb)
b	+	+	+	+	0	Die zur Gruppe IV gehörenden Paratyphusbacillen. Der Danysz-Bacillus
c	+	+	+	+	+	Die übrigen Rattenbacillen, der Mäusetypusbacillus, 4 Fleischvergiftungen, 1 Schweinepestform

Ferner untersuchte ich, inwieweit die Formen verschiedene Fähigkeit besaßen, die Säuren auszunutzen (d. h. inwieweit sie fähig waren, in einer angemessenen Salzlösung zu wachsen, der ich außer den genannten Säuren noch folgende zusetzte: i- und l-Milchsäure, Weinsäure, Glycerinsäure und Harnsäure). Was die zu a gehörenden Formen betrifft, so sind der Psittakose- und der Kälberenteritisbacillus, dagegen aber nicht der Bacillus der Quarkkäsevergiftung, im stande, glukonsaures Ammoniak auszunutzen. Unter den zu b gehörenden Bacillen weichen Schottmüller B und Saarbrücken scharf von den übrigen ab, indem sie in Ammoniaksalzen nur schlecht wachsen; der Bac. Saarbrücken vermag nur die Bernsteinsäure auszunutzen, der Bac. Schottmüller B. außer dieser Säure auch die l-Milchsäure, Aepfelsäure, Zuckersäure und Schleimsäure; letztere kann die Glukonsäure nur in geringem Grade und die Zitronensäure oder die i-Milchsäure gar nicht ausnutzen. In c unterscheidet sich einer der Fleischvergiftungsbacillen (Gaustad) von den übrigen und überhaupt von allen anderen zur Untergruppe IV ge-

hörenden Bacillen dadurch, daß er in traubensaurem Ammoniak vorzüglich gedeiht, was keiner der übrigen vermag.

Folgende diagnostische Mittel, die Indolbildung und die Agglutination, erwähnte ich bisher noch gar nicht, und die Kartoffelkultur nur ganz flüchtig. — Die Indolreaktion ist zu unzuverlässig, um sich anwenden zu lassen, indem die Bildung des Indols von dem benutzten Pepton abhängt (Witte, Nährstoff Heyden u. s. w.), und die Kartoffelkultur variiert mit der gebrauchten Kartoffelsorte; diese Proben sind deshalb ohne Bedeutung, wenn es sich um so kleine Verschiedenheiten, wie die hier in Frage stehenden handelt. Dasselbe gilt bis zu einem gewissen Grade von der Agglutination, indem ferner stehende Bacillen bekanntlich oft von einem Serum agglutiniert werden, welches näherstehende Formen nicht agglutiniert. Ich stellte dennoch eine Reihe Versuche an, teils mit Typhusserum (der Ziege), teils mit Schweinepestserum, Mäusetyphusserum (der Ziege) und Ratinserum (des Pferdes). Nach meinen Versuchen ist das Typhusserum im stande, Ratin, Ratts und Danysz' Bacillus schwach zu agglutinieren, die anderen zu dieser Gruppe gehörenden Paratyphusbacillen aber nicht und ebensowenig den Mäusetyphusbacillus. Das Schweinepestserum agglutiniert alle Paratyphusbacillen stark (den Bac. Saarbrücken etwas schwächer,  $\frac{1}{100}$ ), auch den Bac. Danysz, aber nur schwach; dagegen keinen der anderen Rattenbacillen und auch nicht den Mäusetyphusbacillus. Das Mäusetyphusserum agglutiniert die meisten Paratyphusbacillen dieser Gruppe stark, Rattenbacillen aber gar nicht, den Mäusetyphusbacillus dagegen natürlich stark. — Endlich war es auffallend, daß mein Ratinserum nicht im stande war, die Paratyphusbacillen und den Mäusetyphusbacillus zu agglutinieren, während sämtliche Rattenbacillen in einer Verdünnung  $\frac{1}{1000}$  stark und ziemlich schnell agglutiniert wurden.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist also, daß die Rattenbacillen und der Mäusetyphusbacillus sich äußerst ähnlich sind und sich nebst einzelnen anderen Formen den Paratyphusbacillen anschließen, von denen sie sich jedoch unterscheiden lassen.

## II.

Füttert man graubraune Ratten (*Mus decumanus*) mit „Ratinkultur“, so erhält man folgendes Krankheitsbild, das natürlich nicht wenig variiert. Während der ersten Tage fehlt der Ratte anscheinend nichts, sie ist lebhaft, munter, frißt und trinkt gut; darauf wird sie weniger lebhaft, liegt zusammengekauert und mag sich nicht bewegen. Die Mattigkeit nimmt zu, das Tier schnauft, seine Haare stehen empor, und gewöhnlich stirbt es nach Verlauf von 8—14 Tagen an den Folgen der Septikämie. Der Tod kann früher (am 3.—4. Tage) oder später (nach 3 Wochen) eintreten, die obengenannte Zeit ist aber die gewöhnliche. Bei der Sektion sieht man ein sehr verschiedenes Bild. Das Peritoneum ist meistens stark rot, und häufig findet man einen fibrinösen Belag, der zuweilen die Därme aneinander lötet. Die Schleimhaut des Darmes ist oft stark rot, nicht selten sieht man Petechien, der Inhalt des Darmes ist gewöhnlich dünn, gelb, gashaltig oder hämorrhagisch, oft mit krupösem Exsudat vermischt. Darmulcera sieht man sehr selten. Der Magen ist oft ziemlich aufgebläht, der Inhalt vergärt, stinkend. Die Milz ist meistens sehr angeschwollen. Im Milzsaft sind die Bacillen gewöhnlich mikroskopisch zu sehen, sie liegen oft je zwei zusammen oder zu kleinen Häufchen angesammelt. Stiche aus der Milz geben fast immer Wachstum. Den Harn untersuchte ich in 15 Fällen; in sämtlichen war derselbe

klar, hellgelb und enthielt schwankende, doch nicht besonders große Mengen von Eiweiß. Aus dem Harn konnte ich in keinem dieser Fälle Ratinbacillen nachweisen, weder mittels mikroskopischer Untersuchung noch durch Aussaat<sup>1)</sup>. Die Nieren sind oft groß, hyperämisch, zuweilen (ziemlich selten) sieht man an der Oberfläche Petechien. Die Lungen sind in der Regel normal, doch sieht man häufig kleine Blutungen. In einzelnen Fällen sind sie jedoch angegriffen, entweder einzelne Lappen oder auch beide Lungen; was man sieht, sind gewöhnlich bakterielle Nekrosen oder größere und kleinere Abscesse. Diese Abscesse können aber groß werden (so habe ich erbsen- bis haselnußgroße oder noch größere beobachtet, die dann stark prominieren und das Lungengewebe komprimieren) und enthalten eine sehr schleimige, weißliche Eitermasse, in der man ein Gewimmel von Ratinbacillen sieht. Das Blut ist in der Regel nicht koaguliert, und meistens läßt sich der Bacillus aus demselben züchten — in einzelnen Fällen gelang dies jedoch nicht. Die genannten Veränderungen der Lungen bemerkt man fast immer nur bei denjenigen Ratten, die nach Verlauf längerer Zeit (3 Wochen) sterben, können aber auch — obschon selten — bei Ratten vorkommen, die verhältnismäßig schnell sterben. So sah ich Beispiele, daß die Lungenaffektion 6—8 Tage nach der Verfütterung mit Ratin auftrat. Man kann also sondern in

I. eine akut verlaufende Infektion, zunächst Enteritis und Septikämie, in der Regel ohne Lungenaffektionen, und

II. eine chronisch verlaufende Infektion mit Lungenaffektionen verschiedenen Grades.

Untersuchen wir nun die Wirkung des Ratinbacillus auf Ratten, so erweist es sich, daß dieselben von sehr verschiedener Empfänglichkeit sind. Die schwarze Ratte (*Mus rattus*) — von der ich indes nur 9 Individuen fütterte — zeigte sich durchaus unempfindlich, indem keines der Tiere starb; die ägyptische Ratte (*Mus alexandrinus*) ist empfindlich, jedoch nur in geringem Grade (unter 18 gefütterten Exemplaren starben nur 3). Was die allgemeine graubraune Ratte (*Mus decumanus*) betrifft, so erwies ihre Empfänglichkeit sich als verschieden, indem Ratten von einem Orte sehr empfänglich, von einem anderen Orte aber weniger empfänglich sein konnten. Um diese Frage völlig ins reine zu bringen, stellte ich folgenden Versuch an. Aus verschiedenen Gegenden des Landes wurden graubraune Ratten angekauft, womöglich aus jeder Gegend 10, und mit Ratin gefüttert; zugleich wurde eine Versuchsreihe weißer Ratten, die an einem und demselben Orte gezüchtet waren, gefüttert, um ein konstantes Versuchstier zu haben. Das Resultat war folgendes:

Ratten aus	Im ganzen gefüttert	Gestorben	Ueberlebende	Ratten aus	Im ganzen gefüttert	Gestorben	Ueberlebende
Rödovre	10	8	2	Marienburg	11	11	0
Vanløse	10	8	2	Hinnerup	4	1	3
Lersee	6	6	0	Gl. Kongevej	10	7	3
Tivoli	14	12	2	Christians-			
Zool. Garten	20	14	6	havn	10	6	4
Alumina	10	1	9	Saxogade	8	5	3
Helgesvej	8	5	3	Roarsvej	10	5	5
Rygaard	10	8	2	Glorup	10	9	1
				Knuthenborg	15	8	7

1) Im Harn der Mollmaus (der ja stets trübe ist) vermochte ich ebensowenig Ratinbacillen nachzuweisen.

Es geht hieraus hervor, daß das Ratin an einigen Orten eine, praktisch genommen, vollständige Vertilgung der Ratten erwarten läßt, an anderen eine so bedeutende Verminderung derselben, daß man das Resultat befriedigend nennen muß, während man in einzelnen anderen Fällen dagegen keinen genügenden Erfolg vom Ratin erwarten darf, indem das erscheinende Prozent der Verminderung gar zu gering ist, um merkbar zu werden. Dies scheint ganz gut mit den in der Praxis mit Ratin angestellten Versuchen übereinzustimmen, indem in vielen Fällen gute Resultate, in einigen sogar völlige Vertilgung erzielt wurde, während es auch Fälle gibt, wo Versuchsvertilgung mit Ratin zu keinem befriedigenden Resultate führte. Der oben angeführte Versuch ist freilich nicht völlig genügend, da wohl eine noch größere Reihe wünschenswert sein möchte; es war aber mit großer Mühe verbunden, Ratten von verschiedenen Orten zusammenzubringen — indes werden die Versuche noch immer fortgesetzt. Eine zuverlässige, auf Praxis gegründete Statistik anzuführen, ist mir bis jetzt noch nicht möglich; es werden gegenwärtig jedoch an verschiedenen Orten in Dänemark Versuche angestellt, um über diese Frage ins klare zu kommen, und nach Beendigung dieser Versuche werde ich nähere Mitteilung über dieselben geben. Versuche an anderen Orten deuten in derselben Richtung; so hat der Dozent Bergmann (20) (Alnarp) mit günstigem Resultate Käfigversuche mit Ratin angestellt; ebenfalls haben Dr. Raebiger (Halle a. S.) und Dr. Grimm (St. Petersburg) durch Käfigversuche gute Resultate erzielt; dagegen fütterte Prof. Kollé in Berlin Ratten in Käfigen mit Ratin ohne ein hohes Sterblichkeitsprozent zu erreichen. Mit meinem oben angeführten Schema vor Augen stand dies zu erwarten, da die Versuche ja an Ratten von nur einem bestimmten Orte unternommen wurden; waren die Ratten nun zufällig sehr empfänglich, so erhielt man ein gutes, sonst aber ein weniger günstiges Resultat. Zur Beurteilung des Ratin als rattentötendes Mittel werden deshalb nur solche Versuche sich verwerten lassen, die an Ratten von verschiedenen Orten angestellt wurden, da man erst dann das richtige Resultat erhält. In diesem Lichte wird es auch verständlich, wie die verschiedenen Untersucher des Danysz'schen Bacillus zu verschiedenen Ergebnissen gelangten.

Was die Erhaltung der Virulenz betrifft, so werde ich mich auf diese Frage noch nicht näher einlassen, da mein Material bis jetzt noch zu gering ist; zur Entscheidung dieses Punktes sind ja sehr umfassende und langwierige Versuche erforderlich; doch kann ich anführen, daß es mir nicht gelang, mittels Wieners Eimethode (19) einem Bacillus die Virulenz wiederzugeben, wenn diese vollständig verloren gegangen war. Zu diesem Versuche benutzte ich eine alte avirulente Mäusetyphuskultur. Nachdem die Kultur durch 3 Eier gegangen war, fütterte ich 4 weiße Mäuse mit großen Mengen derselben, ohne daß irgend ein Anzeichen der Krankheit zum Vorschein kam. Nach Verlauf längerer Zeit fütterte ich die Tiere mit starker Verdünnung (1:10) einer virulenten Mäusetyphuskultur (von Dr. Raebiger, Halle a. S.), worauf sämtliche Mäuse nach 6—8 Tagen starben. Der Versuch wurde 3mal mit demselben Ergebnisse wiederholt.

#### Fütterungsversuche mit Ratin an Mäusen.

Ich untersuchte die weiße Maus, die Hausmaus (*Mus musculus*), Waldmaus (*Mus sylvaticus*), Feldmaus (*Arvicola agrestis* und *arvalis*), Rotmaus (*Arvicola glareola*), Brand-

maus (*Mus agrarius*) und die Wasserratte (*Arvicola amphibius*).

Die Versuche waren folgende:

**Weißer Maus.** Es wurden im ganzen 38 gefüttert, die sämtlich nach Verlauf von 4—8 Tagen starben. Eine Verdünnung (Bouillonkultur) 1:50 tötete mit Sicherheit, 1:100 unsicher.

**Graue Hausmaus.** 56 Mäuse wurden gefüttert, die alle starben. Sicher tödende geringste Dosis 1:20. Der Tod trat nach Verlauf von 5—9 Tagen ein. 1:50 tötete unsicher.

**Feldmaus.** Im ganzen wurden 33 Mäuse gefüttert, die alle nach 2—6 Tagen starben. Sicher tödende geringste Dosis 1:50. 1:100 tötete unsicher.

**Rotmaus.** Von dieser konnte ich nur 4 Exemplare füttern. Sie starben alle an Verdünnung 1:50.

**Waldmaus.** Es wurden im ganzen 42 gefüttert. 2 derselben starben, ohne daß es sich bestimmt entscheiden ließ, ob sie an Ratin gestorben waren. Unter den 40 übrigen starben 18 an Ratin, 2 nach 3 Tagen, 1 nach 6 Tagen, 2 nach 8 Tagen, 2 nach 10 Tagen, 2 nach 11 Tagen, 2 nach 12 Tagen, 2 nach 13—16 Tagen, die anderen nach 3—5 Wochen. Die Waldmaus ist also für Ratin weniger empfänglich als die anderen Mäuse.

**Brandmaus.** Diese scheint immun zu sein. Ich fütterte im ganzen 7 mit unverdünnter Kultur. Keine derselben erkrankte.

**Wasserratte (Mollmaus).** Ich fütterte 15 im ganzen. Sie scheint für Ratin äußerst empfänglich zu sein, noch mehr als die Mäuse. Alle gefütterten Exemplare starben nach 2—7 Tagen.

Bei der Obduktion der Mäuse findet man gewöhnlich eine mehr oder weniger heftige Enteritis, die Milz stark angeschwollen und meistens zahlreiche Bakterien in allen Organen, weniger im Blute. Die Wasserratte zeigt außer einer heftigen, gewöhnlich hämorrhagischen Enteritis eine heftige Gastritis.

Die meisten Mäusearten sind also für Ratin sehr empfänglich und stecken einander verhältnismäßig leicht an, wenn ein gestorbener Kamerad angefressen wird. Mehrmals verfütterte ich tote Mäuse mit positivem Resultate.

Was endlich meine Versuche an anderen Tieren betrifft, so ergaben diese folgendes:

1 Pferd mehrmals mit Ratin gefüttert ohne Spur von Erkrankung.

4 Hunde, unter diesen ein junger an der Hundeseuche leidender, erkrankten nicht; der junge Hund bekam ein wenig Fieber, das sich jedoch bald wieder verlor.

6 Hühner erkrankten nicht, 2 Tauben ebensowenig.

2 Katzen und 1 Kätzchen erhielten ohne Nachteil die Kultur in Milch; Kaninchen und Meerschweinchen ertrugen die Verfütterung gut. 2 Meerschweinchen ertrugen ohne Nachteil die Injektion von 1 ccm Bouillonkultur in die Bauchhöhle.

3 (4-wöchigen) Ferkeln wurden je 100 ccm Kultur zu fressen gegeben ohne nachteilige Wirkung; 2 derselben wurden später geschlachtet und boten nichts Abnormes dar.

4 ältere Kälber (2 Monate alt) erhielten je 25 ccm Bouillonkultur per os ohne Nachteil.

Dagegen starben 4 (1 Tag alte) Milchkälber nach Fütterung mit Kultur im Verlaufe von 3—5 Tagen unter Diarrhöe und Mattigkeit. Die

Sektion ergab Enteritis, eine etwas angeschwollene Milz, ovale Coli-ähnliche Bacillen in der Milz. Die unternommene Probe stellte indes nur in dem einen Kalbe Ratinbacillen fest. Es liegt daher Grund vor, eine gewisse Vorsicht beim Gebrauche dieses Bacillus zu empfehlen, was ja auch von dem Gebrauche anderer Rattenbacillen und des Mäusetyphusbacillus gilt, wenn sie auch sämtlich relativ unschädlich zu nennen sind.

#### Literatur.

- 1) Loeffler, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI, XII, XIII.
- 2) Boas, J. E. V., Forsög med den Loefflerske Bacil. (Tidsskr. for Skovvaesen. Bd. IV.)
- 3) Rösig u. Appel, Die Bekämpfung der Feldmäuse. (Landwirtschaftl. Wochenschr. f. d. Prov. Sachsen. 1902.)
- 4) Krickendt, Arch. f. Tierh. Bd. XXVII. 1901. p. 307.
- 5) Laser, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI u. XV.
- 6) Mereschkowsky, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI, XVII, XX.
- 7) Danysz, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900. p. 193.
- 8) Bronstein, Dtsche med. Wochenschr. 1901. p. 577.
- 9) Kister u. Köttgen, Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 8.
- 10) Abel, Dtsche med. Wochenschr. 1901. p. 869.
- 11) Markl, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902. No. 5.
- 12) Klein u. Williams, Ref. Baumgartens Jahresber. 1897.
- 13) Krauss, Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 22.
- 14) Rosenau, Ref. im Arch. f. Tierh. 1901.
- 15) Issatschenko, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII u. XXXI.
- 16) Schilling, Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. p. 108.
- 17) Tartakowsky, M., Arch. f. Vet.-Wiss. Bd. XXXII. Ref. Baumgartens Jahresber. Jahrg. XVIII.
- 18) Jensen, C. O., Ugeskrift for Laeger. 1904. No. 15 u. 16.
- 19) — —, Biologisk Selskabs Forhandlinger. 1899—1900.
- 20) Wiener, Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXII. No. 15 u. 18.
- 21) Bergmann, Tidsskrift för Landtmän. 1904.

*Nachdruck verboten.*

## Der Nachweis sichelförmiger Gebilde im myelämischen Blute bei Giemsa-Färbung.

Von **M. Löwit**, Innsbruck.

Mit 1 Tafel.

Durch die Liebenswürdigkeit mehrerer Kollegen war es mir möglich, auch in letzterer Zeit das Blut myelämischer Kranker an frisch hergestellten Deckglastrockenpräparaten untersuchen zu können. Die seit ihrer Bekanntgabe so vielfach geübte und mit Recht empfohlene Giemsa-Färbung<sup>1)</sup>, die sich mir bei Färbungen des Blutes von normalen Tieren und Menschen vortrefflich bewährt hatte, legte den Wunsch nahe, diese Methode auch für die Färbung myelämischen Blutes verwenden zu können und nachzusehen, ob mit Hilfe derselben jene eigenartigen Gebilde nachgewiesen werden können, die ich mit anderen Methoden aufgefunden und als parasitäre Elemente dieses Blutes (*Haemamoeba leucaemiae magna*) gedeutet habe<sup>2)</sup>.

1) Centralbl. für Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. p. 308 f.

2) Die Leukämie als Protozoeninfektion. Wiesbaden 1900. — Weitere Beobachtungen über die spezifische Färbung der *Haemamoeba leuc. magna*. (Zieglers Beiträge etc. Bd. XXVIII. 1900. p. 416.) — Weitere Beobachtungen über die Parasiten



Drei verschiedene Fälle von Myelämie konnten mittels der Giemsa-Färbung an zahlreichen Präparaten untersucht werden. Der eine Fall kam auf der Innsbrucker medizinischen Klinik von Hofrat v. Rokitsansky zur Beobachtung, der mir die Untersuchung des Blutes zu verschiedenen Zeiten in liberaler Weise gestattete; der zweite Fall stammt von der Prager Klinik meines Freundes v. Jaksch, das Blut des dritten Falles erhielt ich durch die gütige Vermittlung meines früheren Assistenten Dr. L. Kirchmayr in Wien; von diesen beiden letzten Fällen standen mir nur weit weniger Ausstrichpräparate zur Verfügung. Allen drei Herren spreche ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank für die freundliche Unterstützung aus.

Statt umfänglicher Beschreibung der gefundenen Gebilde verweise ich auf die beifolgenden Abbildungen 1—21 der Tafel, die ich, soweit es mir als Nichtmaler möglich war, möglichst farbengetreu ausgeführt habe. Die Schwierigkeit der Wiedergabe liegt hierbei nicht so sehr in der Form als in dem Farbenton der eigenartigen Gebilde, der am besten als ein Purpurrot bezeichnet werden kann, das sich in dieser eigenartigen Tönung an keinem andern Elemente des Blutpräparates wiederfindet. In den Figuren ist diese Purpurfarbe mehrfach etwas zu violett oder zu rosa ausgefallen.

Die Figuren 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 21 stammen von dem Innsbrucker Falle, die Figuren 4, 5 von dem Prager und die Figuren 6, 16, 20 von dem Wiener Falle von Myelämie. Bezüglich der Häufigkeit des Befundes ist zu bemerken, daß die betreffenden Gebilde in dem Fingerbeerenblute des Innsbrucker Falles bei der ersten Untersuchung (Mitte Dezember 1904) in einem Präparate ziemlich häufig, in andern Präparaten des gleichen Tages aber, und auch in den an andern Tagen hergestellten Präparaten weit spärlicher gefunden wurden. Nach eingeleiteter Röntgenbehandlung dieses Falles verschwanden diese Elemente sehr bald aus dem Blute und konnten nach eingetretenem dauerndem Tiefstand der Leukocyten später überhaupt nicht mehr gefunden werden.

In dem Prager und Wiener Falle von Myelämie waren derartige Gebilde nur äußerst selten zu finden, in vielen Präparaten fehlten sie vollständig, die wenigen Formen, welche diesen beiden Fällen zugehören, konnten erst nach langwierigem Durchsuchen zahlreicher Präparate gefunden werden.

Jedenfalls handelt es sich bei diesen drei Fällen um recht spärliche Befunde, die auch nach Färbungen diesbezüglicher Präparate mit der von mir angegebenen Methylenblau-Lithionkarminmethode<sup>1)</sup> an Häufigkeit nicht zunahmen. Immerhin dürfte aber auch jetzt schon gezeigt sein, daß durch die Giemsa-Färbung im myelämischen Fingerbeerenblute durch Form und Farbenton eigenartige Gebilde dargestellt werden können, welche, soweit es sich um Sichelformen handelt, mit keinem andern morphotischen Bestandteil der roten und weißen Blutkörperchen und des Blutes überhaupt in Beziehung gebracht werden können, welche daher eine Sonderstellung einnehmen, und welche, wie eine diesbezügliche Vergleichung mit den Zeichnungen und Photogrammen meiner

der Leukämie. (Zeitschr. f. Heilk. Abt. f. path. Anat. etc. Bd. XXI. 1900. p. 259.) — Ueber extracelluläre Formen der Haemamoeba leuc. magna. (Ebendas. Bd. XXII. 1901. p. 222.) — Ueber färberische Differenzen zwischen der Mastzellengranulation und der Haemamoeba leuc. magna. (Zieglers Beiträge etc. Bd. XXXIII. 1903. p. 113.)

1) Zeitschr. f. Heilk. Abt. f. path. Anat. etc. Bd. XXII. 1901. p. 228.

früheren hierher gehörigen Mitteilungen lehrt, mit den Sichelformen der *Haemamoeba leucaemiae magna* gut übereinstimmen. Auch die hier abgebildeten Amöbenformen (Fig. 14—21) können den dort beschriebenen und abgebildeten Formen dieser Art völlig an die Seite gestellt werden<sup>1)</sup>. Ich habe der dort gegebenen Beschreibung dieser Formen, auch auf Grundlage der mit der Giemsa-Färbung erhaltenen Bilder, abgesehen von dem besonderen Farbentone, nichts wesentlich neues hinzuzufügen.

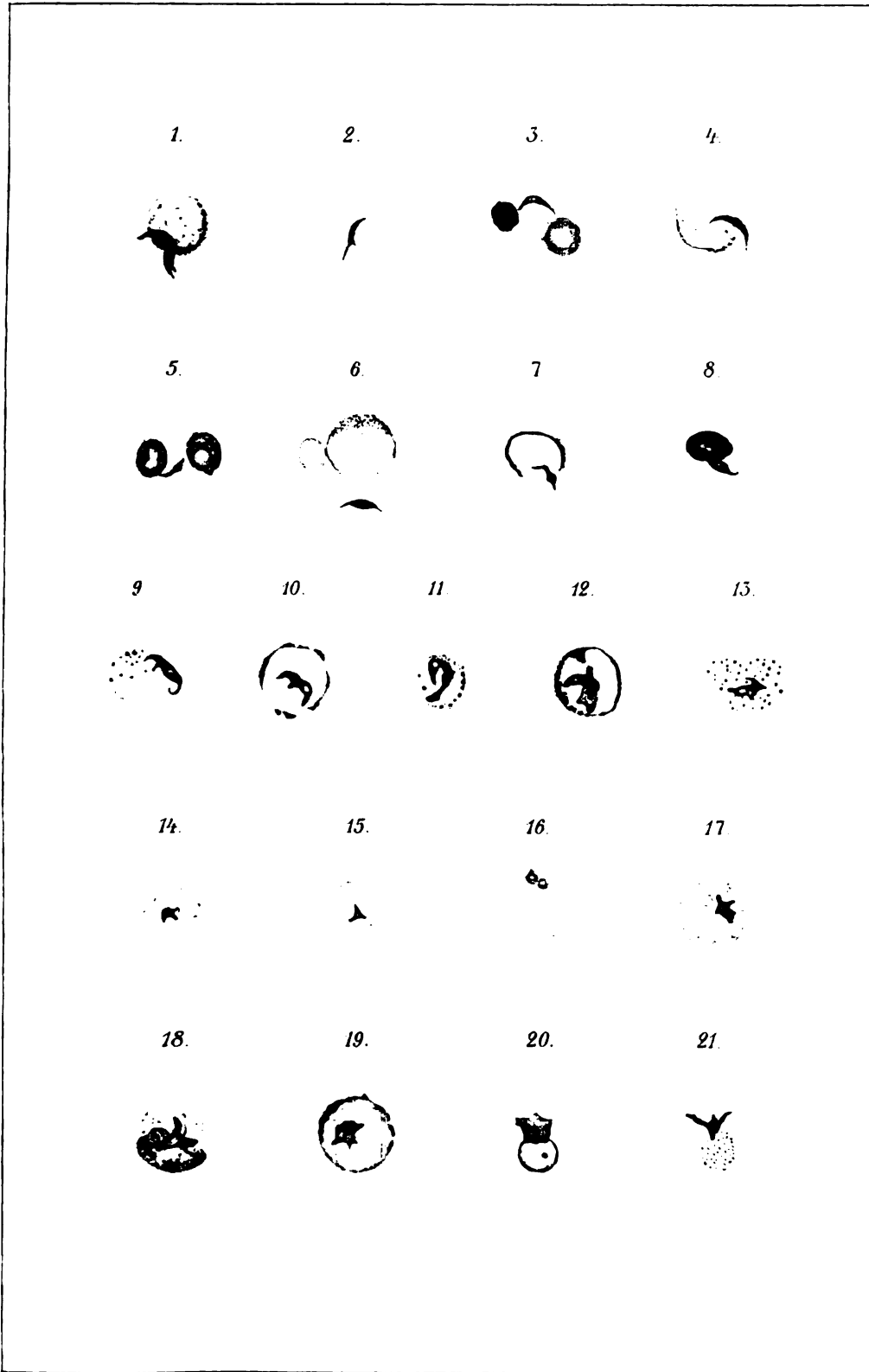
Auf die Deutung dieser eigenartigen Gebilde soll hier nicht näher eingegangen werden; das äußerst seltene Vorkommen von Myelämie hier in Innsbruck gestattet mir nicht, die betreffenden Untersuchungen derart fortzuführen, wie es notwendig wäre, um zu weiteren Ergebnissen in dieser Frage zu gelangen. Der Zweck dieser Zeilen ist erreicht, wenn andere Untersucher, denen reichlicheres Material zur Verfügung steht, durch dieselben veranlaßt werden, dieser gewiß nicht unwichtigen Frage ihr Augenmerk zuzuwenden, wobei dann namentlich der Untersuchung des Blutes aus den Blutzellen bildenden Organen (Milzpunktur) eine besondere Wichtigkeit zufallen würde, da möglicherweise die betreffenden Gebilde in diesen in reichlicherer Menge vorhanden sein dürften, worauf ich bereits an anderer Stelle hingewiesen habe<sup>2)</sup>.

Ob nun die Giemsa-Färbung die ideale Methode zur Darstellung der betreffenden Elemente aus dem myelämischen Blute darstellt, soll hier nicht weiter erörtert werden, aber jedenfalls handelt es sich um eine Methode, mit welcher die einzelnen morphotischen Elemente des Blutes, die diversen Granulationen der Leukocyten, die mannigfachen im myelämischen Blute vorkommenden Produkte des Kern- und Zellzerfalles etc., in charakteristischer und gleichzeitig in einer von den hier behandelten Gebilden leicht zu unterscheidenden Weise zur Darstellung gebracht werden können. Das eine wird wohl gegenwärtig schon gesagt werden dürfen, daß die charakteristischen, zum Teil extracellulär gelegenen Sichelformen, wie sie in den Figuren 1—9 wiedergegeben sind, mit Degenerationsprodukten des leukocytären Kern- und Zellzerfalles und auch mit Blutplättchen nicht identifiziert werden können. Für die intracellulären Sichelformen (Fig. 10—13) und andere ihrem Farbentone hierher zu rechnende Gebilde mit Einschluß der sichelähnlichen Formen dürfte wohl das gleiche gelten, wenn auch bei derartigen intracellulären Gebilden trotz ihres eigenartigen Aussehens immerhin eine größere Reserve bei ihrer Deutung geboten erscheint.

Die sogenannten Amöbenformen (Fig. 14—21) könnten allenfalls zu Produkten des Kern- und Zellzerfalles in Beziehung gebracht werden, doch bieten sie sowohl bezüglich Aussehen als Färbung so eigenartige Merkmale, daß eine Abtrennung derselben von den sogenannten Zerfallsprodukten schon nach dem morphologischen Verhalten geboten sein dürfte. Daß die beschriebenen Sichel- und Amöbenformen nicht zur Gruppe der verschiedenartigen Granulabildungen gehören, die mit der Giemsa-Färbung in so typischer und prägnanter Weise dargestellt werden können, bedarf wohl kaum besonderer Erwähnung. Sämtliche Figuren sind bei Reichert  $\frac{1}{12}$  homog. Immersion, Komp.-Okular 4 gezeichnet.

1) Vergl. Zeitschr. f. Heilk. etc. Bd XXII. 1901. Taf. VIII—X und Zieglers Beiträge etc. Bd. XXXIII. 1903. Taf. VII.

2) Vergl. Monographie. p. 68, 91.



Loewit gez.

Verlag v. Gustav Fischer, Jena.

Lith. Anat. v. J. Arndt, Jena.



*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage von den Mitteln zur Vertilgung der Mücken, als Verbreiter der Malariainfektion.

[Aus dem Laboratorium für Histologie und Embryologie an der kaiserl.  
neurussischen Universität zu Odessa.]

Von Prof. A. F. Mankowski.

Mit 3 Figuren.

Seitdem die Beteiligung der Mücken bei der Uebertragung der Malariainfektion auf den Menschen in überzeugender Weise bewiesen worden ist, haben Aerzte und Naturforscher eine ganze Reihe von Beobachtungen und experimentellen Untersuchungen an Mücken vorgenommen zwecks Aufklärung der für die Existenz der Mücken ungünstigen Bedingungen, um letztere dann zur Vertilgung derselben ausnützen zu können. Als Resultate dieser Untersuchungen sind von den Autoren derselben die verschiedenartigsten Methoden zur Vertilgung der Mücken vorgeschlagen worden. Trotz der Verschiedenheit der einzelnen Methoden läßt sich doch in allen eine Grundidee erkennen: Alle Methoden zielen darauf ab, künstlich ungünstige Bedingungen für die Mücken gerade in dem Stadium ihrer Entwicklung zu schaffen, in welchem dieselben am allerwenigsten zum Kampf ums Dasein vorbereitet, resp. befähigt sind, das heißt im Larvenstadium. So hat man z. B. vorgeschlagen, Petroleum und Oel auf die Oberfläche stehender Gewässer und Sümpfe — besonders dort, wo die Vermehrung der Mücken stattfindet — zu gießen; zu demselben Zwecke wird geraten, dem Wasser Kupfervitriol und Kalklösung, Formalin und andere Desinfektionsmittel hinzuzugeben. Die Tatsache, daß keine von den vielen vorgeschlagenen Methoden bis jetzt allgemeine praktische Anwendung gefunden hat, beweist zur Genüge die Unwirksamkeit derselben. Viel zweckmäßiger dürften wohl in diesem Falle die von der Natur selbst geschaffenen ungünstigen Bedingungen sein, um so mehr, da dieselben ohne Zweifel in den Gegenden der allergrößten Verbreitung von Mücken vorhanden sind.

Auf der Suche nach solchen natürlichen ungünstigen Bedingungen haben Bruno Galli-Valerio und Jeane Rochaz de Jongh<sup>1)</sup> den Einfluß einer ganzen Reihe von Mikroorganismen — *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. proteus*, *B. pneumoniae*, *Actinomyces chromogenes*, *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus glaucus* — auf die Larven der Mücken — *Culex* und *Anopheles* studiert. Wasser, welches Larven von Mücken enthielt, wurde mit Sporen der genannten Mikroorganismen infiziert und es wurden nach einiger Zeit die Larven der mikroskopischen Untersuchung unterworfen. Hierbei ergab sich, daß *Aspergillus niger* und *Aspergillus glaucus* am schädlichsten auf die Larven der Mücken wirkten.

Die Versuche von Bruno Galli-Valerio und Jeane Rochaz de Jongh haben also zur Evidenz bewiesen, daß es möglich ist, den

1) Galli-Valerio, Bruno und Rochaz de Jongh, Jeane, Ueber die Wirkung von *Aspergillus niger* und *A. glaucus* auf die Larven von *Culex* und *Anopheles*. [Vorläufige Mitteilung.] (Centrabl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Abtlg. I. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 2.)

Kampf mit den Mücken unter Mithilfe der in der Natur so verbreiteten Schimmelpilze erfolgreich zu führen. Leider hat sich später ergeben, daß die erwachsenen Mücken von den Schimmelpilzen nicht infiziert werden.

Nach Bekanntmachung mit dem Inhalt der erwähnten Arbeit von Bruno Galli-Valerio und Jeanne Rochaz de Jongh, hielt ich es für angezeigt, schon jetzt einen Teil meiner noch nicht ganz vollendeten Beobachtungen aus der Biologie der Mücken *Anopheles* zu veröffentlichen, um so mehr, da dieselben schon vor 3 Jahren begonnen waren.

Im Sommer 1902 hatte ich Gelegenheit, mich mit der Untersuchung der Mücken in einer Malariagegend des Gouvernements Bessarabien (Dorf Bulboki) zu beschäftigen. Das Dorf liegt auf den sumpfigen Rückständen des ausgetrockneten Flußbettes eines kleinen Nebenflusses des Dnjestr. Schon früher hatte ich in dieser Gegend die Gegenwart großer Mengen Mücken *Anopheles* konstatieren können, nämlich *Anopheles maculipennis*, welche ich mit Hilfe von Reagenzgläsern an den Wänden und der Lage der Keller, Scheunen etc. leicht fangen konnte. Mir fiel dabei auf, daß zu einer bestimmten Zeit das Fangen der Mücken

ganz besonders leicht gelang: Die Mücken zeigten kaum die für dieselben so charakteristischen Bewegungen, waren sehr schlaff und einige ließen sich leicht mit den Fingern fangen. Die Mehrzahl der von mir gefangenen und in den Reagenzgläsern aufbewahrten Mücken war sehr erschöpft; der Bauch war meistens stark eingefallen und nur selten leicht aufgetrieben durch den Inhalt des Magen-Darmkanales. Nur wenige waren relativ gut genährt und zeigten normales Aussehen. Bei aufmerksamer Besichtigung der schwächeren Individuen konnte man auf dem hinteren Teile ihres Körpers unter den Flügeln, sowie an den



Fig. 1. Photographische Aufnahme des Parasiten.

Stellen, wo die Füßchen an dem Körper befestigt sind, kleine sandkorn-große Erhebungen von rötlicher Farbe bemerken. Bei der Betrachtung dieser Gebilde mit unbewaffnetem Auge konnte man dieselben als Auswuchs auf dem Körper der Mücke ansehen. Das nähere Studium der Mücken unter Zuhilfenahme der Lupe (Vergrößerung 10mal) belehrte jedoch, daß die beschriebene Neubildung lebendige Parasiten sind. Bei der Betrachtung durch Alkohol fixierter und in Canadabalsam eingebetteter Parasiten kann man sich davon überzeugen, daß dieselben zur Abteilung der *Acarina* gehören. Wie aus der photographischen Aufnahme (Fig. 1) ersichtlich, hat der Parasit einen ovalen Leib, mit wenig deutlich ausgeprägtem Kopf, auf welchem zwei Pigmentflecke bemerkbar sind, die den Augen entsprechen. Die Füßchen des Parasiten sind mit kleinen Stachelchen versehen, besonders an den Bewegungsstellen; an den Enden der Füßchen befindet sich je eine kleine Krallen. Die Körperlänge des

beschriebenen Parasiten gleicht  $\frac{3}{8}$  mm; die Breite  $\frac{1}{4}$  mm<sup>1)</sup>). Nicht alle Parasiten, die mir in die Hände fielen, waren in der Größe, die auf Fig. 1 angegeben ist; hin und wieder fand ich größere, meistens aber kleinere Parasiten. Die Zahl der Parasiten, welche sich auf einer Mücke fanden, variierte zwischen 1 und 6. Die Häufigkeit der durch Parasiten infizierten Mücken war etwa 30 Proz. aller Fälle. Mir drängte sich unwillkürlich die begreifliche Frage auf, ob eine solche Massenerkrankung der Mücken irgend welchen Einfluß auf die Intensität der Erkrankung an Malaria im gegebenen Rayon habe. Die im Ambulatorium des örtlichen Krankenhauses angestellten Forschungen ergaben tatsächlich, daß während des in Frage kommenden Zeitraumes Malariaerkrankungen seltener gewesen waren, als in den vorhergehenden Jahren.

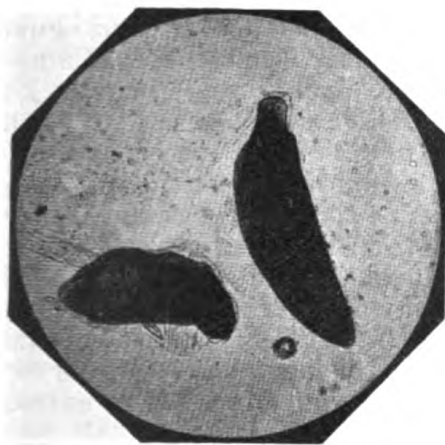


Fig. 2.



Fig. 3.

Fig. 2. Photographische Aufnahme der Larve der Mücke (*Anopheles*).  
 Fig. 3. Photographische Aufnahme des Flügels (Ende) von *Anopheles*.

Es ergibt sich also, daß wir in dem beschriebenen Parasiten eine von den natürlichen ungünstigen Bedingungen haben, welche die Mücken schwer befallen und zwar auch in der Lebensperiode, in welcher dieselben am allermeisten zur Selbstverteidigung befähigt scheinen. In Anbetracht des unstreitig schädlichen Einflusses, den die beschriebenen Parasiten auf die Mücken ausüben, ist es interessant und lohnend, näher die Lebensbedingungen der Parasiten, die Art und Weise seiner Fortpflanzung, sowie die Wege, auf welchen die Infektion der Mücken *Anopheles* erfolgt, zu studieren.

1) Um eine deutliche Vorstellung von der Größe des Parasiten im Vergleich zu seinem Träger zu geben, bringen wir Fig. 2, wo die Larven von *Anopheles* reproduziert sind, und Fig. 3, welche das Ende des Flügels von *Anopheles* darstellt. Alle drei photographischen Aufnahmen sind unter vollständig gleichen Bedingungen gewonnen. Eine ausführliche Beschreibung des Parasiten werden wir später geben.

Alle drei sind unter gleichen Bedingungen erhalten. Vergrößerung 75.

Nachdruck verboten.

## Schistosomum japonicum Katsurada, eine neue asiatische Bilharzia des Menschen.

Von Prof. Dr. Looss, School of Medicine, Cairo.

Ein neues Beispiel für die so oft zitierte „Duplizität der Fälle“: annähernd gleichzeitig und dabei völlig unabhängig wird von zwei verschiedenen Autoren an zwei verschiedenen Orten ein- und derselbe neue, pathologisch offenbar wichtige Parasit des Menschen entdeckt. Unter dem Titel „Schistosoma cattoi, a new Blood Fluke of Man“ beschreibt John Catto im British med. Journ. vom 7. Januar 1905 (No. 2297) eine Bilharzia, die er bei einem aus der Provinz Fukien stammenden und in Singapur an der Cholera verstorbenen Chinesen gefunden hat. Die Annotationes Zoologicae Japanenses. Vol. V. 1904. Part. 3 enthalten einen Artikel von F. Katsurada: „Schistosomum japonicum, ein neuer menschlicher Parasit, durch welchen eine endemische Krankheit in verschiedenen Gegenden Japans verursacht wird“. Ein Vergleich der von beiden Autoren gegebenen Beschreibungen des Parasiten läßt keinen Zweifel darüber aufkommen, daß es sich in beiden Fällen um ein- und dieselbe Art handelt. Da die Arbeit Katsuradas früher erschienen ist als die Cattos, so muß dem Wurme nach dem Gesetze der Priorität der Name *Schistosomum japonicum* Katsurada 1904 verbleiben, ohne daß der selbständigen Entdeckung Cattos dadurch etwas von ihrem Werte entzogen wird.

In dem Falle Cattos waren die Parasiten während des Lebens weder diagnostiziert, noch überhaupt vermutet worden; sie wurden im Verlaufe der Untersuchung verschiedener konservierter Organstücke entdeckt. Katsurada war zuerst auf die in den Stühlen eines Kranken auftretenden Eier aufmerksam geworden und erkannte auch bereits ihre Aehnlichkeit mit den Eiern der ägyptischen Bilharzia, hatte dagegen keine Gelegenheit, Autopsieen zu machen. Ausgehend von der Tatsache, daß in Japan verschiedene Parasiten des Menschen (*Opisthorchis sinensis* [Cobb.] = *Dist. spathulatum* Lckt. und *Paragonimus westermani* [Kerbert] = *Dist. pulmonale* Bälz) auch bei gewissen Haustieren, wie Hunden und Katzen, vorkommen, hatte er aber die glückliche Idee, auch bei diesen letzteren nach dem unbekanntem Parasiten zu suchen, und fand ihn tatsächlich bei 2 Katzen. So bilden die Beobachtungen jedes der beiden Autoren einerseits eine Bestätigung, andererseits eine wertvolle Ergänzung zu denen des anderen.

Die erwachsenen Würmer sind im allgemeinen etwas kleiner als die ägyptische Form, nämlich das Männchen nach Catto etwa 9 mm, nach Katsurada meist 10—12 mm, das Weibchen 8—12 mm lang. Sicher wechseln diese Dimensionen aber je nach dem Alter und der Kontraktion der Individuen in weiten Grenzen; dasselbe gilt für die Dicke, die für das Männchen von Catto mit 0,45 mm, von Katsurada mit 0,53 mm, für das Weibchen von Catto mit 0,13 mm, von Katsurada mit im Maximum 0,4 mm angegeben wird. Ihrem Baue nach sind die neuen Würmer typische Bilharzien. Die beiden Saugnäpfe liegen ziemlich dicht hintereinander im Vorderkörper; der deutlich gestielte und oft trompeten-



oder trichterartig gestaltete Bauchsaugnapf ist nicht nur beim Männchen, sondern auch beim Weibchen größer als der Mundsaugnapf, während er beim Weibchen der afrikanischen Bilharzia bekanntlich um ein geringes kleiner als der Mundsaugnapf ist. Die Innenwand beider Saugnäpfe, desgleichen die den Canalis gynaecophorus begrenzende Bauchfläche des Männchens ist wie bei *Sch. haematobium* mit kleinen, mehr oder minder rückwärts gerichteten Stacheln bewaffnet. Die innere Organisation bietet nichts Abweichendes. Die wichtigsten Unterschiede des *Schistosomum japonicum* gegenüber dem *Sch. haematobium* bestehen beim Männchen darin, daß ihm die über den gesamten Hinterkörper verteilten und mit feinen Spitzchen bewaffneten Höckerchen des *Sch. haematobium* fehlen. Einen weiteren auffälligen Unterschied scheint mir die spezielle Gestalt des Hinterkörpers darzubieten. Dieser letztere ist, wie bekannt, ursprünglich breit blattförmig mit relativ geringem Dorsoventraldurchmesser, nimmt aber dadurch, daß die Seitenteile sich nach der Bauchseite einrollen, die äußerlich drehrunde Gestalt an. Denkt man sich den Körper wieder aufgerollt und ausgebreitet, so würde er bei *Sch. bovis*, der Bilharzia der Rinder, ziemlich dick und dabei relativ schmal sein; im natürlichen, d. h. eingerollten Zustande überlagern die beiden Seitenränder einander auf der Bauchseite nur wenig. Ungefähr das Gleiche gilt auch für *Sch. haematobium*, nur ist hier die Dicke, d. h. der Dorsoventraldurchmesser des eigentlichen Körpers bedeutend geringer. Bei *Sch. japonicum* dagegen scheint die Breite des (aufgerollten und ausgebreiteten) Körpers im Verhältnis zur Dicke viel beträchtlicher zu sein, denn die Seitenteile bilden in ihrer natürlichen Lage auf dem Querschnitt — wie die von Catto gegebenen Photographieen zeigen — meist eine völlig spiralförmige Figur, oder sie überragen einander, wie aus Katsuradas Abbildungen ersichtlich, einander weit mehr, als ich es bei den beiden anderen Arten bisher gesehen habe. In der relativ großen Breite und geringen Dicke des (ausgebreitet gedachten) Körpers scheint meines Erachtens noch eine charakteristische Eigentümlichkeit des *Sch. japonicum* gegeben zu sein; eine dritte endlich ersehe ich aus einem Präparate, welches Dr. Catto der mediz. Schule in Kairo freundlichst zum Geschenk gemacht hat. Die männliche Bilharzia besitzt unter ihrer Rückenfläche bekanntlich eine dicke, gegen den übrigen Körper durch eine Ringfaserlage abgesonderte Rinde von Längsmuskelfasern. Bei *Sch. bovis* ist diese Rinde sehr dick und von kräftigen Muskelfasern gebildet; bei *Sch. haematobium* ist sie relativ dünn und die Längsfasern sind spärlich und durch größere Zwischenräume voneinander getrennt; bei *Sch. japonicum* endlich ist sie noch dünner, nur etwa 2—3mal so dick wie die Haut, dagegen sind die Muskelfasern sehr kräftig und liegen so dicht gedrängt, daß bindegewebige Elemente zwischen ihnen nicht zu erkennen sind. Vielleicht daß diese kräftige Entwicklung der Muskulatur den Männchen einen Ersatz für die fehlenden Rauigkeiten der Haut bietet.

Im Körper der Weibchen bildet die anscheinend stärkere Entwicklung der Dotterstöcke und die deutlich dichtere Gruppierung der einzelnen Follikel einen Unterschied gegenüber der afrikanischen Bilharzia; der wesentlichste Charakter der neuen Art liegt aber ohne allen Zweifel in der Gestalt ihrer Eier.

Diese sind nach Catto oval, ohne Deckel und ohne Spur eines Endstachels, von gelbbrauner Farbe und variieren in der Länge zwischen 0,06 und 0,09 mm, in der Dicke zwischen 0,03 und 0,05 mm. Ein voll-

entwickeltes Miracidium konnte in ihnen nirgends gefunden werden <sup>1)</sup>, sondern nur zellige Massen, die sich in verschiedener Weise färbten <sup>2)</sup>.

Nach Katsurada sind die im Kot seiner Patienten beobachteten Eier oval oder elliptisch, mit dünner, doppelt konturierter, gelblich oder bräunlichgelb gefärbter Schale, ohne Deckel und ohne Enddorn; sie messen zwischen 0,075 und 0,09 mm in der Länge bei 0,053 mm bis 0,075 mm Dicke. Sie enthielten meistens ein fertig entwickeltes Miracidium, welches der Beschreibung nach von dem des *Sch. haematobium* nicht abweicht; die beiden großen einzelligen, an der Basis des Rüssels mündenden Drüsen konnte Katsurada „nicht ganz sicher konstatieren“; sie dürften aber ganz unzweifelhaft vorhanden sein. Im Uterus des Weibchens findet er die Eier noch mit einfacher, ungefurchter Eizelle, 0,058 mm lang und 0,043 mm breit. Durch einen Vergleich dieser mit den in den Geweben der Wirtstiere auftretenden Eier kommt er zu dem Schlusse, „daß die Größe der Eier je nach den Entwicklungsstadien verschieden ist“. Dies stimmt also mit der von *Sch. haematobium* bereits bekannten Tatsache, daß die Eier während der Embryonalentwicklung, die in den Geweben des Wirtes durchlaufen wird, an Größe zunehmen.

Die durch den Parasiten bedingte Krankheit ist nach Katsurada besonders in den Provinzen Yamanashi und Hiroshima (beide in Mitteljapan) und Saga (auf Kiushu, der Südwestinsel gelegen) heimisch, und wird durch folgende Hauptsymptome gekennzeichnet: Vergrößerung der Leber und der Milz, krankhaftes Hungergefühl (ausnahmsweise auch Appetitlosigkeit), Diarrhöen oft blutig-schleimiger Natur, zuweilen auch Fieber, Anämie, Kachexie, Ascites und Oedem etc.; eine gewisse Anzahl der Patienten geht schließlich an Schwäche zu Grunde. Ueber das Wesen dieser Erkrankung hatte bis dahin Dunkel geherrscht, indessen waren bei Autopsien von Leichen aus den betreffenden Gegenden von verschiedenen Autoren (Yamagiwa, Kurimoto, Fujinami u. a.) mehrfach Eier eines unbekanntes Parasiten, besonders in der Leber gefunden worden <sup>3)</sup>.

1) Diese Angabe Catts ist nicht zutreffend. In dem oben erwähnten, von ihm der mediz. Schule in Cairo geschenkten Präparate sind Eier mit vollentwickelten Miracidien hier und da in den Geweben zu sehen. Daß der Autor die Miracidien in ihrem durch die Konservierung und Färbung veränderten Aussehen nicht erkannt hat, kann ihm billigerweise nicht zum Vorwurfe gemacht werden.

2) Wie der Autor angibt, waren sie zuerst für Coccidien gehalten und im „Journal of the Malaya Branch of the British Medical Association“ auch als solche beschrieben worden: nicht der erste und wahrscheinlich auch nicht der letzte Fall, daß Trematodeneier als Coccidien gedeutet werden. Später waren Gewebstücke mit den problematischen Gebilden auch an eine „eminent German authority“ behufs Identifikation gesandt worden und diese hatte das Urteil abgegeben, daß die „oval bodies were neither coccidia nor the eggs of a trematode, but those of a nematode of unrecognisable species“.

3) Es erscheint mir ganz zweifellos, daß eine Anzahl ähnlicher Funde, die früher auf *Paragonimus westermani* bezogen worden waren, nicht auf diese Species, sondern auf das neue *Schistosomum* bezogen werden müssen. So z. B. die Eier, die Miura (Fibröse Tuberkel, bedingt durch Parasiteneier, in: Virch. Arch. Bd. CXVI. p. 310) in Knötchen des Omentum majus, des Mesenteriums und des parietalen Peritoneums, ferner in größeren Knoten an der Basis des Omentums, auf der Oberfläche der Leber, des Diaphragmas und des Blinddarmes fand, ebenso diejenigen, welche Kanamori (Ueber die Eier eines neuen Parasiten, in: Mitteil. med. Ges. Tokyo. Bd. XII. 1898. Heft 3) in einer Geschwulst des Rectums und einer cirrhotischen Leber beobachtete. Der letztgenannte Autor macht darauf aufmerksam, daß diese Eier wegen ihrer abweichenden Größe nicht zu *Paragonimus westermani* gehören können; allerdings ist er geneigt, sie auf *Diplogonoporus grandis* zu beziehen, was aber kaum zutreffend sein dürfte, da dieser Bandwurm ein menschlicher Darmparasit ist. Ich bin überzeugt, daß die Entdeckung Katsuradas und Catts auf alle diese Eierfunde ein neues, und zwar das richtige Licht werfen wird.

Der hauptsächlichste Sitz der Würmer sind nach Katsurada die Pfortader und die Venen des Mesenteriums. Die Eier finden sich hauptsächlich in der Leber, wo sie Entzündung und Bindegewebswucherung hervorrufen; dadurch wird die Leber früher oder später verkleinert, cirrhotisch und ihre Oberfläche grob und ungleichmäßig granuliert; die Veränderungen können Symptome von Pfortaderstauung bedingen. Außer in der Leber finden sich die Eier häufig in der Mucosa und Submucosa des Darmes, besonders des Dickdarmes, wo sie Entzündungen hervorrufen, die teils zu Gewebszerstörung, teils zu Gewebswucherung führen, welche letztere manchmal geschwulstartige Neubildungen an der Darmwand zur Folge hat. Sehr bemerkenswert ist eine Anspielung Katsuradas auf einen von Yamagiwa (Virch. Arch. Bd. CXIX. p. 447) beschriebenen Fall, in dem die Bilharziaeier auch in der Hirnrinde gefunden und als Ursache der Jacksonschen Epilepsie angesehen worden waren. Yamagiwa hatte sie ursprünglich auf *Paragonimus westermanni* bezogen (der in der Aetiologie der Jacksonschen Epilepsie nach den bislang vorliegenden Mitteilungen unzweifelhaft eine wichtige Rolle spielt, denn die Würmer selbst wurden mehrmals im Hirn gefunden), sich später aber von ihrer Zugehörigkeit zu *Sch. japonicum* überzeugt. Danach liegt die Möglichkeit vor, daß die letztere Species die Epilepsie auch für sich allein hervorbringen kann, und es erwächst, wenn hier Klarheit geschaffen werden soll, für die japanischen Autoren jetzt doppelt dringend die Notwendigkeit, die beiden Eiformen scharf auseinanderzuhalten, was bei der verschiedenen Beschaffenheit ihrer Schale und ihres Inhaltes keine Schwierigkeiten bieten dürfte<sup>1)</sup>. Wichtig endlich ist, daß der Parasitismus des *Sch. japonicum* nach Katsurada, soweit bis jetzt bekannt, niemals Blasenleiden hervorrufft<sup>2)</sup>.

Mit diesen Befunden Katsuradas stimmen diejenigen von Catto fast durchgängig überein. Der Sitz der Würmer sind nach Catto ebenfalls die Mesenterialgefäße, aber nicht nur die Venen, sondern auch die Arterien; indessen ist sich der Autor über diesen Punkt selbst nicht

1) Die Größe der Eier des *Paragonimus westermanni* wird von den bisherigen Autoren ziemlich verschieden angegeben: 0,08—0,1 mm in der Länge, bei 0,05—0,07 mm Dicke. Da ich sie in reifen intakten Würmern nur 0,077—0,081 mm lang und 0,043—0,05 mm dick gefunden habe, so sprechen die oben angegebenen höheren Maße bereits für Verwechselungen mit anderen Eiern. Die Eier des *Parag. westermanni* besitzen ferner eine relativ dicke, gelblich- bis rötlichbraune, deutlich gedeckelte Schale, und enthalten bei der Ausstoßung aus dem Körper des Wirtes stets noch eine einfache, von den Dotterzellen umgebene Eizelle.

2) Bekanntlich hat Scheube (Krankh. d. warmen Länder. 3. Aufl. Jena 1903. p. 493) aus dem in gewissen Teilen Chinas (Canton, Hangtschau) und in Siam etc. häufig beobachteten Vorkommen von Harnsteinen den Schluß gezogen, daß als Ursache dieser Erkrankungen möglicherweise der Parasitismus einer Bilharziaart in Frage kommen könne. Was die Existenz dieser bisher unbekannten Bilharziaart anlangt, hat sich die Vermutung Scheubes glänzend bestätigt; auffallend bleibt demnach die Angabe Katsuradas und eine, wie wir sehen werden, mit ihr übereinstimmende Catto's, daß die neue Bilharzia keine Affektionen der Blase hervorruft. Persönlich bin ich geneigt zu glauben, daß mit einer Erweiterung und Vertiefung unserer Kenntnis der asiatischen Bilharziosis auch der zweite Teil der Vermutung Scheubes seine Bestätigung finden wird. Kommen doch auch in Aegypten durchaus nicht selten Bilharziosisfälle zur Beobachtung, in denen fast oder ganz ausschließlich das Rectum affiziert ist, während andererseits, und besonders bei Personen, welche den Infektionsbedingungen nur kurze Zeit ausgesetzt gewesen sind, die Affektion der Blase so symptomlos bleiben kann, daß die Gegenwart der Würmer nur zufällig bei Harnuntersuchungen an dem Vorhandensein der Eier erkannt wird. Jedenfalls scheint mir die Vermutung Scheubes wichtig genug, um eingehender geprüft zu werden.

ganz klar und seine Angaben lauten etwas widersprechend<sup>1)</sup>. Die Eier finden sich am massenhaftesten in der Submucosa, in geringerer Menge in der subperitonealen Schicht der Wand von Rectum und Appendix; ferner zahlreich und meist in Gruppen in dem deutlich hypertrophischen Bindegewebe der Leber, in den Lymphdrüsen, seltener in der Wand der Gallenblase<sup>2)</sup>, im Pankreas<sup>3)</sup>, in der Leberkapsel, in der Wand der größeren Mesenterialgefäße, im Mesenterium, dem Pylorus, Duodenum, Jejunum und Ileum.

Den Umstand, daß diese Eier früher bei Stuhluntersuchungen nicht gefunden wurden, sucht Catto damit zu erklären, daß sie für solche des *Ankylostomum duodenale* gehalten worden seien. Ich möchte dies direkt für undenkbar halten; selbst wer noch nie ein Ankylostomaei gesehen hat und nur in der Beschreibung von der dünnen, einfach konturierten, absolut farblosen Schale und den 4 charakteristischen großen Zellen im Innern des Ankylostomaeies liest, wird dieses mit dem gelben bis gelbbraunen, doppelt konturierten Ei des *Sch. japonicum*, dessen Inhalt zu keiner Zeit aus 4 großen Zellen besteht, unmöglich verwechseln können. Entspreche die Vermutung Cattos den Tatsachen, dann müßten alle aus Indien und China stammenden Berichte über Ankylostoma und Ankylostomiasis einer gründlichen Nachprüfung unterzogen werden.

Aus dem von Catto gegebenen Post mortem-Befund, der mit den Angaben Katsuradas ebenfalls sehr wohl übereinstimmt, mögen noch folgende Daten hervorgehoben sein. Im ganzen Körper war das Corpus adiposum wohlentwickelt. Mesenterial- und Prävertebraldrüsen bis zu Bohnen- und selbst Golfball- (von etwa 5 cm Durchmesser) Größe geschwollen. Milz vergrößert und pigmentiert. Leber hart, gleichmäßig vergrößert und mit deutlich knotiger Oberfläche<sup>4)</sup>, das Aussehen einer derben Cirrhosis darbietend, in der Farbe aber unverändert. Wände der Gallenblase verdickt, im Innern der Blase einige kleine schwarze Gallensteine. Colon in ganzer Ausdehnung gleichmäßig verdickt, die Schleimhaut geschwollen, hyperämisch, ihre Oberfläche mit zahlreichen, kreisrunden Erosionen und nekrotisierenden Stellen; die übrige Wand sehr derb, fast knorpelig. Coecum und Appendix mit gleichmäßig hypertrophierter Wand, ihre Schleimhaut ebenfalls mit Ulcerationen und nekrotisierenden Stellen bedeckt. Leber und Darm knirschten beim Schneiden. Wand der Harnblase stellenweise verdickt, ihre Mucosa aber ohne jedwede krankhaften Veränderungen.

Außer den Bilharziaeiern wurden in dem Falle Cattos in der Mucosa und den Zotten des Dickdarmes Bündel von „filariaform em-

1) Pärchen der afrikanischen Bilharzia sind in den Mesenterialvenen bereits von Bilharz gefunden worden und nach meinen eigenen Erfahrungen daselbst gar nicht selten.

2) Nach eigenen Beobachtungen finden sich Eier der ägyptischen Bilharzia auch frei in der Gallenflüssigkeit.

3) Daß die Eier des *Sch. haematobium* im Pankreas und der Wand des Appendix nicht vorkämen, ist ein Irrtum von Catto. In dem ersteren Organe sind sie von Goebel, Pathologisch-anatomische und klinische Bemerkungen über Bilharziakrankheit (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VII. 1903. No. 3) gefunden worden, und auch Dr. Symmers versichert mir, daß ihr Vorkommen in Pankreas und Appendix keineswegs selten sei.

4) Diese „perihepatic nodules“ sind nicht, wie Catto angibt, zuerst von Sandwich, sondern von Symmers beschrieben worden.

bryos<sup>1)</sup> gefunden, die von den erwähnten Ulcerationen aus in den Darminhalt überzutreten schienen. Sie waren etwa 0,3 mm lang, 0,008 mm dick, mit stumpfkönischem Kopfe und scharf zugespitztem Schwanze, und besaßen zum Teil eine „Scheide“. Ihre Zugehörigkeit konnte nicht festgestellt werden; meines Erachtens dürften es Larven der in China bekanntlich häufigen *Filaria bancrofti* gewesen sein.

Nachdruck verboten.

## Ueber aktive und passive Immunisation der Neugeborenen und Säuglinge<sup>2)</sup> auf dem Wege der Verdauungsorgane.

[Hygienisches Institut der Königlichen Universität Turin. (Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

Experimentelle Untersuchungen.

Von Privatdozent Dr. E. Bertarelli, Assistent.

Die Mitteilungen v. Behrings über seine Anschauungen über die Entstehung der Tuberkulose und eine mögliche Immunisation der Kinder mit einer aktiv gegen Tuberkulose immunisierten Tiermilch haben die Aufmerksamkeit der Forscher vielen Problemen zugewandt, die mit diesem Argument in Zusammenhang stehen.

Es ist heute allgemein bekannt, auf was sich die von v. Behring ins Leben gerufene Immunisationsmethode gründet. Nachdem die Möglichkeit einer direkten Immunisation der Kinder auf subkutanem Wege bewiesen war, schlug v. Behring zur Immunisation die Säugung mit einer gegen Tuberkulose hyperimmunisierten Kuhmilch vor. Nach v. Behring sind die besonderen Bau- und Funktionsbedingungen des Magens und des Darmes der Neugeborenen derart, daß die Aufsaugung der Schutzstoffe gut ablaufen muß, während dagegen die Eingabe von Antikörper enthaltenden Seren in die Verdauungskanäle infolge der Veränderungen, die die Antikörper durch die Verdauung erfahren, bei den Erwachsenen im allgemeinen kein nützliches Ergebnis liefern kann. Biologische und morphologische Gründe bringen v. Behring zu dem Glauben, daß in den ersten Lebensperioden die Aufsaugung der proteischen Stoffe außerordentlich leicht vor sich gehe, so daß also auch die in den Magendarmkanal verbrachten Schutzstoffe in dieser Lebensperiode ohne schwere Veränderungen aufgesaugt und zum Schutze des Organismus verwandt werden könnten.

Die bis heute hinsichtlich der Aufsaugung des tetanischen und diphtherischen Toxins im Verdauungsapparat erworbenen Beweise, sowie ihr Uebereinstimmen mit dem Umstande, daß die Säugetiere in der ersten Lebensperiode vom Milzbrandbacillus infiziert werden können, wenn der Keim in den Magendarmkanal eingeführt wird, während auf diesem Wege

1) Diese Larven sollten nicht mehr „Embryonen“ genannt werden, wie es noch vielfach geschieht. Ein neugeborenes Kind oder ein frisch ausgeschlüpftes Hühnchen, überhaupt jedes Tier, welches seine Eihülle verlassen hat, ist doch auch kein „Embryo“ mehr.

2) Ich habe den Ausdruck Neugeborene etwas ungenau angewandt, dies aber nur, um mich besser verständlich zu machen. Ich gebrauche nämlich das Wort „Neugeborene“, wenn ich von den kaum geborenen bis wenige Tage alten Tieren spreche, während ich unter „Säuglingen“ die Säugetiere zwischen der 2. Woche und dem Ende der Säugung verstehe.

bei den erwachsenen Tieren mit Milzbrandbacillen jeder Erfolg ausbleibt, sind immerhin Gründe, die den Anschauungen v. Behrings, wenigstens diesen Teil seiner Behauptungen anbetrifft, innerhalb gewisser Grenzen Kraft verleihen.

Ohne Zweifel ist es vom biologischen Gesichtspunkte aus gestattet, daran zu denken, daß die Schutzstoffe, die doch unzweifelhaft an die proteischen Teile der Flüssigkeiten gebunden sind, in denen die Schutzstoffe selbst aufgelöst oder angeschwemmt sind, von den Säuglingen, wenigstens in der ersten Lebensperiode, aufgesaugt werden können.

Denn ohne irgendwie in biologische Erörterungen eintreten zu wollen, sprechen doch die bekannte Tatsache (Meyer<sup>1)</sup>, daß der Magen der Säuglinge eine äußerst geringe Quantität Pepsin und Säure ausarbeitet, sowie die besondere Disposition des ganzen Epithels in der Magendarmschleimhaut<sup>2)</sup> sehr zu Gunsten der Zulässigkeit dieser Anschauung.

Wenn nun auch nähere Angaben fehlen, so betreffen diese vor allem den direkten experimentellen Beweis dafür, daß die antibakterische auf dem Wege durch den Mund erhaltene Immunität bei Neugeborenen und Säuglingen stärker sei. Nicht zahlreicher sind dann auch die Kenntnisse, die wir besitzen über die Lebensperioden und die Grenzen, innerhalb deren diese vorerst nur vermutete leichtere Immunisation bei den verschiedenen Klassen von Säugetieren eintritt.

Zweck meiner Untersuchung ist es nun, gerade zur Lösung dieser für die Immunisation der Neugeborenen durch den Mund grundlegenden Probleme einen Beitrag zu leisten.

Auf die einfachste Form zurückgeführt, stellt sich uns die Frage nun in folgendem Gewande dar:

Gibt die aktive und passive Immunisation durch den Magendarmkanal beim Neugeborenen und Säugling wirklich bessere Resultate als beim Erwachsenen? Ist es demnach vom biologischen Gesichtspunkte aus gestattet, auf eine solche Immunisationsmethode Hoffnungen zu bauen? Um diese Fragen herum drehen sich noch andere nicht weniger interessante. So müßten wir z. B. auch erfahren, bis zu welcher Altersgrenze der Säugling die Antikörper aufsaugt und sie zum Schutze des Organismus benutzt.

Sind nun nachfolgende Untersuchungen auch an einer großen Anzahl Tiere vorgenommen worden, so können sie doch nicht ohne weiteres für entscheidend gehalten werden, immerhin aber bringen sie meiner Ansicht nach etwas Licht in das Dunkel dieser Probleme. Die große Schwierigkeit, in hinreichendem Quantum geeignete Tiere (Neugeborene, Säuglinge, schwangere Weibchen) zur Hand zu haben, wurde durch die wertvolle Mithilfe des Herrn Dr. Rodolfo in Carignano überwunden, der sich nicht allein monatelang der undankbaren Arbeit unterzog, mir die geeigneten Tiere zu suchen, sondern auch selbst zum Gelingen der Arbeit in nicht geringem Maße insofern beitrug, als er fast alle Tiere auf eigene Kosten erwarb, wofür ich ihm an dieser Stelle gern meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

1) A. Meyer, Arch. f. Kinderheilkunde. Bd. XXXV.

2) Siehe hierfür auch die alles zusammenfassende Veröffentlichung v. Behrings: Tuberkuloseentstehung, Tuberkulosebekämpfung und Säuglingsernährung. Berlin 1904. Bezüglich der anderen Schriften v. Behrings siehe v. Behring in der Berl. klin. Wochenschr. 1903 und Deutsche med. Wochenschr. 1903—1904.

### Die aktive Immunisation der Säuglinge und Neugeborenen auf dem Verdauungswege.

Wenige Angaben nur besitzen wir über aktive Immunisationen im allgemeinen (gegen Bakterien und andere Elemente), aber geradezu fast keine über die an Säuglingen vorgenommenen, nach Einführung der Schutzstoffe in die Verdauungsbahn. Was aktive, antitoxische Immunisationen durch den Verdauungsapparat anbetrifft, so kenne ich nur die Arbeit von G. Carrière<sup>1)</sup>, der behauptet, daß es bei Eingabe des tetanischen Toxins oder des Schlangengiftes in die Verdauungswege nicht gelingt, die Tiere zu immunisieren.

Ueber Immunisation gegen Elemente des Organismus besitzen wir schon eine größere Anzahl Untersuchungen, so vor allem die allen bekannten, von verschiedenen Forschern wiederholten Versuche Metalnikoffs, mit denen dieser Forscher nach Eingabe roter Blutkörperchen in die Verdauungsbahn hämolytische Ambozeptoren zu erhalten suchte.

Für die bakteriolytischen Ambozeptoren existieren meines Wissens keine Versuche, nicht wenige jedoch hinsichtlich des allgemeinen Problems, bei erwachsenen Tieren nach oraler Eingabe von Keimen agglutinierende Stoffe zu erhalten.

So beobachtete Wakulenko<sup>2)</sup>, als er Kaninchen zusammen mit der Nahrung abgetötete Emulsionen von Typhus- und Cholerakulturen eingab, daß das Agglutinationsvermögen schon 14 Tage nach Beginn dieser Nahrung auf 1:500 für den Typhusbacillus und auf 1:60, 1:120 für den Cholerabacillus angestiegen war, hohe Werte, die sich nur aus den enormen eingegebenen Dosen erklären lassen.

Eine andere Probe ist in dieser Richtung auch von Schwarz<sup>3)</sup> gemacht worden. Dieser Forscher hatte nach Einführung von Bakterien und fremden roten Blutkörperchen in die Verdauungsbahn im Blute das Auftreten von hämolytischen Ambozeptoren, Agglutininen und bakteriziden Substanzen wahrgenommen. An diese Gruppe von Versuchen reiht sich jene Mercatellis<sup>4)</sup>, der eine Impfung der Tiere gegen die Pest dadurch zu erreichen suchte, daß er die Tiere z. B. die Hafkinsche Lymphe verschlucken ließ.

Viel interessanter für die umstrittene Frage sind die kürzlich von Ganghofer und Langer<sup>5)</sup> angestellten Tierversuche über die Absorption der Albumine durch den Darmkanal der Neugeborenen und Säuglinge. Beide Verf. haben dabei beobachtet, daß man bei jungen Hunden bis zum Alter von 6 Tagen in den Magen Eiweiß oder Blutserum einführen, und mit Hilfe der Präzipitine nachweisen kann, daß diese Stoffe unverändert ins Blut übergegangen sind. Ähnliches läßt sich auch bei den Kaninchen und Katzen gegen den 10. Lebenstag wahrnehmen. Führt man bei erwachsenen Hunden Rinderserum direkt in den Darm ein, also ohne das Serum der Verdauungstätigkeit des Magens auszusetzen, so findet man die eingeführten Stoffe im Blute wieder und kann sie dort mit dem Verfahren der spezifischen Präzipitine wiedererkennen. Verff. hatten außerdem Gelegenheit, in dem Blute eines 3 Wochen alten Kindes nach dem zuvor durch den Mund eingeführtem

1) Carrière, Annales Pasteur. 1899.

2) Wakulenko, A., zit. im Centralblatt f. Bakteriologie. I. Abteilung. Referate. Bd. XXXIV. 1904.

3) Schwarz, Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Ref. Bd. XXXII.

4) Mercatelli, Riforma medica. 1902.

5) Ganghofer & Langer, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 34.

Albumin suchen zu können und fanden es darin auch, jedoch in nur spärlicher Quantität.

Meine Versuche waren schon weit vorgeschritten, als die Arbeit von Tchitchkine<sup>1)</sup> erschien, der ebenfalls, wenn auch einem ganz anderen Ziele zustrebend, einige Punkte berührt, die in nachstehenden Versuchen behandelt werden.

T. ging mit seinen Untersuchungen besonders darauf aus, einen experimentellen Typhus zu erhalten, und zu beobachten, welche Veränderungen dann in dem Blute der mit Keinem genährten Tiere auftraten. Er nahm seine Versuche an erwachsenen Kaninchen und Säuglingen (welchen Alters?) vor und stellte so fest: daß, sobald man erwachsene Kaninchen mit getöteten oder lebenden Typhuskeimen nährte, im Serum Agglutinine auftraten, während bei den Säuglingen das Erscheinen solcher Agglutinine nicht beobachtet werden konnte. Dabei darf jedoch nicht übersehen werden, daß die Versuchstiere, unabhängig von Alter und Gewicht, dieselben Quantitäten Bakterienmaterials erhielten.

Dieses Problem der aktiven Immunisation durch den Verdauungsapparat bei Neugeborenen und Säuglingen kann nicht gelöst werden, ohne verschiedene andere Umstände zu berücksichtigen.

Einer der wichtigsten ist das Alter des Tieres in Beziehung zu den einzelnen Gattungen.

Es ist durchaus nicht gleichgültig, ob man Tiere von 2 oder 20 Tagen verwendet, ebensowenig ob Katzen oder Hunde, denn die fortschreitende anatomische Entwicklung des Magendarmkanals und die Funktion dieses Kanals ist bei den verschiedenen Tierarten in genau derselben Lebensperiode verschieden. Die nachstehenden Untersuchungen erstreckten sich sowohl auf Hunde wie auf Kaninchen in den verschiedenen Entwicklungsstadien, ferner sowohl auf Immunisation mit roten Blutkörperchen (die uns eine viel bessere Idee von der progressiven Bildung der Antikörper geben als die Bakterien) wie auch auf eine solche mit Bakterienformen (Typhus), wobei jedoch die Immunisation nur auf Grund der Agglutininbildung bewertet wurde.

Ich bringe hier nun vor allem die die bakterische Immunisation betreffenden Untersuchungen.

Mit Vorliebe wurden dazu Hunde herangezogen, denn die jungen Kaninchen sind nur schwer verwendbar, da es sehr schwierig ist, selbst mit Milch beträchtliche Quantitäten Keime einzuführen.

Zur Nahrung dieser jungen Hunde diente Muttermilch oder Kuhmilch. Im letzteren Falle wurden die Kulturpatinen in der Milch selbst aufgelöst und die Jungen dann mit der Saugflasche ernährt, damit nicht der geringste Teil der bakterischen Stoffe verloren gehen konnte. Bei den mit Muttermilch ernährten Hunden geschah die Einführung des bakterischen, in wenig Milch angeschwemmten Materials mit Hilfe eines Tropfenzählers.

Zu den Immunisationen wurde ausschließlich der Typhusbacillus herangezogen. Im Anfange der Behandlung wurden stets in der Hitze getötete Kulturen eingegeben, später lebende. Die verwandten Kulturpatinen waren immer sehr frisch (26—36 Stunden alt). Zu den Vergleichsproben wurden erwachsene Hunde gewählt, die zum Teil aus-

1) Tchitchkine, Annales Pasteur. 1904.



schließlich mit Milch und zum anderen Teil mit gemischter Nahrung (Fleisch, Brot und Milch) gespeist worden waren.

Die Jungen vertrugen im allgemeinen die Einführung der bakteri- schen Stoffe nicht besonders gut, selbst wenn mit der größten Vorsicht verfahren worden war, sehr oft trat da rasches Abmagern und schwerer Kräfteverfall ein.

Auch deshalb habe ich es versucht, zu einer aktiven Immunisation zu gelangen, indem ich anstatt der Bakterienpatine die mit dem Shiga- schen Verfahren präparierten Autolyseprodukte derselben verwandte.

Ich halte es für überflüssig, hier nochmals auf die Bedeutung hin- zuweisen, die das Alter des Tieres für die Erzeugung von Antikörpern haben kann, ein Faktor, dem also die vollste Aufmerksamkeit zugewandt wurde.

Ich gebe hier ohne weiteres summarisch die Daten des Protokolls, die ein klares Bild von dem Verlauf der Versuche geben.

#### Hunde: Säuglinge.

Hündin (G.): Gewicht 1180 g, Alter 32 Tage, am 7. Novbr. 1903 Probeaderlaß. Agglutiniert meinen Typhus auf 1:20.

Am 8. November wird die Behandlung begonnen. Das Tier erhält 5 Tage lang  $\frac{1}{10}$  getöteter Agarkultur per kg Gewicht, dann während 5 Tagen  $\frac{1}{5}$ , dann  $\frac{1}{2}$ . Zuletzt wird dem Tier  $\frac{1}{2}$  lebende Kultur pro kg Gewicht und pro Tag verabreicht. Die Kulturen werden mit der Milch eingegeben. Der Hund magert etwas ab.

Am 7. Dezember Aderlaß. Agglutiniert 1:100.

Hund (G.): Gewicht 1410 g, Alter 32 Tage, am 7. Dezember Ader- laß. Agglutiniert 1:20. Es wird dann wie beim vorhergehenden Hunde verfahren. Er magert rasch ab. Am 9. Dezember Aderlaß. Agglutiniert 1:80.

Hund (N.): Gewicht 970 g, Alter 32 Tage, am 7. November Ader- laß. Agglutiniert 1:20. Behandlung wie oben. Aderlaß während der Agonie infolge Marasmus am 2. Dezember. Agglutiniert 1:90.

Hund (N.N.): Gewicht 1000 g, Alter 24 Tage. Das Serum agglu- tiniert vor der Behandlung 1:40. Am 4. November beginnt die Be- handlung wie oben. Am 14. Januar 1904 Aderlaß. Agglutiniert 1:100. 4 Tage Ruhe, dann Wiederaufnahme des Verfahrens. Wird am 22. ge- tötet. Agglutiniert 1:150.

Hund (B.): Gewicht 850 g, Alter 25 Tage, am 20. Dezember Be- ginn der Behandlung. Am 23. wird sie 5 Tage lang unterbrochen, dann wieder aufgenommen. Am 9. Januar 1904 Agglutination 1:250.

Hund (P.): Gewicht 1400 g, Alter 28 Tage. Am 7. Januar 1904 Probeaderlaß. Agglutiniert 1:40. Am 8. Januar Beginn der Behand- lung. Am 22. weist das Tier schweren Durchfall auf. Am 28. Aderlaß. Agglutiniert 1:50.

Hündin (P.): Gewicht 1300 g, Alter 28 Tage. Am 7. Januar 1904 kleiner Aderlaß. Agglutination 1:30. Beginn der Behandlung am 8. Januar. Am 10. Februar Aderlaß. Agglutiniert 1:100. 3 Tage Ruhe, dann Wiederaufnahme der Ernährung mit Keimen. Am 28. wird das Tier getötet. Agglutiniert 1:150.

Hund (N.): 3 Junge im Gewicht von 1000—1200 g, Alter 32 Tage. Am 12. Februar 1904 Aderlaß bei einem derselben probeweise. Agglu- tiniert 1:30.

Sodann werden nach Shiga bereitete autolytische Produkte verab-

reicht, und zwar 5 Tage lang je 2 ccm derselben, und dann pro Tag 4 ccm. Am 24. Februar wird eines der Tiere getötet. Agglutiniert 1:60. Das zweite wird zu Ader gelassen am 27. und agglutiniert 1:80. Das letzte wird am 12. März getötet und agglutiniert 1:80.

#### Neugeborene Hunde.

Später wurden einige Versuche mit neugeborenen Hunden ausgeführt. Die Verabreichung des in Milch emulsierten bakterischen Materials ist hier schon schwieriger, doch gelingt es bei etwas Geduld, dem Tiere tropfenweise die Bakterienemulsion einzuführen.

I. Versuch: Am 12. Dezember 1904 warf eine Hündin 5 Junge. Eines davon wird getötet, um ein Kontrollserum zu besitzen. Agglutiniert schwach 1:4.

10 Stunden nach Geburt wird den Jungen in den oben für die saugenden Hunde gegebenen Verhältnissen die Bakterienemulsion verabreicht.

Nach dem 4. Tage wird eines getötet. Agglutiniert 1:2. 8 Tage nach Beginn der Behandlung wird ein weiteres geopfert. Agglutiniert 1:10. Nach 15 Tagen ein drittes. Agglutiniert 1:20. Das letzte wird nach 24 Tagen getötet. Agglutiniert 1:100.

II. Versuch: Am 10. Dezember 1904 wirft eine Hündin 4 Junge. Eines wird geopfert. Agglutiniert 1:1. Die Behandlung beginnt 18 Stunden nach der Geburt wie oben beschrieben für 2 Hunde. Nach 2 Tagen wird einer getötet. Agglutiniert 1:1. Nach 8 Tagen ein anderer. Agglutiniert 1:6. Die Behandlung des 3. Hundes beginnt am 3. Lebens-tage. Nach 4tägiger Behandlung wird er geopfert. Agglutiniert 1:15.

#### Erwachsene Hunde.

Hund (N.F.): Gewicht 5250 g. Das Serum agglutiniert 1:20 vor der Behandlung. Das Tier wird auf Brot und Milch gehalten; die Patinen erhält es in den für die Hündchen festgesetzten Gewichtsverhältnissen. Am 31. Januar 1904 Aderlaß. Agglutiniert 1:50. Am 18. Februar anderer Aderlaß. Agglutiniert 1:80.

Hündin (N.): Gewicht 7200 g. Kontrollagglutination vor der Behandlung 1:10. Am 21. Januar 1904 Beginn der Behandlung. Gemischte Kost. Am 20. Februar Aderlaß. Agglutiniert 1:100.

Hündin (G.): Gewicht 4800 g. Am 20. Januar 1904 Aderlaß. Agglutiniert 1:10. Am 21. Beginn der Behandlung. Gemischte Kost. Probeaderlaß am 14. März. Agglutiniert 1:60.

Hund (N.N.): Gewicht 4000 g. Agglutination vor der Behandlung 1:10. Vom 18. April ab erhält er 5 ccm autolytische Produkte pro Tag. Milchkost. Agglutiniert 1:15.

Später werde ich auf die Ergebnisse dieser Versuche zu sprechen kommen. Es konnte nun wohl das Bedenken entstehen, daß die Immunisation der Tiere zu schnell vorgenommen worden sei, und daß das Abmageren und der schwere Marasmus dazu beitragen, die Produktion der Agglutinine zu alterieren.

Aus diesem Grunde habe ich einem kleinen Hunde in den üblichen Gewichtsverhältnissen Kulturpatinen eingegeben, aber nicht mehr alle Tage, sondern nur einmal alle 4 Tage mit folgendem Ergebnis:

Hund (P.): Gewicht 1000 g, Alter 28 Tage. Am 8. Januar 1904 Probeaderlaß. Agglutiniert 1:15. Am 9. Beginn der Behandlung, dauert bis zum 16. April. Aderlaß. Agglutiniert 1:125.

Prüft man nun alle diese Daten, so geht daraus ohne weiteres nachstehendes hervor.

Vor allem gelingt im allgemeinen die Immunisation der Hunde gegen den Typhus, soweit wenigstens die Bildung der Agglutinine in Frage kommt, mittelmäßig gut, wenn die bakterischen Stoffe durch den Mund eingegeben werden. Bei den säugenden Hunden verursacht die tägliche Verabreichung des Bakterienstoffes meist bedeutenden Kräftezerfall, auch dann, wenn vorsorglich nur eine ganz geringe Quantität Material eingegeben wird.

Die Bildung der Agglutinine geschieht in sehr konstanter Weise. Bei den neugeborenen Hunden scheint der Organismus wenigstens in den ersten 3 oder 4 Tagen noch nicht die Fähigkeit zu besitzen, auf die Einführung der Keime durch den Magendarmkanal mit Bildung von agglutinierenden Antikörpern zu reagieren. Später beginnt aber diese Fähigkeit und es kommt so eine mäßige Produktion von Agglutininen zu stande. Beim erwachsenen Hunde dauert dieses Vermögen fort, scheint aber ein wenig abgeschwächt. Vielleicht kann dieser Umstand auch der Kost entspringen, doch ist bei den wenigen Prüfungen ein größerer Sprung in den Daten nicht zu beobachten gewesen.

Nun könnte man jedoch gegen die Versuche verschiedene Einwände erheben. Erstens könnte man hervorheben, daß man nicht bei allen Fällen und den entsprechenden einzelnen Tieren stets eine Präventivprobe des Agglutinationsvermögens ausgeführt habe. Dagegen führe ich jedoch an, daß bei diesen Fällen wenigstens immer bei einem der zu gleicher Zeit und von derselben Mutter geborenen Jungen die Agglutinationskraft des Serums erprobt wurde, denn nach den Untersuchungen Stäubli<sup>1)</sup> besitzen alle bei demselben Wurf geborenen Jungen dasselbe Agglutinationsvermögen.

In zweiter Linie könnte man mich dann hinsichtlich der Quantität bakterischer Patina, die den verschiedenen Tieren eingegeben wurde, fragen: Entspricht die gewählte Verabreichungsweise für proportional zum Gewicht der Hunde gewählte Bakterienquantitäten allen Anforderungen, die eine Probe dieser Art an die Methode stellt.

Ohne Zweifel gebührt bei der Bildung des Agglutinins nach Einführung der bakterischen Patinen durch den Mund der maximale Koeffizient der Reaktionserscheinung der Entwicklung der Oberfläche des aufsaugenden Darmes, wonach es somit logischer gewesen wäre, das Verhältnis zwischen der aufsaugenden Oberfläche bei Säuglingen und Erwachsenen festzusetzen. Doch hat eine Unmenge von sekundären Tatsachen später die Daten derart verändert, daß es mir viel ratsamer erschien, zu dieser leichten und gleichmäßigen Messung des Gewichtsverhältnisses zu greifen, die nachher auch bei allen anderen Proben aktiver und passiver Immunisation zur Verwendung kam.

Alles zusammenfassend ergibt sich also aus den unter gegebenen Verhältnissen angestellten Versuchen, daß die neugeborenen Hunde keine Agglutinine zu bilden vermögen, und daß eine merkliche Bildung von agglutinierenden Antikörpern erst nach 4—5 Tagen beginnt.

Bei den Säuglingen hat man unter gegebenen Verhältnissen eine etwas höhere Agglutininbildung als bei den Erwachsenen.

1) Stäubli, C., Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Bd. XXXIII.

Aehnliche und gleichartige Versuche wurden zwecks Immunisation erwachsener und neugeborener Tiere gegen Zellelemente ausgeführt. Es dienten dazu Hunde und Kaninchen, und als Immunisationselement rote Blutkörperchen von Hühnern. Die verabreichten Dosen waren 1 ccm defibriniertes Hühnerblut auf 100 g Gewicht des Tieres. Bei den erwachsenen Tieren bediente ich mich einer passenden Magensonde, bei den kleinen geschah die Einführung durch den Mund tropfenweise. Schwieriger ist die Behandlung bei den neugeborenen Kaninchen, die nach der Einführung kleiner Quantitäten Hühnerblut per os rasch absterben. Es waren deshalb sehr viele Versuche nötig, ehe es mir gelang, einige der behandelten Tiere am Leben zu erhalten.

Geht man jedoch mit großer Vorsicht vor, so gelingt es zuweilen, auch den säugenden Kaninchen mäßige Quantitäten roter Blutkörperchen einzuverleiben.

Ich führe nachstehend in Kürze die in den verschiedenen Lebensperioden bei Neugeborenen und Säuglingen und bei den erwachsenen Kontrolltieren erhaltenen Resultate an. Die Dosis wurde für die erwachsenen Tiere zuweilen abgemindert, weil es doch bei 6—8 kg schweren Hunden ziemlich schwierig wurde, eine Quantität Blutkörperchen einzuführen, die dem Verhältnis 1 ccm Blut pro 100 g Tiergewicht entsprochen hätte. Darüber werde ich jedoch späterhin näheres berichten.

Die Hämolyseproben wurden in der gewohnten Weise vorgenommen. Es dienten dazu  $\frac{1}{2}$ —1—3—8—10—20 Tropfen frischen Serums des immunisierten Tieres. (Es versteht sich, daß ein Tropfen ungefähr  $\frac{1}{20}$  ccm entspricht.) Die Einzelheiten übergehe ich. Ich bemerke nur, daß alle Fehlerquellen möglichst vermieden wurden. Die Hämolyseangaben sind nicht, wie leicht verständlich, absolut, doch habe ich durch Verwendung von Kontrollröhrchen für eine Einteilung Sorge getragen, die wenigstens ein relatives und vergleichbares Bild von den erhaltenen Ergebnissen liefern konnte.

Ich bediene mich der Ausdrücke: Spuren von Hämolyse, äußerst schwache Hämolyse, sehr schwache Hämolyse, schwache, spärliche, mäßige, ziemlich gute, gute und vollständige Hämolyse, und zeige damit die verschiedenen Grade der eingetretenen Hämolyse an. Diese Adjektive sind nun weit davon entfernt, absolute Werte zu vertreten, doch dienen sie immerhin zu einem relativen Verständnis der Verhältnisse.

Aderlässe wurden nie vor dem 4. Tage nach Eingabe der roten Blutkörperchen ausgeführt.

Nachstehend die Protokollberichte im Auszug:

#### Versuche mit Kaninchen.

Neugeborene erhalten Hühnerblut tropfenweise im Verhältnis von 1 ccm pro 100 g Tier. Es dienen dazu 8 Stunden alte Kaninchen. Nach vielen Versuchen gelingt das Experiment bei 3 Tieren gut. 4 Tage nach Eingabe werden die Tiere enthauptet und das Blut angesammelt. Negative Hämolyse auch bei 20 Tropfen Serum pro 1 ccm Hühnerblutkörperchenemulsion.

Der Versuch wird an 2 Tieren wiederholt; 4 Tage nach Verabreichung wird das Tier geopfert. Negative Hämolyse auch nach 20 Tropfen Serum.

Das andere erhält 7 Tage nach der ersten eine zweite Dosis Blutkörperchen, 5 Tage darauf (ungefähr am 13. Lebenstage) wird es getötet.

Hämolyse mit  $\frac{1}{2}$ —1—3—5 Tropfen negativ, mit 10—20 Tropfen Spuren.

Säuglinge. Kleines 8 Tage altes Kaninchen erhält nur 1mal Hühnerblut und wird 4 Tage nachher getötet.

Hämolyse negativ auch mit 20 Tropfen.

Kleines 8tägiges Kaninchen erhält 2mal, mit 7 Tagen Abstand, Hühnerblut, und wird getötet.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen = 0, 3—5 Tropfen, Spur; 10—20 Tropfen, äußerst schwach.

12 Tage altes Kaninchen erhält 2 Eingaben wie die vorstehenden.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen, Spur, 3—5 Tropfen, äußerst schwach, 10—20 Tropfen, schwach.

12 Tage altes Kaninchen erhält nacheinander 3 Eingaben wie vorbeschrieben.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen, Spur. 5—10 Tropfen, äußerst schwach, 10—20 Tropfen, schwach.

15 Tage altes Kaninchen erhält eine Eingabe.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1—3—5 Tropfen = 0, 10 Tropfen, Spur, 20 Tropfen, äußerst schwach.

18 Tage altes Kaninchen erhält nur 1mal Blutkörperchen.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1—3 Tropfen, Spur, 5—10 Tropfen, äußerst schwach, 20 Tropfen, schwach.

30 Tage altes Kaninchen erhält nur 1mal Blutkörperchen.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen = 0, 3 Tropfen, Spur, 5—10 Tropfen, äußerst schwach, 20 Tropfen, schwach.

Anderes 30 Tage altes Kaninchen erhält nur eine Eingabe.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$  Tropfen = 0, 1 Tropfen, Spur, 3—5 Tropfen, äußerst schwach, 10 Tropfen, schwach, 20 Tropfen, mäßig.

Anderes, ebenfalls 30tägiges Kaninchen erhält nacheinander 2mal Blutkörperchen.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen, Spur, 3—5 Tropfen, äußerst schwach, 10 Tropfen, schwach, 20 Tropfen, mäßig.

Erwachsene. — Kaninchen. Einmalige Eingabe von Blutkörperchen.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen = 0, 5—10—20 Tropfen, Spur.

Kaninchen: 2malige Eingabe von Blutkörperchen.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen, Spur, 1—3 Tropfen, äußerst schwach, 5—10—20 Tropfen, schwach.

### Versuche an Hunden.

Neugeborene. Drei wenige Stunden alten Jungen wird wie üblich Hühnerblut eingegeben. Nach 4 Tagen wird eins getötet.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1—3—5 Tropfen = 0, 10—20 Tropfen, Spur. Das andere erhält ein zweites Mal Hühnerblut. 4 Tage darauf Aderlaß.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$  Tropfen = 0, 1—3 Tropfen, Spur, 5—10 Tropfen, äußerst schwach, 20 Tropfen, schwach.

Säuglinge. 15tägiges Junges erhält einmal rote Blutkörperchen und wird nach 4 Tagen getötet.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1—3 Tropfen = 0, 5—10 Tropfen, Spur, 20 Tropfen, äußerst schwach.

15 Tage altes Junges erhält 2mal nacheinander Blutkörperchen.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen, Spur, 3 Tropfen, äußerst schwach, 5—10 Tropfen, schwach, 20 Tropfen, spärlich.

20 Tage altes Junges erhält 3 Eingaben.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen, Spur, 3 Tropfen, schwach, 5—10 Tropfen, mäßig, 20 Tropfen, gut.

1 Monat altes Junges erhält 2mal Blut.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen Spur, 3—5 Tropfen, äußerst schwach, 10—20 Tropfen, mäßig.

1 Monat altes Junges erhält 3mal Blut.

Hämolyse  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen, schwach, 3—5 Tropfen, mäßig, 10—20 Tropfen, gut.

Erwachsener Hund erhält Blut im Verhältnis zu seinem Gewicht. Die Eingaben werden 3mal gemacht und jeweils 4 Tage nachher ein Aderlaß, wonach das hämolytische Vermögen des Blutes erprobt wird.

Hämolyse nach der 1. Eingabe  $\frac{1}{2}$ —1—3 Tropfen = 0, 5—10 Tropfen, Spur. Nach der 2. Eingabe  $\frac{1}{2}$ —1—3 Tropfen, Spur, 5 Tropfen, äußerst schwach, 10 Tropfen, schwach, 15 Tropfen, mäßig. Nach der 3. Eingabe  $\frac{1}{2}$ —1—3 Tropfen, Spur, 5—10 Tropfen, schwach, 20 Tropfen, ziemlich gut.

Erwachsener Hund erhält in gleicher Weise 3 Eingaben (Blutkörperchen nur in  $\frac{1}{2}$  Dosis zu dem gewöhnlichen Gewichtsverhältnisse).

Hämolyse nach 1. Eingabe  $\frac{1}{2}$ —1—3—5 Tropfen = 0, 10—20 Tropfen, Spur. Nach der 2. Eingabe  $\frac{1}{2}$ —1—3 Tropfen, Spur, 5—10 Tropfen, äußerst schwach, 20 Tropfen, schwach. Nach der 3. Eingabe  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen, äußerst schwach, 3—5 Tropfen, schwach, 10 Tropfen, gut, 20 Tropfen, fast vollständig.

Man kann also auch hinsichtlich der hämolytischen Antikörper (Ambozeptoren) behaupten, daß ihre Bildung sowohl bei Hunden wie auch bei Kaninchen in den ersten Lebenstagen nicht stattfindet, sondern anscheinend erst gegen den 4. oder 5. Tag beginnt, und wahrscheinlich rascher bei den Hunden als bei den jungen Kaninchen vor sich geht.

Späterhin wächst dieses Vermögen in einer Weise, daß gegen den 15.—20. Tag darin kein großer Unterschied mehr wahrzunehmen ist im Vergleich mit den erwachsenen Tieren. Unter den Säuglingen läßt sich schließlich während der ganzen Milchperiode kein besonderer Zeitpunkt ausfindig machen, in welchem das Antikörperproduktionsvermögen erhöht wäre. Wenn dann doch ein kleiner Unterschied existiert, so kann er angesichts der angewandten Verfahren übergangen werden.

Die Beobachtung, daß Neugeborene keine hämolytischen Antikörper zu erzeugen vermögen, könnte auf die Entgegnung stoßen, daß das negative Ergebnis des Versuches vielleicht einfach von dem Mangel an Komplementen in den Reagenzröhrchen abhängen könne; denn nach den Beobachtungen Sachs' <sup>1)</sup> ist das Komplement auch in den ausgetragenen Früchten, und somit wahrscheinlich auch in den Neugeborenen 20mal weniger reichlich als in den Erwachsenen.

Um nun jeden diesbezüglichen Zweifel zu heben, habe ich Kontrollversuche ausgeführt und dabei in alle Versuchsröhrchen der hämolytischen Probe in das des Serum neugeborener Hunde und Kaninchen einige

1) Sachs, H., Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIV.

Tropfen frischen normalen Kaninchenserums gegossen. Trotzdem aber änderte sich das Ergebnis in keiner Weise, wodurch also auch diese eventuelle Entgegnung ihren Halt verliert.

#### Die passive Immunisation der Säuglinge und Neugeborenen auf dem Verdauungswege.

Die passive Immunisation auf dem Verdauungswege ist schon früher (im allgemeinen unabhängig vom Alter) besonders gelegentlich der antitoxischen Immunisation zur Ausführung gekommen. Perini, Zagari und Calabrese, Coggi, Paltschikowsky, Nicolas und Arloing und verschiedene andere Forscher haben schon früher (und ganz neuerdings Onorato) die Eingabe des antidiphtherischen Serums in die Verdauungsorgane zwecks Immunisation der Kinder und Tiere versucht. Das Ergebnis war nicht sehr ermutigend und auf jeden Fall so weit davon entfernt, mit den subkutanen Einführungen verglichen werden zu können, daß das Verfahren nicht wieder aufgenommen wurde.

Ganz neuerdings erst wurden Proben dieser Art von F. Figari mit dem Tuberkelantitoxin Maraglianos wiederholt. Die Resultate waren sowohl bei Menschen wie auch bei Tieren mehr als mäßig. Auch Maragliano<sup>1)</sup> sagt, daß die in die Verdauungsorgane eingeführten Tuberkelantitoxine aufgesaugt und zum Schutze des Organismus verwendet werden.

Uebrigens ist es zweifellos, daß auch andere Schutzstoffe durch den Magendarmkanal passieren und so vom Organismus verwandt werden können.

Davon werden uns schon die Beobachtungen B. Salzes<sup>2)</sup> überzeugen, der wahrnahm, daß das Stillen gegen Diphtherie immunisierter Mütter auch den Säuglingen Immunität verlieh, sowie diejenigen Ganghofners und Langers<sup>3)</sup> über die Einführung von Eiweiß in den Magen eines 3 Wochen alten Kindes und die Neumanns<sup>4)</sup>, nach der die Säuglinge der von Keuchhusten geheilten Mütter nur äußerst selten von solcher Infektion befallen werden.

Soviel ich weiß, existieren keine direkten experimentellen Versuche darüber, ob bei den Neugeborenen und Säuglingen die Passage der immunisierenden Stoffe im hohen Maße stattfindet, sondern nur einige dahingehörige Daten, die sich in den Arbeiten Figaris<sup>5)</sup> über die Aufsaugung der tuberkulösen Agglutinine und Antitoxine vorfinden. Wenn uns dann auch die Kenntnis der Verdauungschemie des Neugeborenen und Säuglings daran zu denken erlaubt, daß die proteischen Moleküle, an die die immunisierenden Stoffe gebunden sind, durch den Verdauungsapparat des Säuglings viel besser unverändert passieren können, als durch den des Erwachsenen, so haben wir doch andererseits keine direkten Beweise für diese Erscheinung.

Meine diesbezüglichen Versuche wurden an Hunden und Kaninchen vorgenommen. Ich habe mir Tiere verschiedenen Alters verschafft, von Neugeborenen (wenige Stunden alten) bis zu einem Monate alten Tier-säuglingen. Außerdem habe ich jedesmal die nötigen Quantitäten gut

1) Maragliano, E., Clin. med. Ital. 1903. Vol. XII.

2) Salze, B., Jahrb. f. Kinderheilkunde. Vol. LX. Fasc. 1.

3) a. l. c.

4) Neumann, H., Deutsche med. Wochenschr. 1895.

5) Figari, F., Berliner klin. Wochenschr. 1903/04. Annali dell' Istituto Maragliano. 1904.

agglutinogenen und agglutinabeln Serums von gegen Laboratoriumstypus immunisierten Hunden und Kaninchen bereit gehalten. Von diesem passend aufbewahrten Serum wurde stets das Agglutinationsvermögen mit demselben Stamm des Typhusbacillus bestimmt.

Verschiedenen Tieren, Neugeborenen, Säuglingen und Erwachsenen, wurden ein- oder mehrmal verschiedene Quantitäten bestimmten agglutinierenden Serums durch den Mund eingegeben, wozu bei den erwachsenen Tieren die Sonde und bei den Säuglingen Pipetten dienten. Nach einer gewissen Zeit wurden die Tiere dann getötet und das Agglutinationsvermögen gegen denselben Stamm Typhuskultur erprobt.

Nicht bei allen Tieren konnte vor Eintritt in die Behandlung diese Agglutinationsprobe gemacht werden, doch zum mindesten einmal für jede Gruppe Tiere derselben Mutter und derselben Geburtszeit.

Da nun die zur Behandlung verwandten Seren nicht immer dasselbe Agglutinationsvermögen besaßen, so war es immerhin weniger einfach, vergleichbare Verhältnisse festzustellen, die die eingegebenen Agglutininquantitäten ausdrücken sollten. Zum besseren Verständnis habe ich als Maßeinheit (Agglutinineinheit) die Quantität Agglutinin angenommen, die in 1 ccm Serum enthalten ist, welches im stande ist, meinen Typhus auf 1:1 zu agglutinieren.

Es besitzt also ein Serum, das in Quantität von 1 ccm 1:1000 agglutiniert, 1000 A.E. in 1 ccm.

Die Eingaben von agglutinierendem Serum werden dann, ohne das Volumen zu berücksichtigen, einfach in A. E. ausgedrückt. Sage ich also, daß ein Tier 1000 A.E. erhalten hat, so will das ohne Unterschied besagen, daß es 1 ccm 1:1000 agglutinierenden Serums erhalten hat oder 2 ccm eines 1:500 agglutinierenden Serums.

Nachstehend in kurzer Fassung die Berichte des Laboratoriumsprotokolls.

#### Passive Immunisation des Hundes.

Neugeborene. Ein 8 Stunden alter Hund, Gewicht 160 g, erhält 1 ccm Serum mit 4000 A.E. 6 Tage nachher Aderlaß. Agglutinationsvermögen 1:20.

Ein anderer Hund desselben Gewichts erhält 2mal (8 Stunden und dann 6 Tage nach der Geburt) im ganzen 8000 A.E. Agglutinationsvermögen 12 Tage nach der Geburt 1:30.

Ein 3. Hund. Gewicht 180 g, erhält 3mal (8 Stunden, 6 und 13 Tage nach der Geburt) im ganzen 4000 A.E. Aderlaß am 18. Tage. Agglutination 1:25.

Vor dem Versuch agglutinierte ein Hund gleichen Gewichtes 1:2.

Mit 3 anderen neugeborenen Hunden wird der Versuch wiederholt. Vor der Probe wird ein 4. Hund getötet. Agglutination negativ.

Von den 3 Hunden wird dem 1. einmal, dem 2. zweimal, dem 3. dreimal eingegeben, resp. je 2000, 4000, 6000 A.E.

Die Agglutinationsproben ergaben die respektiven Werte 1:30, 1:30, 1:40.

Säuglinge. 12tägiges Hündchen, Gewicht 500 g, erhält in 10 Tagen 14000 A.E. Agglutination des Serums 1:10.

20 Tage altes Hündchen, Gewicht 750 g, erhält in 15 Tagen 22000 A.E. Agglutination 1:30.

20 Tage altes Hündchen, Gewicht 700 g, erhält in 25 Tage 38000 A.E. Agglutination 1:40.



25 Tage altes Hündchen, Gewicht 900 g, erhält in 16 Tagen 10000 A.E. Agglutination 1:20.

25 Tage altes Hündchen, Gewicht 600 g, erhält in 10 Tagen 10000 A.E. Agglutination 1:8.

40 Tage altes Hündchen, Gewicht 1000 g, erhält in 8 Tagen 18000 A.E. Agglutination 1:10.

Erwachsener Hund, Gewicht 4200 g. Agglutination vor dem Versuch 1:8, erhält in 12 Tagen 30000 A.E. Agglutination 1:10.

Erwachsener Hund, Gewicht 3600 g. Agglutination vor dem Versuch 1:10, erhält in 20 Tagen 100000 A.E. Agglutination 1:40.

Das zu den Immunisationen verwandte Serum rührte immer von zuvor immunisierten Hunden her.

#### Passive Immunisation beim Kaninchen.

Für die passiven Immunisationen des Kaninchens diente immer zuvor immunisiertes Kaninchenserum. Die Bewertungen wurden in der vorbeschriebenen Weise ausgeführt.

Neugeborene. 3 wenige Stunden alte Kaninchen erhalten 2000 A.E. Am 4. Tage Aderlaß. Agglutination 1:40, 1:30, 1:40.

Ein neugeborenes Kaninchen erhält von der 12. Lebensstunde bis zum 10. Tage 6000 A.E. Agglutination 1:80.

Säuglinge. 10tägiges Kaninchen erhält 20000 A.E. in 6 Tagen. Agglutination 1:10.

10tägiges Kaninchen, Gewicht 130 g, erhält ein einziges Mal 10000 A.E. Agglutiniert 1:10. Die vor dem Versuch an einem anderen Kaninchen desselben Wurfes festgestellte Agglutination ergibt 1:2.

10tägiges Kaninchen, Gewicht 130 g, erhält in 20 Tagen 80000 A.E. Agglutination 1:30.

10tägiges Kaninchen. Gewicht 150 g, erhält auf einmal 12000 A.E. Agglutination 1:10.

12tägiges Kaninchen, Gewicht 170 g, erhält in 18 Tagen (3 Eingaben) 90000 A.E. Agglutination 1:10.

1 Monat altes Kaninchen, Gewicht 270 g, erhält 30000 A.E. in 12 Tagen. Agglutination 1:20.

1 Monat altes Kaninchen, Gewicht 210 g, erhält 15000 A.E. in 6 Tagen. Agglutination 1:10.

18tägiges Kaninchen, Gewicht 180 g, erhält 8000 A.E. in 2 Malen (10 Tagen). Agglutination 1:20.

Erwachsene. Erwachsenes Kaninchen, Gewicht 1500 g, erhält 1mal 30000 A.E. Agglutination 1:20. Erhält dann weitere 40000 A.E. Agglutination 1:40.

Anderes erwachsenes Kaninchen, Gewicht 1800 g, erhält in 3 Malen (18 Tagen) 100000 A.E. Agglutiniert 1:30. Erhält dann noch andere 50000 A.E. in einem 4. Mal. Agglutination 1:40.

Wo es nicht besonders bemerkt, versteht es sich, daß die Blutentnahme zwecks Agglutinationsprobe stets 4—5 Tage nach der letzten Eingabe von agglutinierendem Serum ausgeführt worden ist.

Die Betrachtung der Daten berechtigt ohne weiteres zu einigen Folgerungen. Und sind dann auch die Daten nicht alle unter sich sehr gut vergleichbar (besonders wegen der verschiedenen Gewichte und der

ungleichen eingeführten A.E.-Quantitäten), so bieten die erhaltenen Ergebnisse doch eine derartige Uebereinstimmung, daß sie als absolut annehmbar aufgefaßt werden dürfen.

Bei allen dem Versuch unterworfenen Tieren gelingt die passive Immunisation durch den Magendarmkanal nur schlecht; denn es bedarf zuweilen enormer Quantitäten A.E., um im Blute der Tiere ein äußerst spärliches Agglutinationsvermögen zu erhalten.

Individuelle Variationen haben überdies eine große Bedeutung für das Ergebnis der passiven Immunisation. Einzelne Tiere bieten mit einer relativ niedrigen Zahl A.E. ein stärker agglutinierendes Serum, als andere Tiere, bei denen große Agglutininquantitäten eingeführt wurden.

In den verschiedenen Altersstufen fällt die passive Immunisation auf dem Verdauungswege allgemein schlecht aus, doch beobachtet man bei den Neugeborenen (was bei den Hunden deutlicher zu Tage tritt) eine leichtere Agglutininaufsaugung. In der Stillungsperiode und nach den ersten Lebenstagen scheint diese Absorption nicht mehr eben so gut vor sich zu gehen. Zweifellos ist, wenn man alle Experimentationsverhältnisse in Rechnung zieht, das praktische Ergebnis, wenigstens hinsichtlich der Passage des Agglutinins in die Blutbahn, bei diesen Säuglingen nicht viel größer als bei den erwachsenen Tieren.

Alles in allem, findet also nur in den ersten Lebenstagen eine leichtere Absorption der Agglutinine durch den Magendarmkanal statt.

Es ist dies aus verschiedenen Gründen ein wichtiger Umstand, der uns an die Beobachtungen Escherichs<sup>1)</sup> hinsichtlich der Eingabe antidiphtherischen Serums durch den Magendarmkanal erinnert. Denn nach Escherich findet sich das durch den Magendarmkanal eingeführte Antitoxin nur bei den Säuglingen und ganz besonders bei den ganz jungen in der Blutbahn vor. Dieser Vorgang stimmt jedoch nicht ganz mit den von Figari mit tuberkulösen Agglutininen gemachten Beobachtungen überein, denn nach diesem Autor können auch die erwachsenen Tiere die in der immunisierten Milch enthaltenen spezifischen anti-tuberkulösen Stoffe aufsaugen und verwerten.

Gegen alle gegebenen experimentellen Versuche und besonders gegen die der passiven Immunisation kann nun eine gründliche Einwendung gemacht werden.

Mit anderen Worten könnte man darauf hinweisen, daß die von uns mit dem Serum verabreichten Agglutinine an einige proteische Teile des Serums und wahrscheinlich auch an die globulinen Fraktionen gebunden sind. Nun ist es immerhin möglich, daß bei den Neugeborenen und den Säuglingen, vielleicht auch bei den Erwachsenen, die diese proteischen Fraktionen betreffenden Absorptionsbedingungen nicht verglichen werden können mit denen, die wir in den praktischen Fällen passiver Immunisation mit der Milch immunisierter Tiere haben, wobei die Schutzstoffe (also wahrscheinlich auch das Agglutinin) an proteische

1) Escherich, Wiener klin. Wochenschr. 1897.

Fractionen der Milch gebunden sind, die dann ihrerseits ganz anders aufsaugbar sind als die proteischen Fractionen des Blutes.

So wie der Versuch nun geführt worden ist, konnte er doch zum mindesten besagen, ob die Aufsaugung des proteischen Materials, an das das Agglutinin gebunden ist, auf den verschiedenen Altersstufen in verschiedener Weise vor sich gehe.

Die praktischen Versuchsergebnisse aber hinsichtlich der Immunisation der Säuglinge, wie sie bei immunisierten Müttern eintritt, die ihre Jungen säugen, können nicht für zuverlässig genug gehalten werden.

Daß mit der Milch zahlreiche immunisierende Stoffe und auch Agglutinine ausgegeben werden, ist seit längerer Zeit bekannte Tatsache. Schmidt und Pflasy<sup>1)</sup> haben vor fast einem Jahrzehnt nachgewiesen, daß mit der Milch einer immunisierten Mutter diphtherische Antitoxine ausgestoßen werden. Auch Ehrlich und Wassermann<sup>2)</sup> haben gefunden, daß mit der Milch Antitoxine ausgeschieden werden. In gleicher Weise stellten Salomonsen und Madsen<sup>3)</sup> fest, daß bei den immunisierten Tieren mit der Milch diphtherisches Antitoxin losgelöst wird, dessen Quantität mit jeder Inokulation wächst. Später haben Kraus<sup>4)</sup>, Achard<sup>5)</sup>, Schuhmacher<sup>6)</sup> und dann Daddi<sup>7)</sup>, sowie einige andere dargetan, daß die typhösen Agglutinine sich in der Milch der Frauen finden, die an Typhus gelitten haben, oder in Tieren, die mit Typhusbacillen behandelt worden waren. Auch Roemer<sup>8)</sup> hat dann neuerdings bemerkt, daß das Antitoxin sich in der Milch der immunisierten Frauen finden und so in die Säuglinge gelangen kann.

Nach diesem Autor nun geschieht die Aufsaugung der Antitoxine nur in den ersten Lebenstagen und dann nicht mehr, und zwar nicht so sehr, weil das Antitoxin im Magen zerstört werden könnte, als vielmehr infolge der erschwerten Aufsaugung desselben.

Im Laufe meiner schon angeführten Versuche hatte ich nicht nur sehr oft Gelegenheit, die Passage der Agglutinine in die Milch wahrzunehmen, sondern habe auch einige Proben ausgeführt, die mir hinsichtlich der Aufsaugung der in der Muttermilch enthaltenen Schutzstoffe und besonders der Agglutinine von seiten der Säuglinge interessant zu sein scheinen.

Zu verschiedenen Zeiten habe ich Hündinnen und weibliche Kaninchen in Beobachtung gehalten, die ungefähr zur selben Zeit gedeckt worden waren, gewöhnlich Gruppen von 3—4 Hündinnen und 4 bis 6 Kaninchen.

Ein Teil dieser Tiere wurde vorsichtig mit Typhus inokuliert. Nur die Kaninchen vertrugen die Behandlung schlecht und abortierten leicht, bei den Hündinnen gab die Inokulation zu keinen nachteiligen Folgen Anlaß.

Nach erfolgter Geburt wurde das Agglutinationsvermögen des Serums und der Milch der immunisierten Mütter geprüft und sodann auch das der von ihnen geworfenen Jungen. Ein kleiner Teil der Jungen wurde darauf den Müttern gelassen, ein zweiter Teil nicht immunisierten

- 1) Schmid und Pflasy, Wiener klin. Wochenschr. 1896.
- 2) Ehrlich und Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII.
- 3) Salomonsen und Madsen, Annales Pasteur. Vol. VII.
- 4) Kraus, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXI. Abt. I.
- 5) Achard, Semaine Med. 1896.
- 6) Schuhmacher, H., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII.
- 7) Daddi, Revista de Clinica Medica. 1904.
- 8) Roemer, Berl. klin. Wochenschr. 1901.

Müttern gegeben und der Rest mit den Saugflaschen gestillt. Außerdem wurden an die Brust der immunisierten Mütter auch einige von anderen nicht immunisierten Müttern geworfene Junge gegeben.

Bei den Kaninchen gelang der Versuch niemals vollständig. Meistens weigerten sich die Mütter die Jungen anderer zu nähren und töteten auch alle Neugeborenen. Bei den Hunden fiel dagegen der Versuch 3mal ziemlich gut aus.

Bei den Kaninchen konnten wir aber wenigstens wahrnehmen, wie in den Jungen das Agglutinationsvermögen zunahm, infolge der Stillung an der Brust immunisierter Mütter.

Bezüglich des schon erwähnten Durchganges des Agglutinins in die Milch besagen die von mir angestellten Versuche nur, daß die Agglutinine sich in mäßiger Quantität in der Milch finden im Vergleich zu den Agglutininen des Serums.

So agglutinierte in einem Falle das Serum 1:800, die Milch 1:50.

In einem anderen Falle agglutinierte das Serum 1:2000, die Milch 1:100.

Der höchste bei einer Hündin mit 1:4000 agglutinierendem Serum angetroffene Agglutinationswert war 1:200.

Bezüglich der übrigen Proben lasse ich nachstehend die Daten in Kürze folgen.

Ein Kaninchen (November 1904), schwanger, wird mit Typhus immunisiert. Im Augenblick des Wurfes agglutiniert sein Serum 1:400. Von 6 Jungen wird 1 sofort getötet, Agglutination 1:40. Die Milch der Mutter agglutiniert 1:30. Nach 8 Tagen Stillung töteten wir ein anderes, es agglutiniert 1:70; nach 14 Tagen wieder ein anderes, Agglutination 1:80. Nach 1 Monat wird ein 3. getötet, Agglutination 1:40. In der Zwischenzeit wird der Mutter 2mal  $\frac{1}{2}$  Agarkultur injiziert.

Dieser Versuch gelang mit einem anderen Kaninchen und mit gleichem Ergebnis.

Eine Hündin (August 1904) erhält während der Schwangerschaft 3 Inokulationen mit Typhusbacillus. Bei Geburt agglutiniert das Serum eines der Jungen 1:20. Ein Teil der Jungen wird von der Mutter genährt, ein anderer Teil wird an die Brust einer anderen nicht immunisierten Hündin gegeben.

Nach 18 Tagen wird einer der von der Mutter ernährten Hunde getötet, er agglutiniert 1:80. (Die Mutter erhält inzwischen 2 Typhusinokulationen.) Die Milch agglutiniert 1:100. Ein anderer wird nach 30 Tagen getötet. Agglutination 1:60.

Einer der künstlich ernährten Hunde wird nach 15 Tagen getötet. Agglutination 1:20.

Das von der nicht immunisierten Hündin gestillte Hündchen agglutiniert nach 15 Tagen 1:15.

Eine andere Hündin (August 1904) wird während der Schwangerschaft mit 4 Inokulationen immunisiert. Von den Jungen bleibt ein Teil bei der Mutter, 2 werden mit Saugflaschen ernährt.

Bei der Geburt wird ein Junges getötet, es agglutiniert 1:40. Das Serum der Mutter agglutiniert 1:800, die Milch 1:90.

Nach 12 Tagen wird ein von der Mutter aufgezogenes Hündchen getötet. Agglutiniert 1:60. Nach 1 Monat wird ein anderes geopfert. Agglutiniert 1:50.

Eines der mit Saugflasche ernährten Hündchen wird nach 10 Tagen getötet, Agglutination 1:20, das andere nach 1 Monat, Agglutination 1:10.

Am 15. Dezember 1904 wird die Probe mit 3 Hündinnen ausgeführt, die vorher mit wenigen Stunden Differenz gedeckt worden waren. Von diesen Hündinnen, die ich a, b, c nennen will, werden a und b gegen Typhus immunisiert, c bleibt unberührt.

Die Hündinnen gebären mit einem Abstände von 2—3 Tagen (voneinander), c gebärt zuletzt.

Die Jungen (mit Ausnahme eines pro Wurf, das geopfert wird) werden in nachfolgender Weise ausgewechselt: Ein Teil der von a geborenen kommen an die Brust von c, ein Teil von b ebenfalls an der Brust c, 2 von Brust c an Brust a und schließlich eines von Brust c an b.

Die Agglutinationsproben lieferten folgendes Ergebnis:

Hündin a. Im Augenblick der Geburt agglutiniert das Serum 1:2000. Milch 1:80. Serum eines Neugeborenen 1:40.

Hündin b. Im Augenblick der Geburt agglutiniert das Serum 1:800. Milch 1:60. Serum eines Neugeborenen 1:10.

Hündin c. Milch agglutiniert 0. Serum eines Neugeborenen 1:1.

Nach 10 Tagen:

Ein Hündchen von a, gestillt von a, agglutiniert 1:80 (die Mutter wurde nochmals inokuliert).

Ein Hündchen von a, gestillt von c, agglutiniert 1:20

" " " c " " a " 1:20

" " " b " " b " 1:20

" " " b " " c " 1:4

" " " c " " b " 1:10

Nach 20 Tagen:

Ein Hündchen von a, gestillt von a, agglutiniert 1:80

" " " a " " c " 1:2

" " " c " " a " 1:40

" " " b " " b " 1:10

" " " b " " c " 1:4

(a und b hatten inzwischen eine andere Kulturinjektion erhalten.)

Ogleich ich zahlreiche schwangere Hündinnen zur Verfügung zu haben suchte, habe ich wegen den bedeutenden Schwierigkeiten hinsichtlich des Materials diese Probe, die von größter Wichtigkeit für die Frage der Immunisation der Neugeborenen und Säuglinge ist, nicht wieder unter günstigen Verhältnissen wiederholen können.

Doch sind die Ergebnisse derart, daß die Schlußfolgerungen nicht im geringsten in Zweifel gezogen werden können.

Die mit von Natur agglutininreicher Milch genährten Säuglinge saugen diese Agglutinine leicht auf und weisen sie im Blute auf. Die unter diesen Verhältnissen praktizierte passive Immunisation ist wirksamer als diejenige, welche dadurch erhalten wird, daß den Säuglingen auf dem Verdauungswege auch von derselben Tiervarietät kommendes agglutinierendes Serum eingegeben wird. (Für ein absolutes Urteil fehlt uns nur noch zu wissen, wieviel Milch von einem Jungen innerhalb 24 Stunden eingesaugt wird. Ohne diese Kenntnis ist ein genauer Vergleich mit den Tieren, bei denen agglutinierendes Serum verabreicht wurde, nicht möglich. Doch ist die Quantität A.E. in der Milch so niedrig, daß man, trotzdem die Kenntnis von dem Werte der totalen eingeführten A.E. fehlt, annehmen kann,

daß dieser Wert nicht den verschiedenen 10000 A.E. gleichkommt, die den Hunden vorstehender Versuche mit dem Serum eingeführt wurden.) Es ist somit logisch, wenn wir vermuten, daß die Agglutinine in der Milch ganz besonders an die proteischen Substanzen gebunden sind, welche deren Absorption erleichtern, jedoch nur für den Fall, daß nicht infolge Serumeingabe diese Aufsaugung infolge der Gegenwart von Stoffen, welche die Verwertung der Agglutinine selbst verhindern, weniger gut vor sich geht, was durch diese Versuche nicht erwiesen ist.

Die Aufsaugung der Agglutinine der Milch geschieht in den ersten 10—12 Lebenstagen am besten, hernach fällt — wenigstens bei den Hunden — die Verwertungsmöglichkeit dieser Agglutinine gradweise.

#### Schlußfolgerung.

Nach Wiedergabe der von mir erhaltenen Versuchsergebnisse, ist es logisch, darnach zu fragen, was sie hinsichtlich der von v. Behring verfochtenen Idee über eine mögliche Immunisation der Neugeborenen und Säuglinge mit der Milch der gegen Tuberkulose immunisierten Kühe besagen.

Ich habe nicht die Absicht, auf einem so weiten Feld und in einer so delikaten Frage allgemeine und absolute Schlüsse zu ziehen, denn zu viele Einwendungen könnte man gegen allgemeine Schlüsse erheben, die von Tierexperimenten und somit notwendigerweise von künstlichen Zuständen abgeleitet werden.

Nun ist nicht allein das Kriterium der Passage und der Absorption der Agglutinine ein relativer und unsicherer Zeiger für die Beurteilung einer wirklichen Immunisation, sondern es ist auch noch viel unzulässiger, die Lebens- und Funktionsbedingungen der Hunde und Kaninchen mit denen des Menschen vergleichen zu wollen, denn wenige Tage Entwicklung auf seiten des Hundes entsprechen Wochen und Monaten menschlichen Lebens, bezügliche Ableitungen müßten daher mit sehr viel Vorsicht vorgenommen werden.

Es besagen jedoch diese Versuche, daß bei Tieren, die da sind Kaninchen und Hunde, die aktive Immunisation gegen Bakterien und rote Blutkörperchen in den ersten Lebenstagen, eben infolge der Unmöglichkeit einer Antikörperbildung, schlecht gelingt, während nachher die Eingabe von Erythrocyten oder Bakterien durch den Mund eine spärliche aktive Immunität erzeugt, die hinsichtlich ihrer Stärke bei Säuglingen und Erwachsenen nicht sehr verschieden ist.

Was die passive Immunisation durch den Mund betrifft so steht außer Zweifel, daß die Passage solcher Schutzstoffe wenigstens, bei den Neugeborenen viel besser als bei den Erwachsenen vor sich geht. Die besonderen Bedingungen, in denen sich Magenfunktion und Magen- und Darmschleimhautstruktur befinden, sind wohl der Grund, weshalb bei den Neugeborenen die Absorption der Stoffe ziemlich gut vor sich geht.

Diese Absorption und Utilisation gelingt dann noch bei weitem besser, wenn diese immunisierenden Stoffe sich spontan in der Milch befinden. In diesem Falle beobachtet man ungefähr in den ersten 15 Lebenstagen einen bedeutenden Uebergang des Schutzmaterials (in

unserem Falle der Agglutinine von der Mutter auf den Säugling [Hund und Kaninchen].

Von diesem Gesichtspunkte aus lassen also die angestellten Experimente daran glauben, daß die Ausübung passiver Immunisation mit Milch von aktiv immunisierten Tieren, somit die Einverleibung derselben in die Individuen in den ersten Tagen ihres Lebens, eine Aussicht auf praktischen Erfolg gewährt.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Erythropräzipitin und andere Immunprodukte einzelner Bestandteile des Blutes.

[Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium des k. k. Krankenhauses „Rudolf-Stiftung“ in Wien (Vorstand: Dr. E. Freund).]

Von Privatdozent Dr. Arthur Klein.

Eine kurze Mitteilung der aus der nachstehenden Versuchsreihe hervorgehenden Resultate ist bereits im Juni 1904 in der „Wiener klin. Rundschau“ erschienen<sup>1)</sup>.

In früheren Versuchen<sup>2)</sup> konnte ich feststellen, daß geeignete Blutsera (Normal- und Immunsera) die Fähigkeit besitzen, in Extrakten von Erythrocyten Niederschläge hervorzurufen. Ich habe für die im Serum enthaltenen Substanzen, welche die Niederschläge in den Erythrocytenextrakten erzeugen, die Bezeichnung „Erythropräzipitine“ vorgeschlagen.

Substanzen im Serum, welche im stande sind, in einem anderen geeigneten Blutserum Niederschläge hervorzurufen — die bekannten „Serumpräzipitine“ — sind längst nachgewiesen. Man konnte dieselben im normalen Serum finden. So erzeugte Kraus<sup>3)</sup> mit Taubenserum in einem Hühnerserum Niederschläge, ferner mit normalem Ziegen serum in Kaninchen- und Hundeserum (nach 2 Stunden bei 37 °).

Die Anwesenheit solcher Serumpräzipitine in künstlich erzeugten Immunseris wurde zuerst von Tchistovitch<sup>4)</sup> und Bordet<sup>5)</sup> im Jahre 1899 nachgewiesen.

Es war nun von Interesse zu erfahren, ob die vorhergenannten „Erythropräzipitine“ mit diesen „Serumpräzipitinen“ identisch seien oder nicht.

Die Entscheidung dieser Frage ist um so dringender geboten, wenn man beobachten kann, daß zuweilen ein und dasselbe Serum sowohl in einem anderen Blutserum, als auch in dem Extrakt der dem letzteren zugehörigen Erythrocyten Niederschläge hervorzurufen vermag (vergl. z. B. das Immunserum im Versuch II).

1) Klein, A., Ueber Resultate von Immunisierungen mit getrennten Bestandteilen des Blutes. (Wien. klin. Rundschau. 1904. No. 24.)

2) Klein, A., Zur Kenntnis der Agglutinine und gewisser Präzipitine des Blutes. (Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 5 u. 6.) — Vergl. ferner Ford, Beitrag zur Lehre von den Hämagglutininen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1902. Heft 2.)

3) Kraus, R., Ueber spezifische Niederschläge (Präzipitine). (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. 1904. p. 595.)

4) Tchistovitch, Études sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 406.)

5) Bordet, Sur l'agglutination et dissolution des globules rouges. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 173.)

Schon aus meinen damaligen Untersuchungen schien mit großer Wahrscheinlichkeit hervorzugehen, daß wir es mit zwei nicht identischen Formen von Präzipitinen bei den erwähnten beiden Niederschlagserscheinungen zu tun haben<sup>1)</sup>.

Auch der Zusammenhalt eines Versuches von Bordet und eines der Nachprüfung desselben gewidmeten Versuches von Ford<sup>2)</sup> sprechen für diese Anschauung.

Bordet, welcher in der bekannten Frage der Beziehungen zwischen Agglutinin und Präzipitin den dualistischen Standpunkt einnimmt, stützt sich hierbei auf folgenden Versuch. Er immunisierte Meerschweinchen mit Kaninchenblut und erhielt hierbei ein Meerschweinchen-Immunserum, welches wohl Kaninchenerythrocyten agglutinierte, aber mit Kaninchen serum keinen Niederschlag gab.

Ford, welcher den Versuch Bordets wiederholte, und dessen Richtigkeit bestätigte, erhielt ein Serum, welches mit Lösungen von Kaninchenerythrocyten in kleinen Mengen destillierten Wassers Niederschläge erzeugte.

Wir ersehen aus dem Zusammenhalte dieser beiden Versuche, daß ein auf dieselbe Weise hergestelltes Immunserum in dem einen Versuche mit den Lösungen der Kaninchenerythrocyten Niederschläge gab, in dem anderen mit dem Kaninchen serum keine Niederschläge erzeugte, daß also Erythropräzipitin vorhanden war, während Serumpräzipitin fehlte, was natürlich gegen die Einheitlichkeit dieser beiden Präzipitine von vornherein spricht.

Um der Kenntnis dieser Präzipitine, resp. der Frage nach deren Identität oder Nichtidentität näherzutreten, schlug ich den in solchen Fragen geeignet erscheinenden Weg ein, je einem Tier eine der beiden mit den Präzipitinen reagierenden Substanzen zu injizieren und die hierdurch entstehenden Immunsera auf Gehalt und Art der dabei hervorgerufenen Präzipitine zu prüfen.

Ich vorbehandelte dementsprechend ein Kaninchen (Versuch I) mit Erythrocytenextrakt, ein zweites (Versuch II) mit dem zugehörigen Serum. Ergäbe nun die Prüfung des Immunserums I das Vorhandensein von Erythropräzipitin und das Fehlen von Serumpräzipitin (verhielte sich eventuell auch das Immunserum II gerade umgekehrt), so war damit ein wichtiges Argument dafür gefunden, daß Erythropräzipitin mit Serumpräzipitin nicht identisch ist.

Es erschien mir weiterhin von Interesse, diese Versuche noch nach einer anderen Richtung hin zu erweitern.

In früheren Versuchen<sup>3)</sup> hatte es sich gezeigt, daß die nach Extraktion der Blutkörperchen mit destilliertem Wasser restierenden Stromata, in Kochsalzlösung suspendiert, sich durch geeignete Sera agglutinieren lassen. Die Erscheinung, daß ein eine Erythrocytengattung agglutinierendes Serum auch die nach Extraktion mit Aq. dest. übrigbleibenden Stromata zu agglutinieren vermag, wiederholte sich in vielen Versuchen mit ziemlicher Regelmäßigkeit.

1) In der zit. Arbeit (1903) lautete Schlußsatz 3: „Die in Erythrocytenextrakten Niederschläge hervorrufenden präzipitierenden Substanzen (Erythropräzipitine des Serums) sind aller Wahrscheinlichkeit nach nicht identisch mit jenen präzipitierenden Substanzen des Serums, welche in entsprechenden Seris Niederschläge erzeugen (Serumpräzipitine des Serums)“.

2) Ford, l. c.

3) Klein, A., l. c. 1903.



Diese Tatsache wurde inzwischen auch von K. Sick<sup>1)</sup> bestätigt durch den Nachweis, daß hämoglobinfreie Stromata ebenso agglutiniert werden wie vor der Auslaugung.

Auch Batelli<sup>2)</sup> machte eine einschlägige Beobachtung. Er immunisierte Kaninchen durch intraperitoneale Injektion von gewaschenen Rinder- oder Hundeerythrocyten. — Injizierte er nun den immunisierten Kaninchen Blutkörperchen oder Stromata der Blutart, gegen welche sie immunisiert worden waren, intravenös, so trat eine rapide Agglutination derselben ein (Verstopfung der Pulmonalarterie, enormes Sinken des Blutdruckes, Tod).

Injektion von lackfarben gemachtem Blut erzeugte keine solchen unmitttelbaren Störungen, wenn die Stromata aus demselben entfernt worden waren.

Die Injektion von Stromata oder intakten Blutkörperchen ist auch dann unschädlich für das injizierte Kaninchen, wenn dessen Serum kein Agglutinationsvermögen für diese Stromata besitzt.

Wir müssen daraus schließen, daß nach der Extraktion gewisser — präzipitabler — Substanzen aus den Erythrocyten, an den Stromata noch immer eine gewisse Menge agglutinierbarer Substanz haftet, welche durch ihre Reaktion mit im Serum enthaltenen Agglutininen zur Erscheinung der „Stromataagglutination“ führt.

Ich vorbehandelte deshalb ein weiteres Kaninchen (Versuch III) mit Stromata, welche durch die Behandlung von Erythrocyten mit destilliertem Wasser gewonnen wurden, um aus der Art der hierbei im Serum des behandelten Tieres auftretenden Immunprodukte weitere Aufklärungen zu erhalten.

Schließlich injizierte ich ein viertes Kaninchen (Versuch IV) mit gewaschenen roten Blutkörperchen in der allgemein üblichen Weise, um auch nach Vorbehandlung mit vollständig erhaltenen Erythrocyten das gewonnene Immunserum auf seinen Gehalt an den erwähnten Immunprodukten zu untersuchen.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen, als Material zur Vorbehandlung derselben wurde Pferdeblut verwendet. Die Injektionen wurden intraperitoneal gemacht. Die roten Blutkörperchen wurden 3mal mit 0,85-proz. NaCl-Lösung gewaschen und dann als 25-proz. Aufschwemmung injiziert.

Die Stromata wurden in der Weise hergestellt, daß die sorgfältig gewaschenen roten Blutkörperchen mit destilliertem Wasser zerstört wurden. Bringt man nun die lackfarbene, vollkommen durchsichtige Blutlösung durch Zusatz von 8,5-proz. NaCl-Lösung (im Verhältnis von 1:9) auf den physiologischen NaCl-Gehalt, so wird sie sofort trübe<sup>3)</sup> durch deutlicheres Sichtbarwerden der Stromata. Nachdem die Stromata abzentrifugiert und mehrmals gewaschen worden waren, wurden sie, in 0,85-proz. NaCl-Lösung aufgeschwemmt, zur Injektion verwendet. Der Ertrag an Stromata, der aus ziemlich großen Mengen roter Blutkörperchen hierbei gewonnen wird, erscheint auffallend gering.

1) Sick, K., Ueber Herkunft und Wirkungsweise der Hämagglutinine. (Dtschs Arch. f. klin. Med. Bd. LXXX. 1904. Heft 3 u. 4.)

2) Batelli, F., Toxicité des globules rouges chez les animaux immunisés. (Compt. rend. hebd. des séances de la soc. de biol. 1904. No. 24. Zit. nach Folia haematol. 1905. Heft 2. Ref.-No. 264.)

3) Diese Erscheinung wurde auch von Volk und Lipschütz, Ueber Bakterio-hämolyse (Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 50) beobachtet.

Die Erythrocytenextrakte wurden in folgender Weise bereitet: Die mehrmals gewaschenen, zentrifugierten und durch Abpipettieren von der darüber stehenden Kochsalzlösung befreiten roten Blutkörperchen wurden mit der vierfachen Menge destillierten Wassers zerstört. Diese lackfarbene Lösung wurde dann durch Zusatz 8,5-proz. NaCl-Lösung (im Verhältnis von 1:9) auf physiologischen Kochsalzgehalt gebracht und hierauf so lange zentrifugiert, bis die Lösung vollkommen klar (stromatafrei!) geworden war.

Diese beiden Postulate müssen auch vor der Prüfung der Erythrocytenextrakte mit den Immunseris streng eingehalten werden, da destilliertes Wasser im Immunserum Niederschläge hervorrufen kann (Euglobulin), andererseits durch Agglutination von Stromata, die in den zu prüfenden Erythrocytenextrakten noch enthalten sind, leicht Niederschläge (auch sehr kräftige) vorgetäuscht werden können.

Normales Kaninchenserum hat im allgemeinen keine oder nur sehr geringfügige Aktivität für Pferdeblut. Die Sera der 4 Versuchstiere wurden vor Beginn der Immunisierungen daraufhin untersucht und verhielten sich nicht ganz gleich, doch waren die im Serum zweier Tiere schon vor Beginn der Versuche nachweisbaren Mengen von Agglutinin und Hämolyisin für Pferdeblutkörperchen so gering, daß dieselben vollständig vernachlässigt werden konnten. Die Untersuchung eines jeden Serums vor, während und nach durchgeführter Immunisierung erstreckte sich auf den Nachweis von 1) Erythropräzipitin, 2) Serumpräzipitin, 3) Agglutinin für Erythrocyten, 4) Agglutinin für Stromata, 5) Hämolyisin.

Die Proben wurden stets bei Zimmertemperatur stehen gelassen und die Ablesungen der Resultate nach 12 Stunden vorgenommen.

#### Versuch I.

Kaninchen No. 156 erhält in der Zeit vom 6. Febr. bis 2. April 1904 8 Injektionen von je 15 ccm Pferdeerythrocytenextrakt intraperitoneal, im ganzen 120 ccm.

Vorläufige Prüfung des Immunserums nach der 4. Injektion.

A. Prüfung auf Erythropräzipitin.

156-Serum + E.-Extrakt					Nach 12 Stunden:		
				verdünnt	aa:	Niederschlag	kräftig
"	+	"	1/5	"	"	"	"
"	+	"	1/10	"	"	"	—
"	+	"	1/20	"	"	"	—
"	+	"	1/40	"	"	"	—
"	+	"	1/80	"	"	"	—
"	+	"	1/160	"	"	"	—
156-Serum 1/2 verdünnt + E.-Extrakt					Nach 12 Stunden:		
				verdünnt	aa:	Niederschlag	kräftig
"	"	"	+	"	1/5	"	—
"	"	"	+	"	1/10	"	—
"	"	"	+	"	1/20	"	—
"	"	"	+	"	1/40	"	zart
"	"	"	+	"	1/80	"	0
"	"	"	+	"	"	u. ff.	"
156-Serum 1/5 verdünnt + E.-Extrakt					Nach 12 Stunden:		
				verdünnt	aa:	Niederschlag	kräftig
"	"	"	+	"	1/5	"	—
"	"	"	+	"	1/10	"	—
"	"	"	+	"	1/20	"	—
"	"	"	+	"	1/40	"	zart
"	"	"	+	"	1/80	"	0
"	"	"	+	"	"	u. ff.	"
156-Serum 1/10 verdünnt + E.-Extrakt					Nach 12 Stunden:		
				verdünnt	aa:	Niederschlag	kräftig
"	"	"	+	"	1/5	"	—
"	"	"	+	"	1/10	"	—
"	"	"	+	"	1/20	"	—
"	"	"	+	"	1/40	"	zart
"	"	"	+	"	1/80	"	0
"	"	"	+	"	"	u. ff.	"

**B. Prüfung auf Serumpräzipitin.**

					Nach 12 Stunden:
156-Serum	+	Pferdeserum			āā: 0
"	+	"	$\frac{1}{10}$ verdünnt	"	0
"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	"	0
"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	"	0

**C. Prüfung auf Erythrocytenagglutinin und Hämolysin.**

					Nach 12 Stunden:
10 Tropfen 156-Serum	+	3 Tropfen Pferdeerythrocyten (25 %)		vollst. Lös.	
"	"	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	+	" " " " "
"	"	"	$\frac{1}{5}$ "	+	" " teilw. " Rest agglutiniert
"	"	"	$\frac{1}{10}$ "	+	" " " " "
"	"	"	$\frac{1}{20}$ "	+	" " Spur " " "
"	"	"	$\frac{1}{40}$ "	+	" " keine " aggl. feste Flocken
"	"	"	$\frac{1}{80}$ "	+	" " " " "
"	"	"	$\frac{1}{160}$ "	+	" " " " agglutiniert "

**Prüfung des Immunserums nach der 8. Injektion.**

**A. Prüfung auf Erythropräzipitin.**

					Nach 12 Stunden:
156-Serum	+	Pferde-E.-Extrakt			āā: Niederschlag kräftig
"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	"	" "
"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	"	" —
"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	"	" —
"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	"	" —
"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	"	" zart
"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	"	" zart
"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	"	" Trübung?
"	+	"	$\frac{1}{320}$ "	"	0
"	+	"	$\frac{1}{640}$ u. ff.	"	"
156-Serum	$\frac{1}{10}$ verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		Nach 12 Stunden:
"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	āā: Niederschlag kräftig
"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" zart
"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ u. ff.	" 0
156-Serum	$\frac{1}{20}$ verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		āā: Niederschlag kräftig
"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" zart
"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ u. ff.	" 0
156-Serum	$\frac{1}{80}$ verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		āā: Niederschlag kräftig
"	"	+	"	$\frac{1}{8}$ verdünnt	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" zart
"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ u. ff.	" 0
156-Serum	$\frac{1}{40}$ verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		āā: Niederschlag kräftig
"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" zart
"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ u. ff.	" 0
156-Serum	$\frac{1}{50}$ verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		āā: Niederschlag
"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" zart
"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" "
"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ u. ff.	" 0

20\*

						Nach 12 Stunden:	
156-Serum	$\frac{1}{80}$	verdünnt	+	Perde-E.-Extrakt		$\bar{a}\bar{a}$ : Niederschlag	
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	"	"
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	"	"
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	"	zart
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	"	"
"	"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ u. ff.	"	0
156-Serum	$\frac{1}{80}$	verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		$\bar{a}\bar{a}$ : Niederschlag	
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	"	"
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	"	"
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	"	zart
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ u. ff.	"	0
156-Serum	$\frac{1}{100}$	verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		$\bar{a}\bar{a}$ : Niederschlag	zart
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	"	"
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	"	"
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ u. ff.	"	0

## B. Prüfung auf Serumpräzipitin.

					nach 12 Stunden:	
156-Serum	+	Perdeserum			$\bar{a}\bar{a}$ :	0
"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	"	"	0
"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	"	"	0
"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	"	"	0
"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	"	"	0
"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	"	"	0
"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	"	"	0
"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	"	"	0

					Nach 12 Stunden:	
156-Serum	$\frac{1}{2}$	verdünnt	+	Pferdeserum		$\bar{a}\bar{a}$ : 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	" 0

## C. Prüfung auf Erythrocytenagglutinin und Hämolyisin.

						Nach 12 Stunden:			
10 Tropfen 156-Serum	$\frac{1}{10}$	verdünnt	+	3 Tropfen Pferdeerythrocyten (25%)	teilw. Lös., aggl. feste Flocke	"	"	"	"
"	$\frac{1}{20}$	"	+	"	"	"	"	"	"
"	$\frac{1}{40}$	"	+	"	"	"	"	"	"
"	$\frac{1}{80}$	"	+	"	"	"	"	"	"
"	$\frac{1}{160}$	"	+	"	"	"	"	"	"
"	$\frac{1}{320}$	"	+	"	"	"	"	"	"
"	$\frac{1}{640}$	"	+	"	"	"	"	"	"
"	$\frac{1}{1280}$	"	+	"	"	"	"	"	agglutiniert
"	$\frac{1}{2560}$	"	+	"	"	"	"	"	teilw. agglutiniert
"	$\frac{1}{5120}$	"	+	"	"	"	"	"	schwach
"	$\frac{1}{10240}$	"	u. ff.	"	"	"	"	"	kein Agglutinat.

## D. Prüfung auf Stromataagglutination.

Nach 12 Stunden:  
156-Serum + Stromataaufschwemmung: keine Agglutination.

Als Resultat des Versuches ergibt sich: Nach Immunisierung mit Erythrocytenextrakt traten im Serum des immunisierten Tieres auf:

1) Erythropräzipitin reichlich (156-Serum  $\frac{1}{100}$  verdünnt ergibt noch einen zarten Niederschlag mit Erythrocytenextrakt  $\frac{1}{5}$  verdünnt).

2) Kein Serumpräzipitin.

3) Hämolyisin (10 Tropfen 156-Serum  $\frac{1}{80}$  verdünnt geben mit 3 Tropfen einer 25-proz. Blutkörperchenaufschwemmung noch Spur Lösung).

4) Erythrocytenagglutinin reichlich (10 Tropfen 156-Serum  $\frac{1}{5120}$  verdünnt geben mit 3 Tropfen einer 25-proz. Blutkörperchenaufschwemmung noch schwache Agglutination).

5) Kein Stromataagglutinin.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Agglutinin- und Lysinwirkung.

[Aus dem path.-anat. Inst. in Wien (Vorstand: Prof. Weichselbaum).]

Von Dr. **Karl Landsteiner** und Dr. **Michael v. Eisler**.

Der in der Immunitätslehre als Agglutination bezeichnete Vorgang läßt sich in zwei Teile zerlegen, erstens die Bindung der Agglutinine an die Zellen, durch die allein deren Zusammenballung nicht herbeigeführt wird und zweitens die Ausfällung der mit dem Agglutinin verbundenen Zellen durch die vorhandenen Salze.

Bordet <sup>1)</sup> hatte aus mehreren Gründen den Prozeß der Ausfällung, die zweite Agglutinationsphase, mit dem Ausflocken von Suspensionen verglichen. Später haben Bechhold <sup>2)</sup> und Neisser und Friedemann <sup>3)</sup> diesen Gedanken näher ausgeführt und die Kenntnis der erwähnten Beziehungen erweitert. Diese Autoren stellten namentlich fest, daß die Salzausflockung von Bakterien sowohl, wie von mit Agglutinin verbundenen Bakterien von der Wertigkeit des Kations, dessen Wanderungsgeschwindigkeit und Zersetzungsspannung und der elektrolytischen Dissociation des Elektrolyten abhängig ist, ganz ebenso, wie die Ausfällung von (zur Anode wandernden) Suspensionen. Es ist also offenbar die Zusammenballung der schon mit Agglutinin verbundenen Bakterien unter dem Einfluß von Salzen, wie Bordet annahm, im Grunde dasselbe wie die Ausflockung einer Suspension und beruht auf der Beeinflussung der die Partikel schwebend erhaltenden elektrischen Ladungen durch den Salzzusatz <sup>4)</sup>. Ganz ähnliche Erwägungen gelten für die sogenannte Präzipitation, die mit der Agglutination im Wesen identisch ist, nur daß es sich im ersten Falle um die Ausflockung kleiner, im zweiten um die Zusammenballung großer suspendierter Partikel handelt. Zwischen den kleinen Teilchen, wie sie Eiweißlösungen enthalten und groben suspendierten Teilchen gibt es aber keine Grenze. Wie die Entladung von Teilchen einer Suspension bei ihrer Ausflockung zu denken ist, darüber bestehen verschiedene Meinungen. Bredig <sup>5)</sup> betrachtet die Erscheinung als eine kapillarelektrische, Billitzer <sup>6)</sup> nimmt eine Entladung der Kolloidpartikel durch die Ionen der Elektrolyte an.

Die angeführten Untersuchungen haben hauptsächlich die Erklärung der zweiten Phase der Agglutination zum Gegenstand, das ist die Ausflockung der mit Agglutinin verbundenen Zellen. In anderen Arbeiten wurde getrachtet, den ersten Teil des Prozesses, nämlich die Bindung des Agglutinins, mit anderen besser bekannten Erscheinungen in Beziehung zu setzen und dadurch verständlich zu machen.

1) *Annales de l'Inst. Past.* 1899.

2) *Zeitschr. f. physik. Chem.* Bd. XLVIII und *Naturforschervers.* 1903.

3) *Münch. med. Wochenschr.* 1903. 1904.

4) Die Existenz abstoßender Kräfte läßt sich bei mikroskopischer Betrachtung von Blutaufschwemmungen unmittelbar aus der auffallend gleichmäßigen Verteilung entnehmen, die die nicht agglutinierten Blutkörperchen zeigen. Demgemäß verrät sich ein geringer Grad von Agglutination durch Unregelmäßigkeiten in der Verteilung der Blutkörperchen.

5) *Anorganische Fermente.* Leipzig (Engelmann) 1901.

6) *Sitzungsber. der Kais. Akad. d. Wiss. in Wien.* Bd. CXIII. 1904.

Wir selbst<sup>1)</sup> und nachher andere Autoren [Gengou<sup>2)</sup>, Henri<sup>3)</sup>] beobachteten, daß ähnliche Erscheinungen, wie durch die sogenannten Agglutinine mit Hilfe zahlreicher anorganischer Kolloide hervorgerufen werden können.

Am besten eignet sich die von uns in dieser Richtung untersuchte kolloide Kieselsäure, um die Verwandtschaft der Reaktionen zu demonstrieren. Diese Substanz hat die Eigentümlichkeit, in sehr kleinen Mengen agglutinierend auf rote Blutkörperchen zu wirken; die notwendige Konzentration ist so gering, daß sie vielleicht den wirksamen Konzentrationen der organischen Immunkörper nahe steht. Die Besonderheit des Einflusses des kolloiden Zustandes drückt sich darin auffällig aus, daß bei den noch wirksamen Verdünnungsgraden der Kieselsäure die stärksten anorganischen Säuren, also gewöhnlich viel stärker wirkende Körper als die Kieselsäure, auf Blutkörperchen keinen leicht merklichen Einfluß ausüben.

Als weitere Aehnlichkeiten der beiden Erscheinungsreihen ist anzuführen, daß auch die Kieselsäureagglutination nur in salzhaltiger Lösung erfolgt und daß die salzhaltigen Kieselsäurelösungen durch Erhitzen inaktivierbar sind, wie die Agglutininlösungen. Offenbar handelt es sich in beiden Fällen um Koagulationserscheinungen.

Da auch andere anorganische Kolloide und zwar solche mit basischen oder sauren Eigenschaften als Agglutinine sich verhalten, so ist wahrscheinlich die Reaktion der Agglutinine der ausfällenden Wirkung solcher Kolloide an die Seite zu stellen und es ist nicht einzusehen, warum organische kolloide Säuren und Basen bzw. amphotere Stoffe wie die Proteine nicht ebenso als Agglutinine sollten wirken können, wie die genannten anorganischen Körper.

Die gegenseitige Ausfällung kolloider Stoffe ist an einfachen Substanzen in letzter Zeit namentlich von Biltz<sup>4)</sup> studiert und auf die Neutralisation entgegengesetzt elektrisch geladener Partikel zurückgeführt worden. Diese Vorstellung wird, wie wir ausführten<sup>5)</sup>, für die amphoteren organischen Kolloide wahrscheinlich einer Ergänzung bedürfen, die darin besteht, daß die gegenseitige Beeinflussung des elektrischen Zustandes dieser Körper im Momente ihres Zusammentreffens in Betracht zu ziehen ist. Nach geschehener Neutralisation, die wahrscheinlich als eine Art von Salzbildung anzusehen ist, können die neugebildeten Kolloidkomplexe entweder sofort ausfallen oder leichter der Ausflockung durch Elektrolyte unterliegen, als vor der Verbindung der Komponenten.

Die Vergleichung der Immunkörperreaktionen mit den Reaktionen anorganischer Kolloide hat uns weiter zu einer modifizierten Betrachtungsweise der Hämolyse geführt. Es ließ sich zeigen, daß, so wie nach Kyes und Sachs Cobragift + Lecithin hämolytisch wirkt, auch Kieselsäure + Lecithin ein wirksames Hämolysin bildet. Es handelt sich hier um einen hämolytischen Vorgang, der in ähnlicher Weise wie die Hämolyse durch Serum oder Schlangengifte vermöge des Zusammenwirkens geringer Mengen zweier Substanzen zu stande kommt, deren

1) Wien. klin. Wochenschr. 1904, No. 3; Münch. med. Wochenschr. 1904, No. 27; Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX. p. 83.

2) Compt. rend. de l'Acad. des sciences. 1904. April; Annal. de l'Inst. Past. 1904.

3) Soc. de Biolog. 1904.

4) Ber. d. D. chem. Gesellsch. 1904; E. v. Behrings Beiträge. Heft 10; Ztschr. f. physik. Chemie. Bd. XLVIII.

5) l. c.

eine sich mit den Blutkörperchen verbindet und es dadurch der zweiten ermöglicht, sich an den Komplex anzulagern und die Lösung hervorzurufen<sup>1)</sup>. Nur sind in diesem Fall die Verhältnisse wegen der verhältnismäßig einfachen Beschaffenheit der lytischen Stoffe leichter überschaubar. Während früher die Hämolyse meistens den Fermentwirkungen an die Seite gestellt wurde<sup>2)</sup>, ist für den vorliegenden Fall anzunehmen, daß nach der Verbindung der Kieselsäure mit den Blutkörperchen Lecithin an den gebildeten Komplex herantritt infolge der zwischen Lecithin und Kieselsäure nachweisbar bestehenden, wahrscheinlich zur Entstehung einer salzartigen Verbindung führenden Affinität. Da nun Lecithin allein in genügender Konzentration Blutkörperchen löst, so ist es einzusehen, daß das Lecithin auf die gekieselten Blutkörperchen leichter wirken kann, da es an ihrer Oberfläche konzentriert wird, um so mehr, als schon die Kieselsäurewirkung allein eine Lockerung im Aufbau der Blutkörperchen herbeiführt. Diese Lockerung spricht sich darin aus, daß die durch Kieselsäure agglutinierten Körperchen bei mäßigem Schütteln oder Erwärmen ihr Hämoglobin zum Teil abgeben. Es sind das ähnliche Erscheinungen, wie sie bei der Wirkung der nicht als eigentliche „Hämolysine“ betrachteten organischen Agglutinine beobachtet wurden. Die lösende Wirkung des Lecithins selbst läßt sich den hämolytischen Effekten fettlösender Stoffe anreihen, die namentlich von Koepp<sup>3)</sup> studiert wurden. Bei seinen Untersuchungen kam Koepp zu der Ansicht, daß es sich bei der Hämolyse durch die verschiedensten Agentien, wie Säuren, Laugen, fettlösende Mittel, Hämolysine, ferner bei der Einwirkung der Wärme und hypotonischer Lösungen um die Zerstörung einer aus lipoiden und Eiweißstoffen zusammengesetzten Membran handle.

Während aber bis dahin eine Einwirkung der organischen Hämolysine auf den lipoiden Teil der Zellen nicht in Betracht gezogen wurde, wurde durch den Fall der Kieselsäure-Lecithinhämolyse auf diese Möglichkeit hingewiesen. Eine derartige Wirkung ist namentlich für die von Kyes und Sachs so erfolgreich studierte Hämolyse durch Cobra gift und Lecithin sehr wahrscheinlich.

Auf Grund der angeführten Annahmen sahen wir uns weiterhin veranlaßt, zu untersuchen, ob eine Reaktion zwischen Hämolysinen und den Lipoiden der Zellen sich wirklich nachweisen lasse und wir sind in dieser Richtung zu einigen Ergebnissen gelangt, die wir zum Teil schon mitgeteilt haben<sup>4)</sup> und die im folgenden durch neue Versuche ergänzt werden sollen<sup>5)</sup>.

1) Ambozeptor und Komplement nach der Terminologie der Ehrlichschen Schule.

2) Vergl. hingegen Gruber.

3) Pflügers Arch. 101; vergl. Albrecht, Sitzungsber. der Gesellsch. f. Morphol. München, 1903.

4) Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 24; Wien. klin. Rundschau. 1905. No. 13 und 24.

5) Mit Rücksicht auf zwei Publikationen von Deutsch-Detre und Sellei (Wien. klin. Wochenschr. 1904 u. 1905. No. 18) sind wir zu folgenden Bemerkungen genötigt. Wir haben auf eine Bedeutung des Lipoidgehaltes der Zellen für die Hämolysin- und Toxinwirkung vor D. aufmerksam gemacht (Münch. med. Wochenschr. 1904 und l. c.). D. und S. hatten allerdings Beobachtungen über die Einwirkung des blutlösenden Sublimats auf die Lipoide kurz vor unserer ersten Mitteilung veröffentlicht, aber daraus begrifflicher Weise keine Schlüsse für die organischen Hämolysine (Toxine) gezogen. Dies geschah erst, nachdem unsere Versuche vorlagen. Da überdies die Mitteilungen von D. und S. durchaus keine wesentlich neuen experimentellen Ergebnisse bezüglich der Hämolysine enthalten (vergl. Noguchis, Müllers und unsere Arbeiten

## I. Serumhämolyse.

Je 4 ccm defibriniertes Blut wurden dreimal mit 1-proz. NaCl-Lösung auf der Zentrifuge gewaschen und nach dem Abgießen der letzten Waschlösung mit 10–20 ccm Aether 10 Minuten in einem Scheidetrichter geschüttelt. Nach der völligen Scheidung der Schichten wurde der Aether abgehoben und in einem Schälchen verdampft. Die Gewichte der Rückstände betragen durchschnittlich 0,004–0,005 g. Die Rückstände wurden nun mit je 2 ccm des zur Prüfung verwendeten Serums versetzt, mit Hilfe eines Platinspatels in dem Serum verteilt und nun gleichzeitig mit einer Kontrollprobe reinen Serums für eine Stunde in Epruvetten in den Brutofen gestellt<sup>1)</sup>. Nach der Digestion wurden alle Proben durch Papier filtrirt, dann in Mengen von je 0,25 ccm in Reagenzröhrchen verteilt. Nun wurde die zu lösende serumfreie 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung tropfenweise mit einer Kapillarpipette zugesetzt, derart, daß immer nach Lösung eines Tropfens ein neuer hinzukam. Die Temperatur des Wasserbades, in dem sich die Röhrchen während des Versuches befanden, betrug ca. 40°. Eine Anzahl der Versuche ist in den folgenden Tabellen wiedergegeben.

In der ersten Kolonne ist die Art des zugesetzten Blutkörperchenextraktes, in der zweiten dessen Gewicht in Grammen, in der dritten die Zahl der während der Versuchsdauer gelösten Tropfen angeführt.

Wurde dieselbe Aetherlösung für mehrere Versuche benutzt, so wurde das Gewicht des Rückstandes in einem abgemessenen Quantum bestimmt und zum Versuche gemessene Mengen der Aetherlösung verwendet.

## 1. Kaninchenserum — Meerschweinchen- und Schweineblut.

A. Meerschweinchenblut. Versuchsdauer: 17. Min.			B. Schweineblut. Versuchsdauer: 14 Min.		
Kontrolle	0	9	Kontrolle		4
Meerschweinchen	0,0048	0	Meerschweinchen	wie	4
Schwein	0,0044	8–9	Schwein	sub A.	1
Pferd	0,0046	9	Pferd		4
Kaninchen	0,0049	9	Kaninchen		4

## 2. Schweineserum — Pferde- und Meerschweinchenblut.

A. Pferdeblut. Versuchsdauer: 14 Min.			B. Meerschweinchenblut. Versuchsdauer: 14 Min.		
Kontrolle	9	5	Kontrolle		5
Meerschweinchen	0,0042	1–2	Meerschweinchen	wie	1
Schwein	0,004	1–2	Schwein	sub A.	3
Rind	0,0043	2	Rind		3
Pferd	0,0044	2	Pferd		3

## 3. Rinderserum — Pferde- und Meerschweinchenblut.

A. Pferdeblut. Versuchsdauer: 7 Min.			B. Meerschweinchenblut. Versuchsdauer: 11 Min.		
Kontrolle	0	5	Kontrolle		5
Meerschweinchen	0,0041	2–3	Meerschweinchen	wie	2
Schwein	0,0042	3	Schwein	sub A.	4–5
Pferd	0,004	1	Pferd		4–5
Rind	0,0043	3	Rind		4–5

l. c.), so haben D. und S. nicht das mindeste Recht, die Annahme einer Einwirkung von Toxinen (Hämolytinen) auf die lipoiden Teile der Zellen kurzweg als ihre „Theorie“ zu bezeichnen. Uebrigens gehen D. und S. in den Verallgemeinerungen ihrer letzten Mitteilung offenbar zu weit, wenn sie die antitoxischen, antifermentativen und antilytischen Wirkungen des normalen Bluts erum ausschließlich den Lipoiden des Serums zuschreiben wollen und auf Grund dieser keineswegs bewiesenen Behauptung die Ehrlichsche Annahme von der Aehnlichkeit der normalen und der immunisatorisch erzeugten Antikörper in Zweifel ziehen.

1) Es ist möglich, daß die Reaktion nicht wirklich so langer Zeit bedarf.



4. Gansserum — Pferde-, Schweine- und Meerschweinchenblut.

A. Pferdeblut. Versuchsdauer: 9 Min.			B. Schweineblut. Versuchsdauer: 12 Min.		
Kontrolle	0	7	Kontrolle		7
Meerschweinchen	0,004	4—5	Meerschweinchen		6
Schwein	0,0046	3—4	Schwein	wie	4
Rind	0,0044	3—4	Rind	sub A.	6
Pferd	0,0047	1—2	Pferd		6

C. Meerschweinchenblut. Versuchsdauer: 14. Min.

Kontrolle		5
Meerschweinchen		1
Schwein	wie	2
Pferd	sub A.	3—4
Rind		3

5. Hühnerserum — Kaninchen-, Hunde-, Meerschweinchen- und Schweineblut.

A. Kaninchenblut. Versuchsdauer: 7 Min.			B. Hundeblut. Versuchsdauer: 21 Min.		
Kontrolle	0	5	Kontrolle		4—5
Meerschweinchen	0,0042	4—5	Meerschweinchen		3—4
Schwein	0,004	4—5	Schwein	wie	3—4
Hund	0,0046	4—5	Hund	sub A.	2
Kaninchen	0,0043	2	Kaninchen		2

C. Meerschweinchenblut. Versuchsdauer: 16 Min.      D. Schweineblut. Versuchsdauer: 10 Min.

Kontrolle		2—3	Kontrolle		4
Meerschweinchen		0	Meerschweinchen		3
Schwein	wie	2	Schwein	wie	1—2
Hund	sub A.	1—2	Hund	sub A.	3
Kaninchen		2—3	Kaninchen		3

Im folgenden Versuch wurden die zugesetzten Mengen der Rückstände variiert, und zwar die Quantität der schwach hemmenden Extrakte vermehrt, die der stark wirkenden vermindert.

6. Rinderserum — Meerschweinchenblut.

A. Versuchsdauer: 18 Min.			B. Versuchsdauer: 14. Min.		
Kontrolle	0	5	Kontrolle		4
Meerschweinchen	0,0048	0—1	Meerschweinchen	0,0025	1—2
Schwein	0,0208	2—3	Schwein	0,0204	1—2
Pferd	0,02	3—4	Pferd	0,021	3
Rind	0,024	2—3	Rind	0,0199	1—2

In anderen Versuchen wurden als Zusätze Aetherextrakte von Gehirnschubstanz, ferner von Bakterien und zwar einem choleraähnlichen Vibrio verwendet.

7. Gansserum — Meerschweinchenblut.

Versuchsdauer: 20 Min.

Kontrolle	0	7
Meerschweinchenblut	0,0043	0
Meerschweinchenhirn	0,0042	6
Schweineblut	0,0042	5
Schweinehirn	0,0044	6
Vibrio	0,0041	1

Den Einfluß von Lecithinzusätzen zeigt der folgende Versuch.

8. Rinderserum — Meerschweinchenblut.

Versuchsdauer: 11 Min.

Kontrolle	0	5
Lecithin A. f. g. a. <sup>1)</sup>	0,0043	4
Lecithin Merck	0,0042	3
Lecithol Riedel	0,004	4
Extrakt aus Meerschweinchenblut	0,0044	1

Eine Anzahl in Wasser unlöslicher verschiedener Substanzen, die auf ihr Hemmungsvermögen gegenüber der Hämolyse in der gleichen Weise geprüft wurden wie die ätherischen Blutextrakte, nämlich Kasein, Sitosterin, Kieseluhr, Cholesterin, Quarzsand, Kreide, Kohle, zeigten, in den Mengen von etwa 0,004 g bei der hier geübten Versuchsanordnung angewendet, keine erhebliche Beeinflussung der Hämolyse. Erst bei größeren Mengen (0,1 g auf 2 ccm Serum) war die absorbierende Wirkung der verwendeten unlöslichen Körper zum Teil beträchtlich. Aetherextrakte von Serum hatten bei der gleichen Versuchsanordnung nur eine im Verhältnis zu den Blutkörperchenextrakten geringe Wirkung.

Die angeführten Ergebnisse zeigen, daß den Lipoiden der Blutkörperchen eine hämolysinbindende Wirkung zukommt, die durchaus nicht allen fettähnlichen Substanzen, auch nicht allen Aetherextrakten tierischer Gewebe eigen ist.

Besonders auffallend ist der Umstand, daß zwar auch Bakterienextrakte Hämolyse binden, daß aber von den verschiedenen Blutkörperchenextrakten mit wenigen Ausnahmen (Versuch 5 B. und 2 A.) die Lösung gerade der entsprechenden Blutkörperchenart am meisten beeinträchtigt wird<sup>2)</sup>.

Es macht sich also eine allerdings beschränkte Spezifität des Bindungsvermögens der fettähnlichen Stoffe geltend, die wegen der vermutlich nicht allzu komplizierten Zusammensetzung dieser Substanzen bemerkenswert ist und deren nähere Untersuchung aus demselben Grunde nicht aussichtslos sein dürfte.

In einigen Versuchen sollte ermittelt werden, ob durch die Blutextrakte der thermostabile (Immunkörper) oder der thermolabile Anteil (Komplement) der Hämolyse gebunden werde.

Es wurden 2 ccm durch Erwärmen seiner hämolytischen Wirksamkeit beraubtes Rinderserum 1 Stunde lang mit 0,004 g des Aetherextraktes von Meerschweinchenblutkörperchen behandelt. Nach dem Filtrieren wurde dieser Probe (A.) und einer nicht mit Blutextrakt versetzten in gleicher Weise inaktivierten Kontrollprobe (B.) frisches Meerschweinchenserum zugefügt. Nach 35 Minuten lösten bei 40° 0,25 ccm der Probe A. teilweise 1 Tropfen 5-proz. Meerschweinchenblut, 0,25 ccm B. 3—4 Tropfen derselben Aufschwemmung.

Der Versuch spricht für eine Bindung des thermostabilen Anteiles der Hämolyse durch die Lipoide und zu demselben Resultat führt die folgende Probe.

Es werden in 3 Röhrchen je 2 ccm frisches Rinderserum 1 Stunde lang bei 37° in der gewöhnlichen Weise mit ca. 0,004 g des Rückstandes einer Aetherlösung von Meerschweinchenblutkörperchen digeriert. Es wird dann filtriert, eine Probe (A.) mit dem gleichen Volumen 1-proz.

1) cf. Kyes und Sachs.

2) Vergl. die früher mitgeteilten Versuche, l. c.

NaCl-Lösung versetzt, die zweite (B.) ebenso mit frischem Meer-schweinchenserum, die dritte (C.) in demselben Verhältnis mit durch Erwärmen inaktivem Rinderserum. Nach 20 Minuten löste Probe A. 2, B. 3, C. 9 Tropfen 5-proz. Blutaufschwemmung des Meerschweinchens bei 40°. Es zeigt sich also, daß der Wirkungsverlust des aktiven Rinderserums durch Zusatz des gleichen aber inaktivierten Serums zu restituieren ist.

Zur Ergänzung der gemachten Angaben über die Hämolysinwirkung ist noch anzuführen, daß wir in einer Anzahl von Versuchen fanden, daß Blutkörperchenstromata in ungleichem Maße Hämolysine absorbieren, je nachdem sie durch mehrmaliges Einfrieren und Auftauen in destilliertem Wasser, oder durch Lösen der Blutzellen durch kräftiges Schütteln mit reichlichem Aether oder Petroläther hergestellt wurden.

Die mit fettlösenden Agentien bereiteten Stromata binden weniger von den Hämolysinen als die noch lipoidhaltigen, wie man durch Auswertung der lösenden Wirkung eines Serums nach Behandlung mit den beiden Arten der Stromata erkennen kann.

## II. Tetanolysin.

Es wurde von Noguchi<sup>1)</sup>, später von Müller<sup>2)</sup> festgestellt, daß Cholesterin und alkoholische Extrakte von Serum die Wirkung des Tetanolysins aufheben. Müller neigt dazu, die Bindung von Cholesterin und Tetanolysin von den echten antitoxischen Phänomenen prinzipiell zu trennen.

Wir haben beobachtet<sup>3)</sup>, daß auch die ätherischen Extrakte von Blutkörperchen Tetanolysin neutralisieren.

Die Intensität der hemmenden Wirkung dieser Blutextrakte ist sehr beträchtlich und fast so groß, wie die des Cholesterins. Inwieweit neben Cholesterin andere Stoffe an der Wirkung der Blutextrakte beteiligt sind, bleibt noch zu entscheiden. Die giftbindende Wirkung der von uns in dieser Richtung untersuchten Lecithinpräparate (Merck, Riedel) erwies sich sehr beträchtlich geringer, als die des Cholesterins. Als Beispiel für das Gesagte diene der folgende Versuch.

Von den Lipoiden wurden Aetherlösungen mit einem Gehalt von 0,002 mg im Kubikcentimeter hergestellt. Es ist nötig, zu bemerken, daß das Tetanolysin auch durch die im käuflichen Aethyläther vorhandenen Verunreinigungen beeinflusst wird und daß aus diesem Grunde der Aether vor dem Gebrauch zu reinigen ist. Von der Aetherlösung kamen abgemessene Mengen in Reagenzröhrchen; der Aether wurde verdampft, der Rückstand unter Verreiben mit einem Glasstabe mit 1 ccm 1-proz. Kochsalzlösung versetzt und dann 0,1 ccm Tetanolysin und 0,3 ccm 5-proz. serumfreie Aufschwemmung von Kaninchenblut im 1-proz. Kochsalzlösung zugefügt. Die angewendete Tetanolysinmenge ist wenig höher als die einfach komplett lösende Dosis. Die Proben wurden 2 Stunden im Brutschrank und über Nacht im Eisschrank gehalten; dann wurde abgelesen.

Aetherextrakte von Gehirn wirkten auf Tetanolysin ganz ähnlich hemmend ein, wie die aus Blutkörperchen hergestellten.

1) Univer. of Pennsylv. Med. Bull. 1902. November.

2) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1903. p. 567. Siehe auch Detre, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 18.

3) Wien. klin. Rundschau. 1905. No. 13. Vergl. Detre, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 18.

Art des Zusatzes	Menge der zugeetzten Lösung in ccm	Erfolg
Lecithol Riedel	1	gelöst
	0,5	gelöst
	0,1	gelöst
Lecithin Merck	1	gelöst
	0,5	gelöst
	0,1	gelöst
Cholesterin	1	ungelöst
	0,5	ungelöst
	0,2	ungelöst
	0,1	teilweise gelöst
Aetherextrakt von Ziegenblutkörperchen	1	ungelöst
	0,5	teilweise gelöst
	0,2	teilweise gelöst
	0,1	gelöst
Aetherextrakt von Kaninchenblutkörperchen	1	ungelöst
	0,5	teilweise gelöst
	0,2	gelöst
	0,1	gelöst

Auch beim Tetanolytin konnte nachgewiesen werden, daß Stromata von Blutkörperchen, die durch Schütteln mit Aether oder Petroläther gewonnen werden, viel weniger des Giftes binden als einfach durch Einfrieren mit destilliertem Wasser dargestellte Stromata.

### III. Bakterizide Serumwirkung.

Auch an den bakteriziden Stoffen des Serums läßt sich eine Verwandtschaft zu den Zelllipoiden nachweisen.

Die Versuche wurden in ähnlicher Weise wie bei den Hämolytinen vorgenommen.

Zur Extraktion der Bakterien wurde die Kulturmasse von Agarplatten mit Aether gründlich verrieben; es kam ein choleraähnlicher *Vibrio* sowie *Bac. typhi* zur Verwendung.

#### 1) Kaninchenserum — *Vibrio* d.

Art des Zusatzes	Gewicht des Zusatzes in g zu 1 ccm Serum	Kolonieenzahl nach 2 Stunden	nach 18 Stunden
Cholesterin	0,0032	1	18
Lecithol Riedel	0,0031	0	80
<i>Vibrio</i> extrakt	0,0029	12	200
Blutextrakt (Kaninchen)	0,003	9	200
Kontrolle	0	0	2

#### 2) Kaninchenserum — Typhusbacillen.

Cholesterin	0,0034	6	30
Blutextrakt (Kaninchen)	0,0032	15	110
<i>Vibrio</i> extrakt	0,003	15	110
Typhusbacillenextrakt	0,0028	12	100
Kontrolle	0	4	30

Zu je 1 ccm frischem Kaninchenserum wurde ca. 0,003 g des Abdampfrückstandes solcher Aetherlösungen zugefügt, zu anderen Proben wurden gleiche Gewichtsmengen von Cholesterin, Lecithin oder Abdampfrückständen der Aetherextrakte von Blutkörperchen genommen. Das Serum blieb mit diesen steril gehaltenen Zusätzen 1 Stunde lang in dem Brutofen, dann wurde eine bei allen Röhren gleiche Einsaat von Bakterien vorgenommen und die Bakterienzahl in den Röhren vergleichsweise sofort und nach 2- und 18-stündigem Aufenthalt bei 37° unter mikroskopischer Kontrolle durch Gelatineplattenkultur bestimmt. Die angegebene Zahl ist durch annähernde Durchschnittszählung von Gesichtsfeldern bei Besichtigung der Platten mit schwacher mikroskopischer Vergrößerung gewonnen (s. vorstehende Tabelle).

Diese und ähnliche Versuche lassen die Einwirkung von Lipoiden auf die bakteriziden Substanzen des Serums deutlich erkennen. Eine irgendwie spezifische Wirkung der Bakterienextrakte ist bei der Bakteriolyse niemals hervorgetreten.

Die angeführten Versuche zeigen, daß die lipoiden Bestandteile der Zellen Hämolyse und Bakteriolyse zu binden vermögen<sup>1)</sup>. Es ist demnach sehr wahrscheinlich, daß bei der lytischen Wirkung der genannten Stoffe diese, außer an die Proteine, auch an die Lipoiden gebunden werden, und daß diese Bindung für den lösenden Effekt von Bedeutung ist. Diese Annahme ergibt sich auch aus den Versuchen, in denen sich eine Abnahme der absorbierenden Wirkung der Stromata durch deren Entfettung herausstellte. Demnach würden sich diese Prozesse den Hämolyse durch Saponin (Ransom<sup>2)</sup> und durch fettlösende<sup>3)</sup> Agentien überhaupt anreihen. Allerdings ist zu bedenken, daß bei den untersuchten Lysinen, vom Tetanolysin abgesehen, die bindende Fähigkeit der Lipoiden verglichen mit der diese Lipoiden enthaltenden Menge von intakten Zellen doch nur gering ist.

Man wird auch aus diesem Grunde möglicherweise annehmen müssen, daß die bindenden Stoffe meist nicht die fettähnlichen Substanzen allein sind, sondern Verbindungen dieser mit den Proteinen. Es ist dabei für diese Betrachtung anscheinend unwesentlich, ob man sich das Fett (Lipoid) oder die Fett-Eiweißverbindung nur in einer besonderen Hüllschicht<sup>4)</sup> vorhanden oder in den Zellen verteilt denkt (Pauli.)

Das Maßgebende dürfte in jedem Falle die durch Anlagerung der lösenden Substanz bedingte Desintegration einer lipoiden Hüllschicht oder der Verbindung zwischen Lipoiden und Eiweißkörpern sein, durch deren intakten Zustand der normale Zellbestand gesichert und gegen das Eindringen und Austreten in Wasser löslicher Stoffe geschützt wird. [Vergl. Overton, Meyer, Koeppe<sup>5)</sup>.]

Es darf übrigens nicht verschwiegen werden, daß wir auch Hämolyse untersuchten, die durch isolierte Lipoiden in unseren Versuchen sich nicht neutralisieren ließen. So konnten wir diesen Effekt beim

1) Wir beobachteten außerdem, daß die Lösung von Blutkörperchen durch käufliches Trypsin (Grübler) durch ätherische Blutextrakte gehemmt wird.

2) D. med. Wochenschr. 1901.

3) Vergl. Koeppe. l. c.

4) Vergl. Albrecht. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. 1903.

5) Wie leicht diese Hüllschicht außer durch Lösungsaffinitäten schon durch Absorptionskräfte zerstört wird, zeigen die Versuche von Gengou über Hämolyse durch adhärerende unlösliche anorganische Substanzen.

Staphylolysin nicht genügend sicher feststellen. In diesen Fällen wäre trotzdem noch eine Beteiligung der fettartigen Stoffe in dem Zustand, in dem sie sich in den Zellen befinden, möglich, oder aber es könnte der Angriffspunkt dieser Gifte von den Proteinen allein gebildet werden, und auf diese Weise die Zerstörung der Hüllschichte bzw. einer Fett-Eiweißverbindung bewirkt werden.

Es liegt nahe, zu denken, daß auch bei anderen Toxinwirkungen als der Hämolyse, namentlich bei der Bindung des Tetanustoxins an die Substanz des Nervensystems Lipide beteiligt sein könnten.

Für diese Auffassung sprechen die folgenden Versuche, durch die ermittelt werden sollte, ob das bekannte Wassermannsche Phänomen, nämlich die Neutralisierung der Tetanusgiftwirkung durch Mischung des Giftes mit Hirnbrei, sich noch realisieren läßt, wenn der verwendete Hirnbrei vorher mit fettlösenden Mitteln behandelt wird. Diese Versuchsanordnung ist der oben beschriebenen, mit deren Hilfe die lysinbindende Wirkung lipoidhaltiger und mit fettlösenden Substanzen behandelten Blutkörperchenstromata untersucht wurde, vollkommen analog.

Es wurden frische Meerschweinengehirne durch einen medianen Schnitt in zwei gleiche Teile geteilt, beide Teile wurden zerrieben, die eine Portion sofort mit 5 ccm 1-proz. NaCl-Lösung vermischt. Die andere Hirnportion wurde mit reichlichem Aether in der Reibschale gründlich verrieben, der Brei dann auf ein Papierfilter gebracht und hier weiter mit Aether behandelt, derart, daß der aufgegosene Aether eine Zeitlang einwirkte, dann abgelassen und durch neuen ersetzt wurde. Das ganze Verfahren dauerte etwa 1 Stunde. Nun wird der Hirnbrei wieder in die Reibschale zurückgebracht, der Aether durch Verdunsten entfernt und die Masse mit 5 ccm 1-proz. NaCl-Lösung angerieben.

Es wird nun Tetanustoxin (Tox) in 1 ccm 1-proz. NaCl, ferner Toxin einerseits mit 1 ccm Hirnemulsion (H), andererseits mit 1 ccm der Emulsion des mit Aether behandelten Hirnes (HA) gemischt und weißen Mäusen unter die Rückenhaut injiziert. Die Toxinmenge ist in Kubikcentimetern angegeben. Die Mäuse hatten annähernd gleiches Gewicht.

Injiziert mit	Effekt
100	Tod nach 12 Stunden
500	Tod nach 16 Stunden
1000	Tod nach 22 Stunden
5000	Tod nach ca. 24 Stunden
10000	Tod nach ca. 36 Stunden
100000	Tod nach 84 Stunden
1000000	Tod nach 48 Stunden
10000000	Tod nach ca. 30 Stunden
40000000	Tod nach 115 Stunden
100000000	lebt
1000000 + H	lebt
1000000 + H	lebt
1000000 + H	lebt
1000000 + H	lebt
1000000 + HA	Tod nach 87 Stunden
1000000 + HA	Tod nach 132 Stunden
1000000 + HA	Tod nach 66 Stunden
1000000 + HA	Tod nach 230 Stunden
1000000 + HA	Tod nach 60 Stunden
1000000 + HA	Tod nach 84 Stunden
1000000 + HA	lebt nach Ueberstehen schwerer Tetanuserscheinungen

Die mit den Mischungen Tox + HA injizierten Mäuse zeigen häufig nicht die typische Krampfstellung.

Aus dieser Zusammenstellung läßt sich erkennen, daß durch die Behandlung mit Aether die Hirnsubstanz viel von ihrer giftneutralisierenden Eigenschaft einbüßt. Man wird so darauf hingewiesen, daß für die giftbindende Eigenschaft der Nervensubstanz, die sich sowohl in vitro nachweisen läßt, als auch in vivo in den bekannten Vergiftungserscheinungen ihren Ausdruck findet, die eigentümliche Zusammensetzung der Hirnsubstanz aus Verbindungen von Proteinen und reichlichen Lipoiden wahrscheinlich von wesentlicher Bedeutung ist<sup>1)</sup>. Aetherische oder alkoholische Extrakte des Gehirnes allein, sowie Cholesterin und Lecithin fanden wir nur in geringem Masse geeignet, Tetanusgift zu neutralisieren.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kenntnis der agglutinierenden Immunsera.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut in Wien (Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von Dr. Otto Porges.

Die Agglutination war seit ihrer Entdeckung durch Gruber und Durham als eine artspezifische Reaktion bekannt. Joos<sup>2)</sup> war der erste, der noch eine andere Form der Spezifität behauptete. Er machte nämlich die Beobachtung, daß ein Immuserum, das durch Injektion auf 60° erhitzter Bakterien erzeugt war, normale und auf 60° erhitzte Bakterien in gleichem Maße agglutinierte, während andere Sera, die mittelst normalen Bakterien gewonnen waren, 60°-Bakterien in weit geringerem Umfange zur Ausflockung zu bringen vermochten als normale Kulturen. Joos benutzte diese und noch andere Versuche als Grundlagen für eine Theorie der Multiplizität der Immunkörper, deren Berechtigung an anderer Stelle<sup>3)</sup> diskutiert wird. Kraus und Joachim<sup>4)</sup> unterzogen die Versuche von Joos einer Nachuntersuchung, konnten jedoch seine Ergebnisse nicht bestätigen. Dagegen fanden sie, daß Sera, die durch Injektion auf 60° erhitzter Kulturen gewonnen werden, in der Regel höhere Agglutinationswerte besitzen als solche, die unter sonst gleichen Bedingungen mit normalen Bakterien hergestellt sind. Paltauf<sup>5)</sup> unterwarf diese Versuchsergebnisse einer kritischen Betrachtung und vermutete Beziehungen zu gewissen Beobachtungen, die Obermayer und Pick auf dem Gebiete der Präzipitation machen konnten. Obermayer und Pick<sup>6)</sup> erzeugten präzipitierende Immunsera durch Injektion von Seris und Eiweißkörpern, die durch Erhitzung auf verschiedene Temperaturen und Einwirkung eingreifender chemischer Agentien vorbehandelt waren, und konnten für die Wirkungsweise derartiger Immunsera folgende Regeln aufstellen: 1) Ein durch Injektion

1) Vergl. Metchnikoff, L'immunité. Paris (Masson) 1901. p. 407.

2) Joos, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIII. 1903. No. 10.

3) Porges, Zeitschr. f. exper. Pathologie u. Therapie. 1905. Heft 3.

4) Kraus u. Joachim, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI. 1904. No. 5. u. Bd. XXXVII. No. 1.

5) Paltauf, Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 50.

6) Obermayer u. Pick, Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 22 u. 1904. No. 10.

eines genuinen Serums oder Eiweißkörpers hergestelltes Präzipitin reagiert nur mit dem genuinen Serum bzw. Eiweißkörper, nicht aber mit gekochtem Serum oder anderen Derivaten, in geringerem Maße mit einem auf 70° erhitzten Serum. 2) Ein durch Injektion eines gekochten Serums (Eiweißkörpers) erzeugtes Immunserum reagiert zunächst mit dem gekochten Derivat, nach längerer Immunisierung auch mit dem genuinen Körper. 3) Ein durch Injektion eines durch Erwärmung auf 70° vorbehandelten Präzipitinogens gewonnenes Immunserum reagiert auf genuines, gekochtes und auf 70° erhitztes Serum (Eiweißkörper) in gleichem Maße. Dieses Immunserum besitzt also die größte Reaktionsbreite, es ist gewissermaßen ein polyvalentes Serum.

Obermayer und Pick sprechen sich in ihrer Mitteilung dahin aus, daß dem von ihnen gefundenen Gesetze auch auf dem Gebiete der Bakterienagglutination Geltung zukommen dürfte. Paltauf sieht nun in den von Joos und Kraus und Joachim ermittelten Tatsachen einen Ausdruck dieses Gesetzes. Auf Anregung des Herrn Prof. Paltauf stellte ich mir die Aufgabe, diese Theorie durch weitere Versuche zu stützen.

Die zunächst in dieser Richtung angestellten Versuche, wie sie auch schon teilweise von Kraus und Joachim<sup>1)</sup> durchgeführt worden sind, hatten ein Ergebnis, das sich scheinbar nicht mit dem Paltauf'schen Postulate in Einklang bringen ließ. Alle Immunsera, ob sie nun durch Injektion von normalen oder auf 60°, auf 80° und auf 100° erhitzten Bakterien hergestellt worden waren, agglutinierten normale Bakterien, 60° Bakterien nur in geringem Maße, Bakterien, die auf höhere Temperaturen als 60—63° erhitzt worden waren, überhaupt nicht. Später stellte es sich dann, im Anschluß an Versuche<sup>2)</sup>, die in anderer Richtung unternommen waren, heraus, daß die Inagglutinabilität erhitzter Bakterien eine Folge von Veränderungen ihres Proteins ist. Durch Erhitzen der Bakterien auf Temperaturen über 60°, durch Behandeln mit Säuren oder Laugen wird nämlich aus dem Nukleoproteid der Bakterien ein Nuklein abgespalten, welches durch seine physikalische Beschaffenheit ihre Ausflockung hemmt. Durch andauerndes Kochen mit Wasser oder mäßiges Erhitzen in saurer Lösung wird das Nuklein weiter hydrolysiert, wodurch die Ausflockungshemmung beseitigt wird. Diese Erkenntnis ermöglichte es erst, normale und durch längere Zeit auf 100° erhitzte Bakterien mit Erfolg als Reagens auf die verschiedenen Sera zu verwenden und aus den sich ergebenden Differenzen weitere Schlüsse zu ziehen. Die nachfolgende Tabelle gibt eine Uebersicht über diese Versuche. Bezüglich des Technischen wäre zu erwähnen, daß immer eine Reihe von Seris mit derselben Kulturaufschwemmung ausgewertet wurde, um alle Fehlerquellen nach Möglichkeit auszuschalten. Die Erhitzung der 100° Bakterien wurde auf 1 Stunde ausgedehnt. Die Immunisierung wurde mit subkutanen Injektionen von Agarkulturaufschwemmungen durchgeführt (s. Tabelle auf p. 321).

Vergleicht man zunächst die 3 Pferdesera untereinander, so fällt es auf, daß sie trotz gleicher Agglutinationshöhe für normale Bakterien erheblich verschiedene Agglutinationswerte für 100° Bakterien aufweisen.

Das mit lebenden Bakterien erzeugte Edgarserum vermag 100° Bakterien nur in ganz geringem Maße auszu-

1) l. c.

2) Porges, l. c.



Tabelle. Wirkungsweise der Typhusimmunsera.

Tier	Art des Serums	Agglutinationswert für lebende Bakterien	Agglutinationswert für 100° Bakterien	Auf 100 Agglutinineinheiten f. lebende Bakterien entfallen für 100° Bakt.
1. Pferd „Edgar“	Durch zahlreiche Injektionen lebender Bakterien immunisiert	20 000	50	0,25
2. „ „Elsa“	Durch zahlreiche Injektionen 60° Bakterien immunisiert	20 000	500	2,5
3. „ „Gigant“	Durch zahlreiche Injektionen 80° Bakterien immunisiert	20 000	2000	10
4. Kaninchen No. 275	1 Injektion von lebenden Bakterien	200	5	2,5
5. „ „ 45	2 Injektionen von lebenden Bakterien	2 000	20	1
6. „ „ 275	4 Injektionen von lebenden Bakterien	10 000	200	2
7. „ „ 24	1 Injektion von 60° Bakterien. 1 Injektion von lebenden Bakterien	2 000	50	2,5
8. „ „ 273	1 Injektion von 60° Bakterien	1 000	400	40
9. „ „ 274	1 Injektion von 60° Bakterien	1 000	200	20
10. „ „ 219	1 Injektion von 60° Bakterien	100	50	50
11. „ „ 189	2 Injektionen von 80° Bakterien	100	50	50
12. „ „ 272	1 Injektion von 100° Bakterien	200	200	100
13. „ „ 143	2 Injektionen von 100° Bakterien	500	50	10
14. „ „ 218	2 Injektionen von 100° Bakterien	200	100	50
15. „ „ 218	4 Injektionen von 100° Bakterien	500	500	100

flocken, das Elsaserum (mit 60° Bakterien erzeugt) bildet einen Uebergang zu dem mit 80° Bakterien gewonnenen Gigantserum, welches 100° Bakterien nur wenig schwächer agglutiniert als normale Bakterien. Von den Kaninchenseris lassen sich zwei Kategorien scharf voneinander trennen, die mit normalen und die mit erhitzten Bakterien erzeugten Sera. Erstere (Sera 4—7) besitzen auf 100 Agglutinineinheiten für normale Bakterien höchstens 2,5 Agglutinineinheiten für 100° Bakterien, bei letzteren (Sera 8—15) beträgt der Agglutinationswert für 100°-Kultur mindestens 10 Proz. vom Werte für normale Kultur.

Die Verschiedenheiten der beiden Arten von Seris müssen durch Verschiedenheiten ihrer Agglutinine und weiterhin durch Verschiedenheiten der Agglutinogene der Bakterien, welche im Tierkörper die Agglutininbildung hervorrufen, bedingt sein. Somit besteht die von Obermayer und Pick für die Präzipitine nachgewiesene Zustandsspezifität in ähnlicher Weise für die Bakterienagglutinine. Im Prinzip hat sich also die Annahme von Paltauf bestätigt.

Im speziellen ergeben sich gegenüber den Resultaten, welche Obermayer und Pick bei der Präzipitation erhalten haben, einige Unterschiede, wie sie in Anbetracht gewisser Besonderheiten und der abweichenden Methodik wohl zu erwarten waren. So konnten Obermayer und Pick bei Immunisierung mit genuinem Serum kein Präzipitin für gekochtes Serum nachweisen. Bei der geringen Reaktionsfähigkeit der Präzipitation (ein Präzipitin wird bei 20-facher Verdünnung wohl nur selten Niederschläge geben) ist es aber leicht möglich, daß geringe Präzipitinmengen dem Nachweise durch sichtbare Präzipitatabildung entgehen, während die Agglutination selbst die Gegenwart von geringen Agglutininmengen anzeigt.

Bei mit lebenden Bakterien erzeugten Seris beträgt die Agglutininmenge für 100° Bakterien höchstens 2,5 Proz. des Agglutinins für normale Bakterien, wie oben zu ersehen ist; verdünnen wir nun ein noch so kräftiges Präzipitin derartig, daß seine Konzentration nur mehr 2,5 Proz. der ursprünglichen Präzipitinmenge beträgt, d. i. auf das 40-fache, so werden wir niemals auch nur eine Spur von Niederschlag erhalten.

Weiter haben Obermayer und Pick bei Immunisierung mit gekochtem Serum ein Immunpräzipitin erhalten, das zunächst nur mit gekochtem Serum reagiert, während bei der Bakterienagglutination eine einmalige Injektion von gekochten Bakterien genügt, um ein Serum zu erzeugen, das mit normalen Bakterien stark reagiert.

Sera, die durch Injektion von 60° Bakterien erzeugt sind, schließen sich an die Sera an, die mit 80° und 100° Bakterien gewonnen wurden, während bei Obermayer und Pick auf 70° erhitztes Serum ein Präzipitin liefert, das einen Uebergang der beiden Serumtypen bildet. Die Temperatur, bei der sich die Umwandlung des Agglutinogens der Bakterien vollzieht, dürfte also noch unter 60° liegen.

Durch die oben angeführten Versuche werden auch die Befunde von Joos<sup>1)</sup> verständlich. Die Sera reagieren nämlich auf 60° Bakterien ähnlich wie auf 100° Bakterien. Nur schwankt der Temperaturpunkt, bei dem die Agglutinabilität der Bakterien zurückgeht, zwischen 60° und 63°, so daß man bei manchen Kulturen durch Erhitzen auf 60° das Agglutinationsvermögen überhaupt noch nicht geschädigt hat, während andere bereits vollständig inagglutinabel geworden sind. Hat man die Herabsetzung des Auflockerungsvermögens nur bis zu einem gewissen Grade durchgeführt, so kann man gelegentlich, wie Joos mit einem durch 60° Bakterien dargestellten Serum, für 60° und normale Bakterien gleiche Agglutinationswerte erhalten, während ein durch normale Bakterien gewonnenes Serum hier erhebliche Differenzen zeigt. Jedenfalls ist es notwendig, um Vergleichswerte für die einzelnen Kategorien von Seris zu erhalten, die Agglutination mit derselben Aufschwemmung von 60° Bakterien durchzuführen.

Nachdem nun bewiesen war, daß die Agglutinine, je nachdem sie von Injektionen von normalen oder erhitzten Bakterien herrühren, typische Unterschiede erkennen lassen, wurde versucht, durch partielle Absorption eine Trennung des Agglutinins für normale und desjenigen für 100° Bakterien herbeizuführen. Die diesbezüglichen Versuche gestalteten sich folgendermaßen:

I. Gleiche Mengen von Pferdetyphusimmunserum „Edgar“ (A<sub>n</sub> 20 000,

1) l. c.

A<sub>100</sub> 50) und Pferdetyphusimmunserum Gigant (A<sub>n</sub> 20000, A<sub>100</sub> 2000) je in der Verdünnung 1:50, werden mit derselben Menge einer durch 1 Stunde auf 100° erhitzten dichten Typhusbakterienaufschwemmung versetzt, 6 Stunden im Brutschrank gelassen, hierauf durch Zentrifugieren von den Bakterien befreit und auf ihren Agglutinationswert gegenüber lebenden Typhusbakterien geprüft. Beide Sera geben bei einer Verdünnung von  $\frac{1}{1600}$  vollkommene, bei  $\frac{1}{3200}$  spurenweise Agglutination.

Dieser Versuch beweist, daß 100° Bakterien Agglutinin für normale Bakterien und zwar in den Immunsereis beider Kategorien in gleichem Umfange absorbieren. Allein es könnte hier der Einwand geltend gemacht werden, daß die 100° Kultur auch noch unveränderte Bakterien in größerer oder geringerer Zahl enthält, auf die vielleicht die Absorption des Agglutinins für normale Bakterien zu beziehen wäre.

II. Gigantserum in der Verdünnung 1:100 wird mit einer dichten Aufschwemmung von lebenden Bakterien versetzt, durch 6 Stunden bei 37° gehalten, hierauf durch Zentrifugieren von den Bakterien befreit. Der Agglutinationstiter des Serums beträgt gegen lebende Bakterien nunmehr 500—1000, mit 100°-Bakterien reagiert das Serum (bei einer Verdünnung von  $\frac{1}{200}$ ) nicht mehr.

Die lebenden Bakterien haben also in entsprechendem Maße Agglutinin für 100° Bakterien absorbiert. Auch bei diesem Versuche wäre etwa einzuwenden, daß normale Kulturen bereits Bakterien enthalten können, welche dieselben Veränderungen zeigen wie 100°-Bakterien.

III. Gigantserum in der Verdünnung 1:20 wird je mit der gleichen Menge einer normalen und einer 1 Stunde auf 100° erhitzten Aufschwemmung versetzt, für 6 Stunden in den Brutschrank gestellt, hierauf durch Zentrifugieren von den Bakterien getrennt. Der Agglutinationswert des mit normalen Bakterien erschöpften Serums beträgt für normale Bakterien 2000, für 100° Bakterien 100, derjenige des mit 100° Bakterien behandelten Serums beträgt für normale Bakterien 2000, für 100° Bakterien 100—150.

Die normalen und die 100°-Bakterien haben also in annähernd gleichem Umfange Agglutinin für normale und für 100° Bakterien absorbiert, während bei einer spezifischen Adsorption die Bakterien das für ihre Zustandsphase spezifische Agglutinin stärker absorbieren müßten als Bakterien einer anderen Zustandsphase.

Aus den eben angeführten Versuchen geht also hervor, daß sich die zustandsspezifischen Agglutinine durch selektive Adsorption nicht trennen lassen. Ihre Spezifität muß also anderweitig begründet sein als durch spezifische Adsorption. Es bleibt künftigen Versuchen überlassen, in dieses dunkle Gebiet Licht zu bringen. Einen Anhaltspunkt gewähren in dieser Richtung vielleicht die Versuche von Dehne<sup>1)</sup> und Hamburger, sowie von Kraus und Přibram<sup>2)</sup>. Hamburger und Dehne konnten nachweisen, daß die präzipitable Substanz antitoxischer Sera an das Antitoxin gebunden ist, Kraus und Přibram konnten ein ähnliches Verhalten für agglutinierende Sera zeigen. Von Wichtigkeit ist aber namentlich der Befund von Kraus und Přibram, daß dieses Verhalten nicht für alle Sera zutrifft, so daß wir nach ihrem

1) Dehne und Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 29.

2) Kraus und Přibram, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX. Heft 1.

Vorgänge Agglutinine unterscheiden müssen, die am Präzipitinogen hängen, und solche, die diese Beziehung nicht erkennen lassen. Diese Verhältnisse müßten nun auch für die physikalischen Bedingungen des Ausflockungsvorganges von Belang sein. Daß übrigens Sera, die durch Injektion von normalen Bakterien erzeugt sind, nicht etwa eine hemmende Substanz für die Agglutination von 100° Bakterien enthalten, ließ sich durch einen Versuch feststellen, bei dem ein solches Serum mit einem Serum gemischt wurde, welches stark auf 100° Bakterien reagierte, ohne daß dadurch die Reaktion des letzteren auf 100° Bakterien abgeschwächt worden wäre. Wenn wir schließlich in der Immunitätslehre nach ähnlichen Erscheinungen Umschau halten, so finden wir nur einige teilweise vergleichbare Beobachtungen. So kann dasselbe Bakterium, je nach dem Nährboden, von welchem es stammt, verschiedene Immunsera erzeugen, wie Glässner<sup>1)</sup> zeigen konnte. Jedoch ist hier die Verschiedenheit der Agglutinine nur quantitativer und nicht wie in unserem Falle qualitativer Natur.

#### Zusammenfassung.

1) Agglutinierende Sera, die durch Injektion von normalen Bakterien erzeugt sind, besitzen nur in geringem Maße die Fähigkeit, auf 100° erhitze Bakterien zusammenzuflocken.

2) Agglutinierende Sera, die durch Injektion von erhitzten Bakterien erzeugt sind, haben hingegen für auf 100° erhitze Bakterien ein beträchtliches Ausflockungsvermögen.

3) Die Spezifität für den Zustand der zur Injektion verwendeten Bakterien beruht nicht auf zustandsspezifischer Absorption, sondern hat in anderen noch nicht näher charakterisierbaren Verhältnissen ihre Ursache.

*Nachdruck verboten.*

### Sur la production d'hémolysine par le Streptocoque variolo-vaccinal.

[Travail du Laboratoire de la Clinique Médicale de l'Université de Gand, et du Laboratoire de l'Hôpital Civil.]

Par H. De Waele et E. Sugg.

L'existence d'une hémolysine streptococcique constitue une constatation d'autopsie à peu près constante chez le lapin mort de streptococcie aiguë, au point que Marmorek en avait fait un phénomène pathognomonique. Il attribue cette propriété à tous les streptocoques virulents. v. Lingelsheim admet aussi un rapport direct mais variable entre la virulence et la propriété hémolytique.

Besredka n'ensemence que des streptocoques renfermés dans le sang recueilli à l'autopsie de lapins morts d'une streptococcie mortelle en 18—24 hs., et, ainsi que Bordet et Schlesinger, admet un rapport entre la virulence et le pouvoir hémolytique pour des souches considérées individuellement.

Lewin constate que le rapport n'existe pas si l'on compare entre elles des souches différentes et Simon estime que même pour les souches considérées individuellement le rapport n'est pas constant.

1) Glässner, Zeitschr. f. experim. Pathologie und Therapie. 1905. Heft 3.

Ces auteurs s'étaient servis de cultures entières et de filtrats. Au contraire Schottmüller, ainsi que Rieke, ajoutent du sang au milieu de culture lui-même avant l'ensemencement. Dans ces conditions même un pouvoir hémolytique faible se décèle; la propriété apparaîtrait comme commune à tous les streptocoques, on aurait même là d'après ces auteurs un argument en faveur de l'unicité des streptocoques.

On sait par les recherches de Besredka et de Lewin que la streptocolysine se manifeste dans la culture dès la 8<sup>e</sup>—24<sup>e</sup> heure. Elle se perd par un séjour plus prolongé de la culture à l'étuve et est, pour ainsi dire, nulle après 3—5 jours.

L'hémolysine qui a passé dans le filtrat des cultures, résiste plus longtemps à la chaleur modérée.

La streptocolysine est au contraire très résistante à la chaleur d'application courte. Ainsi elle supporte 55° pendant une demi-heure et n'est détruite que par un séjour d'une demi-heure à 70°.

Breton put montrer que dans le sang de l'animal infecté l'hémolysine est déjà liée aux hématies. En effet l'hémolyse ne se laisse pas arrêter par le lavage des globules. D'autre part ces mêmes globules cèdent à l'eau de lavage une certaine quantité d'hémolysine. Enfin la production d'antihémolysine aurait été réalisée par Breton chez le lapin.

Des recherches des auteurs cités plus haut il ressort que les cultures en bouillon sont en général pas ou faiblement hémolytiques, leurs filtrats sont inactifs.

Même une culture en bouillon ensemencée avec un minimum de sang renfermant des streptocoques hémolytiques in vivo, est dépourvue d'action. La propriété se perd par la culture en bouillon, dès le premier ensemencement. Exceptionnellement une souche conserve sa propriété hémolytique, Lewin signale qu'un de ses streptocoques l'avait conservée après plus de 6 mois de passages en milieux artificiels. Cet organisme était tout à fait avirulent.

L'addition de sérum de lapin, de liquide d'ascite humain, de sérum de mouton, de bœuf, de cheval, permet d'obtenir une 1<sup>ère</sup> culture fortement hémolytique, et dont le filtrat également est actif en ensemencant du sang renfermant des streptocoques hémolytiques in vivo (Besredka). L'hémolysine agit sur le sang de cobaye, du bœuf, du cheval (Besredka).

Lewin conseille l'emploi de bouillon, additionné de sérum de lapin ou de chèvre. Le filtrat est notablement moins hémolytique que la culture entière, et en comparant le filtrat avec le résidu de la centrifugation (corps des microbes), employés en quantités correspondantes on constate que la propriété est 1000 fois plus active dans le résidu que dans le filtrat.

Dans ses recherches sur la toxine streptococcique Simon avait pu observer que la quantité de toxine secrétée par le streptocoque est plus forte dans un milieu qui possède des propriétés bactéricides et retarde le développement des microorganismes; tandis qu'on ne voit pas se produire un accroissement parallèle de la propriété hémolytique. Bien au contraire il semblerait que „le streptocoque ne produise d'hémolysine que là où il ne rencontre pas beaucoup de résistance antibactérienne“. L'auteur rapproche ce fait des résultats favorables obtenus par Besredka avec du sérum chauffé à 55° C, c'est-à-dire, dépourvu d'alexine.

Par nos recherches sur la variole et la vaccine nous avons à notre disposition une collection de souches streptococciques, de même origine et qui, au point de vue de l'agglutination du moins paraissent appartenir à un type unique, déterminé. C'est précisément la parenté étroite liant toutes ces souches qui nous présentait l'occasion de recherches comparatives. — La généralité des souches du Streptocoque variolo-vaccinal laisse décélérer par la méthode de Schottmüller une légère action hémolytique vis-à-vis du sang du bœuf. Un nombre restreint seulement donne en bouillon des cultures hémolytiques. — On sait que la streptocolysine est plus abondante dans les cultures jeunes. Le fait se vérifie encore pour le streptocoque variolo-vaccinal<sup>1)</sup>. Il résulte d'essais, faits à la fois sur le sang du bœuf et du lapin, que la propriété hémolytique (d'ailleurs un peu moindre pour le sang du lapin que pour celui du bœuf) se manifeste d'une façon parallèle vis-à-vis des deux espèces d'hématies. La proportion d'hémolysine croît jusqu'à la 18<sup>e</sup> heure, reste plus ou moins stationnaire jusqu'à la 48<sup>e</sup> heure, et décroît pour devenir nulle du 4<sup>e</sup> au 5<sup>e</sup> jour. La culture en bouillon de quelques souches manifeste une action hémolytique agissant déjà à la dose de 0,25 c.c. pour 5 c.c. de sang du bœuf à 2,5 ‰, mais ce, seulement à la première culture (autopsie). Dès le premier repiquage, la propriété hémolytique subit une réduction qui descend parfois mais rarement, au quart de la valeur primitive. Ces souches exceptionnelles restent alors hémolytiques sans perdre ni gagner pendant plusieurs mois, au cours de nombreux repiquages. Les filtrats sont inactifs.

En comparant entre-elles les différentes souches du Streptocoque variolo-vaccinal on constate qu'il n'y a pas de rapport entre la propriété hémolytique (vis-à-vis des hématies du lapin et du bœuf) et la gravité des cas dont ils proviennent. La propriété n'est pas non plus proportionnelle à la virulence (doses massives) pour le lapin.

Pour deux souches peu hémolytiques on provoqua l'accroissement de la virulence par des passages successifs par l'organisme du lapin. Cela entraîna une production plus abondante d'hémolysine à chaque passage (première culture et ensemencement avec le sang provenant de l'autopsie), pourvu que l'ensemencement fût fait largement ou qu'il soit fait dans un bouillon additionné de sérum de lapin normal. Mais même dès la première culture il n'apparaît que très peu d'hémolysine si l'ensemencement se fait en bouillon ordinaire avec une trace de sang seulement.

L'addition d'hématies de lapin au bouillon de culture n'exerce aucune influence. Après 9 repiquages quotidiens, effectués dans ces conditions, la virulence de la souche avait baissé de la moitié, la propriété hémolytique n'avait pas varié.

Il est intéressant de remarquer que des repiquages espacés de plusieurs jours, faits avec des cultures conservées à 37° C, tendent à diminuer la propriété hémolytique.

Contrairement à ce qu'il avait observé pour la toxine, Simon trouva que l'hémolysine du streptocoque ne se produisait que là où cet organisme rencontre peu de résistance antibactérienne.

1) Méthode: Les hématies du bœuf et du lapin, en suspension à 2,5 ‰ dans la solution physiologique de NaCl, sont additionnées d'hémolysine en quantités décroissantes, et séjournent une heure à 37°, puis à la température du laboratoire. Les résultats sont notés après 20—24 heures. Pour le sang du bœuf, les résultats furent les mêmes avec des globules non lavés ou lavés; pour le lapin le lavage est nécessaire.

Ce que cet auteur dit de la toxine semble correspondre à une propriété assez générale. On sait que Hamburger put augmenter la résistance du microbe du choléra en les habituant à des milieux renfermant des anticorps spécifiques. La même méthode permit à Sczekely, Sawtschenko, Danicz, d'accroître la virulence du bacille charbonneux.

Wechsberg put obtenir un bacille diphthéritique donnant une toxine plus active en le cultivant dans un milieu additionné de petites quantités d'antitoxines. Enfin Cohn put augmenter la résistance du bacille typhique vis-à-vis des propriétés bactéricides du sérum frais (alexines) en cultivant ces microbes dans du bouillon additionné de sérum frais.

L'observation de Simon pour l'hémolysine semble donc en désaccord avec ces faits. On verra d'ailleurs par la suite de l'exposé que nos recherches sur l'hémolysine du Streptocoque variolo-vaccinal nous ont aussi conduit à un résultat opposé.

Nous avons ajouté au bouillon diverses espèces de sérums :

A. Sérosités dépourvues d'action antihémolytique (2 liquides ascitiques humains).

B. Sérums sanguins à action antihémolytique à l'état frais, tels le sérum du lapin, de la chèvre, du cheval, du bœuf, et l'extrait de rate de ces mêmes animaux.

C. Sérums à propriétés immunisantes ou antimicrobiennes spécifiques, tels le sérum du bœuf vacciné<sup>1)</sup>, le sérum d'un cheval immunisé avec le Streptocoque variolo-vaccinal. Nous nous occuperons spécialement de ces propriétés bactéricides dans une autre travail.

L'essai des propriétés antihémolytiques fut fait sur le schéma suivant : à une dose constante hémolytique de culture de streptocoque de 24 heures on ajoute des quantités décroissantes de sérum frais. On constate que les sérums frais normaux ont une action antihémolytique aux doses de 1 c.c., 0,5, 0,25; ces mêmes sérums, conservés pendant un certain temps perdent peu à peu cette propriété.

Des sérums de bœufs vaccinés, recueillis depuis plusieurs jours, ainsi que le sérum du cheval immunisé avec le streptocoque, ont une action dont l'intensité ne dépasse pas celle des sérums frais.

L'addition de complément sous forme de sérum frais ne manifeste qu'une action additive.

A. Action de l'addition de liquides d'ascite humains au bouillon.

Cette première série d'expériences montre que l'addition d'un liquide séreux suffit pour augmenter le pouvoir hémolytique des cultures.

La proportion de 1 : 10 ou 1 : 5 de liquide ascitique humain ajoutée au bouillon donne sensiblement le même pouvoir hémolytique à la culture; le fonds (plus de corps microbiens) est plus hémolytique, le filtrat ne l'est pas.

Après une série de repiquages quotidiens dans ce milieu la propriété hémolytique tend à diminuer, tandis que pour la première culture le chauffage du sérum ne se traduit pas par une différence appréciable. Cette décroissance est plus accusée si la sérosité a été préalablement chauffée à 58°.

1) cf. Bibliographie, no. 4.

Tableau I.

Dilutions	1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/6 c. c.	1/12 c. c.	1/24 c. c.	1/36 c. c.	1/72 c. c.	1/144 c. c.
Hémolyse par le streptocoque: cas 75.									
Bouillon + asc. F. 1:10	sérum non chauffé	+++	+++	++	+	+	tr		
idem	sér. chauffé	+++	++	++	++	+	+		
Bouillon + asc. F. 1:10 après 20 passages en ce milieu	sérum non chauffé	+++	++	+	+	+	-		
idem	sér. chauffé	++	++	tr	tr	-	-		
Hémolyse par le streptocoque: cas 83.									
Bouillon + asc. F. 1:10	sérum non chauffé	+++	+++	++	++	+	+	tr	-
{ fond de la culture	non chauffé	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-
{ filtrat	chauffé	tr	-	-	-	-	-	-	-
Bouillon + asc. F. 1:10 après 20 passages en ce milieu	sérum non chauffé	+++	+++	+++	++	+	tr	-	-
idem	sér. chauffé	+++	+++	++	+	+	tr	-	-
Bouillon + asc. N.	sérum non chauffé	+++	+++	+++	++	+	tr	-	-
{ fond de la culture	non chauffé	+++	+++	+++	++	++	+	tr	tr
{ filtrat	chauffé	-	-	-	-	-	-	-	-

B. Action de l'addition de sérums sanguins normaux à action antihémolytique à l'état frais, mais sans action immunisante ou bactéricide spécifique.

Le sérum de bœuf ou du cheval non seulement réveille le pouvoir hémolytique d'une culture mais permet d'obtenir des filtrats presque aussi fortement hémolytiques que les cultures et au cours de générations successives dans ce milieu la propriété se conserve assez bien.

Tableau IIa.

Dilutions	1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/6 c. c.	1/12 c. c.	1/24 c. c.	1/36 c. c.	1/72 c. c.	1/144 c. c.
Hémolyse par le streptocoque: cas 31.									
Bouillon + sérum de bœuf 1 <sup>er</sup> passage	culture entière	++	+	+	+	+	-		
	filtrat	+	+	+	tr	-	-		
Bouillon + sérum de bœuf après 16 passages dans ce milieu	culture entière	+	+	+	tr	-	-		
	filtrat	+	+	+	-	-	-		
Hémolyse par le streptocoque: cas 83.									
Bouillon + sérum de bœuf 1 <sup>er</sup> passage	culture entière	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
	filtrat	-	-	-	-	-	-	-	-
Bouillon + sérum de bœuf après 9 passages dans ce milieu	culture entière	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-
	filtrat	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-

Le sérum de cheval favorise la production d'hémolysine (vis-à-vis du sang du bœuf) mais le filtrat est peu ou pas actif.



Tableau IIb.

Dilutions	1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/6 c. c.	1/12 c. c.	1/24 c. c.	1/36 c. c.	1/72 c. c.	1/144 c. c.
Hémolyse par le streptocoque: cas 31.									
Bouillon	+	—	—	—	—	—			
Bouillon + sérum cheval 1:20	+	tr	tr	—	—	—			
Bouillon + sérum cheval 1:20 après 9 passages en ce milieu	+								
{ culture entière		tr	tr	—	—	—			
{ filtrat	+	tr	tr	—	—	—			
Hémolyse par le streptocoque: cas 83.									
Bouillon	+++	+	+	+	tr	—	—	—	—
Bouillon + sérum cheval 1:20	+++	+++	++	+	+	tr	—	—	—
Bouillon + sérum cheval 1:20 après 9 passages en ce milieu									
{ culture entière	+++	+++	++	++	+	tr	—	—	—
{ filtrat	+	tr	tr	—	—	—	—	—	—

C. Action de l'addition de sérums antihémolytiques et à propriétés antivirulentes spécifiques.

I. Le sérum de la chèvre vaccinée, que nous savons<sup>1)</sup> n'acquérir par l'évolution de la vaccine qu'un pouvoir agglutinant faible, se montre aussi peu favorable pour l'obtention de filtrats hémolytiques.

Tableau III.

Dilutions	1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/6 c. c.	1/12 c. c.	1/24 c. c.	1/36 c. c.	1/72 c. c.	1/144 c. c.
Hémolyse par le streptocoque: cas 83.									
Bouillon + sérum de chèvre 1:40									
{ culture entière	+++	++	+	+	—	—			
{ fond de la culture	+++	+++	++	+	—	—			
{ filtrat	tr								
Bouillon + sérum de chèvre 1:10									
{ culture entière	+++	++	+	—	—	—			
{ fond de la culture	+++	++	+	tr	—	—			
{ filtrat	tr								

II. Le sérum de cheval immunisé avec le Streptocoque variolo-vaccinal a une action très faible sur la production de l'hémolysine. Cette action est même inférieure à celle du sérum de cheval frais.

Tableau IV.

Dilutions	1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/6 c. c.	1/12 c. c.	1/24 c. c.	1/36 c. c.	1/72 c. c.	1/144 c. c.
Hémolyse par le streptocoque: cas 31.									
Bouillon	+	—	—	—	—	—			
Bouillon + sérum de cheval 1:20	+	tr	—	—	—	—			
Bouillon + sérum de cheval 1:20 après 9 passages dans ce milieu									
{ culture entière	+	tr	—	—	—	—			
{ filtrat	—	—	—	—	—	—			
Hémolyse par le streptocoque: cas 83.									
Bouillon	+++	+	+	tr					
Bouillon + sérum de cheval 1:20	+++	+++	++	+	+	tr			
Bouillon + sérum de cheval 1:20 après 9 passages dans ce milieu									
{ culture entière	++	++	tr	tr	—	—			
{ filtrat	—	—	—	—	—	—			

1) cf. Bibliogr., no. 5.

III. a) Le sérum de bœuf vacciné est plus actif que le sérum de bœuf non vacciné, mais ici la quantité de sérum ajoutée est moins indifférente.

Déjà la proportion de 1:1000 est favorisante, l'optimum est atteint pour une proportion de 1:20, 1:10, et se manifeste surtout pour le filtrat.

Quand la proportion de sérum devient plus forte, p. ex. 1:5, la propriété hémolytique décroît aussi bien dans la culture que dans le filtrat; cette quantité forte de sérum exerce une action inhibitrice.

L'action favorisante du sérum de bœuf vacciné s'est montrée la plus forte dans le sérum recueilli au 5<sup>ème</sup> jour à partir de la vaccination, tandis que le maximum d'agglutinine s'observe au 7<sup>ème</sup> jour.

Ici aussi l'action hémolysante produite est plus forte quand on utilise pour l'ensemencement une première culture ou bien une culture repiquée depuis plusieurs générations en bouillon ordinaire.

Tableau V.

Dilutions	1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/6 c. c.	1/12 c. c.	1/24 c. c.	1/36 c. c.	1/72 c. c.	1/144 c. c.
Hémolyse par le streptocoque: cas 31.									
Bouillon + sérum de bœuf vacciné, première culture									
{ culture entière	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—
{ filtrat	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
idem, après plusieurs généra- tions en bouillon ordinaire									
{ culture entière	+++	++	+	+	+	tr	—	—	—
{ filtrat	++	+	+	—	—	—	—	—	—

b) Une série de repiquages quotidiens dans ce milieu maintient la propriété hémolytique, tend même à l'accroître.

Si au contraire on emploie du sérum chauffé préalablement ou longtemps conservé, il se produit une certaine décroissance.

Enfin ce tableau met en lumière un fait intéressant: quand dans un milieu de culture fait avec une proportion favorable de sérum on obtient un pouvoir hémolytique maximum, la culture entière, le fond de la culture (qui contient cependant plus de corps microbiens) et le filtrat ont un pouvoir hémolytique à peu près égal. La proportion d'hémolysine n'est donc plus en rapport avec la quantité de corps microbiens; elle ne leur est plus intimement inhérente; elle semble donc ou secrétée ou entrée en dissolution.

Ici encore le chauffage du sérum n'a pas d'action manifeste au premier repiquage, mais des repiquages répétés en ce milieu montrent que l'action de la température a diminué les qualités du sérum; la production d'hémolysine tend à décroître.

Tableau VI.

Dilutions	1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/8 c. c.	1/12 c. c.	1/24 c. c.	1/36 c. c.	1/72 c. c.	1/144 c. c.
Hémolyse par le streptocoque: cas 31.									
Bouillon + sérum du bœuf vacciné	+++	++	++	+	+	tr	—	—	—
Bouillon + sérum du bœuf vacciné après 16 passages par ce milieu	+++	++	++	+	+	+	tr	—	—
Hémolyse par le streptocoque: cas 75.									
Bouillon + sérum du bœuf vacciné	+++	+++	++	++	++	++	+	—	—
Bouillon + sérum du bœuf vacciné après 20 passages dans ce milieu	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	tr
{ culture entière	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	tr
{ filtrat	+++	+++	+++	++	++	++	+	tr	—
Hémolyse par le streptocoque: cas 83.									
Bouillon + sérum du bœuf vacciné avant les passages									
{ culture entière	+++	+++	+++	++	+	tr	tr	—	—
{ fond de la culture	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
{ filtrat	+++	+++	++	++	+	tr	—	—	—
Bouillon + sérum du bœuf vacciné après 20 passages (sérum non chauffé)									
{ culture entière	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
{ fond de la culture	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
{ filtrat	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	tr
après 8 passages (sér. chauffé)	+++	+++	++	++	+	+	tr	—	—

La conception d'une action favorisante développée sur la sécrétion ou la dissolution des poisons streptococciques par le sérum antistreptococcique a été récemment mise en avant par Meyer et appliquée par lui à la fabrication de son sérum. Aronson lui opposa que ces faits n'étaient pas suffisamment démontrés. Nos recherches viennent démontrer que dans certaines conditions l'idée émise par Meyer se vérifie. La propriété agglutinante du sérum du bœuf qui naît au cours de la vaccine, vis-à-vis du Streptocoque variolo-vaccinal montre que ce sérum a subi des modifications qu'on peut rapporter à l'influence de ce streptocoque. Ce sérum, avons nous vu existe notablement la production d'hémolysine, au contraire le sérum d'un cheval infecté avec des cultures en bouillon du Streptocoque variolo-vaccinal ne manifeste pas cette même propriété.

En opposition avec les résultats obtenus avec les diverses souches du Streptocoque variolo-vaccinal, nous avons répété les mêmes expériences avec une série d'autres streptocoques d'origines diverses et dont les propriétés d'agglutination sont nettement différentes de celle du Str. variolo-vaccinal.

On voit par le tableau qui suit que l'addition de sérum augmente la propriété hémolytique des cultures de tous les streptocoques, et que cette propriété tend à diminuer au cours de repiquages successifs dans ce même milieu.

Le sérum du bœuf vacciné ne se distingue pas dans ce rapport des autres sérums.

Tableau VII.

Dilutions		1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/8 c. c.	1/16 c. c.	1/32 c. c.
Hémolyse par le streptocoque: Puerpéral G. 2.							
Bouillon ordinaire	1 <sup>er</sup> passage	++	+	tr			
" + sér. bœuf	"	+++	+	tr			
" + sér. veau vacc. 36	"	+++	+++	++			
" + sér. cheval frais	"	+++	+++	++			
" + sér. cheval	"	+++	++	+			
Bouillon ordinaire	8 <sup>e</sup> passage	+	—	—	—		
" + sér. bœuf	"	++	+	tr	—		
" + sér. veau vacc. 36	"	++	+	tr	—		
" + sér. cheval frais	"	+++	++	+	tr		
" + sér. cheval	"	++	+	—	—		
Hémolyse par le streptocoque Ca.							
Bouillon ordinaire	1 <sup>er</sup> passage	++	+	tr			
" + sér. bœuf	"	+++	+++	+	tr	—	—
" + sér. veau vacc. 36	"	+++	+++	+++	+++	++	tr
" + sér. cheval frais	"	+++	+++	+++	+++	+	tr
" + sér. cheval	"	+++	+++	+++	+++	++	+
Bouillon ordinaire	8 <sup>e</sup> passage	+	+	—	—	—	—
" + sér. bœuf	"	++	+	+	tr	—	—
" + sér. veau vacc. 36	"	++	+	+	tr	—	—
" + sér. cheval frais	"	++	+	+	tr	—	—
" + sér. cheval	"	++	+	+	tr	—	—
Hémolyse par le streptocoque: Scarlatine G. (abès).							
Bouillon ordinaire	1 <sup>er</sup> passage	+++	++	+	tr	—	—
" + sér. bœuf	"	+++	++	+	tr	—	—
" + sér. veau vacc. 36	"	+++	+++	++	+	tr	—
" + sér. cheval frais	"	+++	++	+	tr	tr	—
" + sér. cheval	"	+++	+++	++	+	tr	—
Bouillon ordinaire	8 <sup>e</sup> passage	++	+	tr	—	—	—
" + sér. bœuf	"	++	+	tr	—	—	—
" + sér. veau vacc. 36	"	++	+	tr	—	—	—
" + sér. cheval frais	"	+++	++	+	tr	—	—
" + sér. cheval	"	++	+	+	tr	—	—
Hémolyse par le streptocoque: Erysipèle Kràl.							
Bouillon ordinaire	1 <sup>er</sup> passage	+	tr	tr			
" + sér. bœuf	"	+	tr	—			
" + sér. veau vacc. 36	"	+++	+	tr			
" + sér. cheval frais	"	+	tr	—			
" + sér. cheval	"	++	+	tr			
Bouillon ordinaire	8 <sup>e</sup> passage	—	—	—			
" + sér. bœuf	"	+	tr	—			
" + sér. veau vacc. 36	"	tr	—	—			
" + sér. cheval frais	"	+	+	—			
" + sér. cheval	"	++	+	tr			
Hémolyse par le streptocoque: Rougeole A.							
Bouillon ordinaire	1 <sup>er</sup> passage	+	tr	—			
" + sér. bœuf	"	—	—	—			
" + sér. veau vacc. 36	"	++	+	tr			
" + sér. cheval frais	"	+	tr	—			
" + sér. cheval	"	+	tr	—			
Bouillon ordinaire	8 <sup>e</sup> passage	—	—	—			
" + sér. bœuf	"	+	—	—			
" + sér. veau vacc. 36	"	++	+	tr			
" + sér. cheval frais	"	++	+	—			
" + sér. cheval	"	+	tr	—			

Tableau VII.

Dilutions	1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/6 c. c.	1/12 c. c.	1/24 c. c.
Hémolyse par le streptocoque: Varicelle I.						
Bouillon ordinaire 1 <sup>er</sup> passage	+++	++	+	tr	tr	—
„ + sér. bœuf	++	+	+	tr	tr	—
„ + sér. veau vacc. 36	+++	+++	++	+	+	tr
„ + sér. cheval frais	+++	+++	++	+	tr	tr
„ + sér. cheval	+++	+++	++	+	tr	tr
Bouillon ordinaire 8 <sup>e</sup> passage	+	+	tr	tr	—	—
„ + sér. bœuf	+	tr	tr	—	—	—
„ + sér. veau vacc. 36	+	tr	tr	—	—	—
„ + sér. cheval frais	+++	++	+	tr	—	—
„ + sér. cheval	+++	++	+	tr	—	—
Hémolyse par le streptocoque: Appendicite G.						
Bouillon ordinaire 1 <sup>er</sup> passage	++	+	+	—	—	—
„ + sér. bœuf	+++	++	+	tr	—	—
„ + sér. veau vacc. 36	++	+	+	tr	—	—
„ + sér. cheval frais	++	+	+	tr	—	—
„ + sér. cheval	+++	++	+	tr	tr	—
Bouillon ordinaire 8 <sup>e</sup> passage	—	—	—	—	—	—
„ + sér. bœuf	tr	tr	—	—	—	—
„ + sér. veau vacc. 36	tr	—	—	—	—	—
„ + sér. cheval frais	+	tr	tr	—	—	—
„ + sér. cheval	+	tr	tr	—	—	—

Enfin en répétant partiellement<sup>1)</sup> ces expériences pour divers staphylocoques, vaccinaux et autres, on constate également que l'addition de sérum au milieu de culture ne favorise pas la production d'hémolysines d'une façon sensible, et à ce point de vue le sérum du bœuf vacciné n'exerce aucune action élective plus marquée sur les souches de staphylocoques tirées du vaccin.

Tableau VIII.

Dilutions	1 c. c.	1/2 c. c.	1/4 c. c.	1/6 c. c.	1/12 c. c.	1/24 c. c.	1/36 c. c.	1/72 c. c.	1/144 c. c.
Hémolyse par le staphylocoque hém. W.									
Bouillon ordinaire	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
„ + sérum bœuf	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
„ + sérum veau vacc. 36	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
„ + sérum cheval frais	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
„ + sérum cheval	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Hémolyse par le staphylocoque Ra.									
Bouillon ordinaire	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
„ + sérum bœuf	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
„ + sérum veau vacc. 36	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
„ + sérum cheval frais	+++	+++	+++	+++	++	++	++		
„ + sérum cheval	+++	+++	+++	++	++	+	+		
Hémolyse par le staphylocoque D. P.									
Bouillon ordinaire	+++	++	+	+					
„ + sérum bœuf	+++	++	+	+					
„ + sérum veau vacc. 36	+++	+++	+++	+++					
„ + sérum cheval frais	—	—	—	—					
„ + sérum cheval	+++	+++	++	+					

1) La présence de la staphylolysine ne se mettant en évidence dans les cultures du 10—14<sup>e</sup> jour seulement, nous avons renoncé à étudier l'influence de repiquages successifs.

Tableau VIII.

Dilutions	1 c. c.	$\frac{1}{2}$ c. c.	$\frac{1}{4}$ c. c.	$\frac{1}{8}$ c. c.	$\frac{1}{16}$ c. c.	$\frac{1}{32}$ c. c.	$\frac{1}{64}$ c. c.	$\frac{1}{128}$ c. c.	$\frac{1}{256}$ c. c.
Hémolyse par le staphylocoque doré du vaccin W <sub>2</sub> .									
Bouillon ordinaire	+++	++	+						
„ + sérum bœuf	+++	++	+						
„ + sérum veau vacc. 36	+++	++	+						
„ + sérum cheval frais	—	—	—						
„ + sérum cheval	—	—	—						
Hémolyse par le staphylocoque du vaccin M <sub>2</sub> .									
Bouillon ordinaire	—	—	—						
„ + sérum bœuf	—	—	—						
„ + sérum veau vacc. 36	—	—	—						
„ + sérum cheval frais	—	—	—						
„ + sérum cheval	—	—	—						
Hémolyse par le staphylocoque vaccinal Bruxelles.									
Bouillon ordinaire	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
„ + sérum bœuf	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
„ + sérum veau vacc. 36	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
„ + sérum cheval frais	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
„ + sérum cheval	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++

### Résumé.

1° Même en expérimentant avec des streptocoques de même origine et ayant les mêmes propriétés d'agglutination, on trouve que la propriété hémolytique est très variable d'après les souches.

2° Il n'existe un certain parallélisme entre la virulence et la propriété hémolytique que pour une même souche; la capacité de produire des hémolysines est très instable, encore la présence de sérum est-elle nécessaire, celle d'hématies inopérante.

3° Toute sérosité favorise la production d'hémolysine et peut réveiller cette propriété chez des souches après plusieurs générations en bouillon ordinaire.

4° L'influence de ces sérosités est très différente.

A. Sur le Streptocoque variolo-vaccinal.

Un liquide ascitique humain favorise bien la production d'hémolysine, la propriété se perd au cours de passages successifs dans ce milieu surtout s'il a été préalablement chauffé à 58°.

Un sérum sanguin normal favorise également bien la production d'hémolysine et au cours de passage successifs dans ce milieu la propriété hémolytique se maintient ou décroît.

Le sérum du bœuf vacciné favorise excessivement la production d'hémolysine. Par des passages successifs la propriété a une tendance à s'accroître excepté si le sérum a été préalablement chauffé à 58°.

Au contraire le sérum d'un cheval immunisé avec le Streptocoque variolo-vaccinal favorise assez bien, il est vrai, la production d'hémolysine, mais au cours de passages successifs dans ce milieu la propriété tend à décroître.

B. Sur les streptocoques d'autres origines.

L'influence favorisante des divers sérums est manifeste, mais le sérum du bœuf vacciné ne se distingue pas sous ce rapport des autres sérums.

Les divers sérums n'ont en général pas d'action favorisante sur le développement de la staphylolysine des staphylocoques divers, et le sérum

du bœuf vacciné n'accuse aucune action spéciale vis-à-vis des souches de staphylocoque, tirées des divers vaccins.

5° De même que les autres streptocoques le Streptocoque variolo-vaccinal peut donc ne pas manifester dans une culture en bouillon une propriété que cependant il possède et accuse dans certaines autres conditions.

Ces expériences montrent de plus que l'évolution de la vaccine confère au sérum frais de l'animal réceptif outre des propriétés agglutinantes pour le Streptocoque variolo-vaccinal, d'autres propriétés agissant sur lui et qui sont donc très probablement dues à son influence, tandis que l'injection de cultures en bouillon ordinaire au cheval est incapable de provoquer la formation de ces mêmes propriétés.

Gand, 1<sup>er</sup> décembre 1904.

#### Bibliographie.

- De Waele et Sugg, Étude sur la Variole et la Vaccine. [1<sup>re</sup> partie.] (Arch. intern. de Pharmacodynamie et de Thérapie. Vol. XII. 1903.)  
 — —, Étude sur la Variole et la Vaccine. [2<sup>e</sup> partie.] (Ibid. Vol. XIII. 1904.)  
 — —, Contribution à l'étude de la Varicelle. (Ann. de la Soc. de Méd. de Gand. Vol. LXXXIV. 1904.)  
 De Waele, Die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen einer pathogenen Wirkung des Blatternvirus und der Kuhpockenlymphe. [Sammelref.] (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1905.)  
 De Waele et Sugg, Expériences sur la vaccin cow-pox. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905.)  
 Besredka, De l'Hémolysine streptococcique. (Ann. Inst. Pasteur. 1901.)  
 Bordet, Ann. Inst. Pasteur. 1896. 1898. 1899. 1900.  
 v. Lingelsheim, Handb. d. pathogenen Mikroorg. von Kolle u. Wässermann. Bd. III. 1903.  
 Lewin, Ueber Streptokolyse. (Nord. med. Arkiv. Afd. II. 1903. Häft 3.)  
 Meyer, Ueber Streptokokkenheilserum. (Deutsch. med. Wochenschr. 1904. No. 24.)  
 Biecke, Zur Frage der Arteinheit der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI. 1904.)  
 Schlesinger, Experimentelle Untersuchungen über das Hämolyisin der Streptokokken. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLIV. 1903.)  
 Simon, Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. 1903.)

*Nachdruck verboten.*

## Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien; zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen.

[Aus dem pathol. Laboratorium des Mount Sinai-Hospitals, New York.]

Von Dr. Leo Buerger, New York.

Mit 3 Tafeln.

(Schluß.)

### Der Pneumococcus in Körperflüssigkeiten.

In Exsudaten und im Blute von Tieren, die infolge Infektion mit Pneumokokken gestorben sind, läßt sich der Kapseltypus mit Leichtigkeit färben. Hier bekommen wir regelmäßig die vollkommen entwickelte Form des Organismus zu Gesicht. Gewöhnlich gelang es mir, mit der

Welchschen Methode sehr schöne Präparate zu bekommen. Mit diesem Verfahren erhält man tatsächlich etwas größere Kapseln, da dieselben nicht dem schrumpfenden Einflusse des Sublimats in dem früher beschriebenen Verfahren unterworfen sind. Die nach Welch gefärbten Präparate lassen sich, wenn gewünscht, in folgender Weise konservieren: Nach der Salzwasserauswaschung wird das Deckglas rasch mit einer 5—10-proz. wässrigen Lösung von Kalium ferrocyanatum abgespült, mit Fließpapier getrocknet und in Balsam eingebettet.

Wir finden also die typischen Formen im Eiter des Empyems, im peritonitischen Exsudat, im arthritischen Exsudat sowie im Sputum. Die Empyemexsudate (*Pneumococcus*) können in 3 Hauptklassen eingeteilt werden: a) dünne, seropurulente, b) dicke, rahmig-eitrige und c) schleimige Arten. Die erste Art scheidet sich beim Stehenlassen oft in eine obere Serumschicht und eine untere Eiterschicht. Diese Exsudate zeigen in der Regel die typischen Kapseldiplokokken. Hier und da findet man auch Ketten von 2 Diplokokken (d. h. 4 Glieder). Ein Zusatz von Serum für die Färbung ist überflüssig. Die Kapseln sind in der Regel scharf begrenzt und diffus gefärbt. Die dickeren Exsudate (b) können Zusatz von Serum nötig haben. Die Kapselformen in der letztgenannten Exsudatform (c) nachzuweisen, ist oft schwierig. Hier ist es stets vorteilhafter, den Eiter gründlich mit etwas Serum auf einem Objektträger zu mischen und hiervon die nötige Menge auf das Deckglas zu übertragen.

Die Morphologie des *Pneumococcus* in peritonitischen Exsudaten ist die gleiche wie in dünnen Pleuraflüssigkeiten. Doch findet man gelegentlich Präparate, die kurze streptokokkenähnliche Ketten mit einer zarten lineären Kapsel oder überhaupt keine Kapsel aufweisen. An solchen Präparaten ist die morphologische Diagnose zwischen Pneumokokken und Streptokokken unmöglich. Doch zeigen angefertigte Kulturen oft schon nach 24 Stunden die typischen Pneumokokkenformen.

Es ist von Interesse, die Dauerhaftigkeit der Kapseln in diesen Exsudaten zu beobachten. Photogramm No. 3 stammt von einem Empyem-eiterpräparat, das 2 Wochen lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt worden war. Während der ersten Woche hatte dasselbe tatsächlich nichts anderes als die typischen Diplokokken enthalten. Dann konnte eine Tendenz zur Kettenbildung beobachtet werden und Involutionsformen und leere Kapseln traten in Erscheinung. Die Untersuchung dieses speziellen Eiterpräparates wurde 3 Monate hindurch fortgesetzt. Ein Auszug aus meinen Notizen hierüber gibt folgenden Befund 45 Tage nach der Eiterentnahme: „Es sind noch viele Kapselpneumokokken vorhanden, viele halten die Gramsche Färbung nicht mehr, besitzen aber noch Kapseln. Es sind kurze Ketten mit engen Hüllen zu sehen. Oft entfärben sich ein oder zwei Glieder einer Kette. Die leeren Kapseln haben an Zahl zugenommen. Manchmal findet sich ein einzelner Coccus in der Kapsel, welche offenbar zwei Glieder eingeschlossen hatte.“ Eine Untersuchung, die am Ende von 3 Monaten vorgenommen wurde, zeigt das Verschwinden der meisten Organismen. Doch besaßen diejenigen, die noch übrig waren, wenn auch in einem atypischen, degenerierten und armseligen Zustande, in der Regel eine ausgesprochene färbbare Kapsel.

Aehnliche Beobachtungen konnten bei einer Anzahl anderer Empyemexsudate gemacht werden. Intracelluläre Pneumokokken wurden in einem peritonealen Exsudat getroffen. Bei solchen Präparaten ist es schwierig, eine Ueberfärbung zu vermeiden. Die Leukocyten färben sich unter Umständen so tief mit Gentianaviolett, daß eingeschlossene Pneumokokken



mit ihren Kapseln der Beobachtung entgehen. In dem Eiterpräparat konnten degenerierte Ketten und flaschenförmige Umwandlungsformen mit deutlichen Kapseln noch 2 $\frac{1}{2}$  Monat nach der Eiterentnahme nachgewiesen werden. In keiner der oben beschriebenen Flüssigkeiten war es möglich, am Ende der erwähnten Zeitabschnitte den *Pneumococcus* zu züchten. Vielleicht wird das Studium einer größeren Materialreihe die Schlußfolgerung bestätigen, zu der man auf Grund der obigen Beobachtungen gelangen muß, nämlich, daß die Kapseln der Pneumokokken in den dem tierischen Körper entnommenen Exsudatflüssigkeiten nicht mehr autolytischen Veränderungen unterworfen sind als der Bakterienleib selbst.

Zum Schlusse möchte ich noch auf einige Punkte hinsichtlich des *Pneumococcus* im Sputum aufmerksam machen. Die Herstellung guter Sputumpräparate ist oft ziemlich schwierig. Erfolgreiche Resultate hängen bis zu einem gewissen Grade von den chemischen und physikalischen Eigenschaften ab. Es ist immer sowohl aus mechanischen wie aus chemischen Gründen am besten, etwas Sputum mit verdünntem Serum zu vermischen. Oft geben Kapselfärbung mit Fuchsin oder mit der Gramschen Methode kombiniert die zufriedenstellendsten Resultate. In der Regel findet man die typischen diplokokkenförmigen Formen. Die Größe der Kapsel variiert beträchtlich, und hier und da kann man Hüllen von großen Dimensionen antreffen. Für praktisch-diagnostische Zwecke, wenn im Ausstrich keine Pneumokokken gefunden wurden, oder wenn keine Gelegenheit für Tierimpfung vorhanden ist, oder wenn der Nachweis des Organismus auf Platten schwierig ist, kann man den *Pneumococcus* in folgender Weise mit Erfolg nachweisen. Mehrere Röhren mit Serumagar oder Loefflerschem Blutserum werden der Reihe nach besät<sup>1)</sup>. Kapselfärbungen aus diesen Röhren zeigen oft schon nach 16—24 Stunden die typischen Kapselformen vermischt mit vielen anderen Organismen.

### Die Streptokokken.

Ich will dieser Arbeit eine kurze Betrachtung der Morphologie der Streptokokken einreihen, nicht weil dieselben zu den Kapselbakterien gehören, sondern vielmehr weil einige derselben in ein Stadium der Kapselbildung eintreten, das man als ein intermediäres bezeichnen könnte. Die vielen neueren Berichte über das Vorkommen von Kapselstreptokokken haben die Verwirrung, die bereits betreffs der Anschauungen über die Verwandtschaft des *Pneumococcus* mit dem *Streptococcus* existierte, noch vermehrt. Meines Wissens wurde die feinere Struktur der Streptokokken und ihre Beziehung zur Anwesenheit von Kapseln in Exsudaten und anderen Substraten noch nicht systematisch studiert. Die berichteten Bakterien scheinen alle zu der Klasse zu gehören, die ich später als Gruppe „mit schleimigen Kapseln“ bezeichnen werde. Ob Streptokokken mit Kapseln gefunden wurden, die mit denen des typischen *Pneumococcus* verglichen werden können, ist schwer zu sagen nach dem, was man darüber in der Literatur findet. Die Beobachtungen über die exakte Gestalt der Kapseln tragen im allgemeinen keinen bestimmten Charakter, weil noch die älteren Färbemethoden in Anwendung gezogen wurden; mittels der letzteren kam die Struktur der Organismen auf Nährsubstraten oft nur unvollkommen oder gar nicht zum Ausdruck.

1) Die Aussaat wird in folgender Weise gemacht: Eine Oese voll Material wird in dem ersten Röhren ausgestrichen, was übrig bleibt in dem zweiten und so fort, bis 4 oder 5 Röhren benutzt sind.

Ich beabsichtige nicht, mich eingehend mit dieser Seite des Themas zu befassen, ich hatte mir vielmehr vorgenommen, Beobachtungen über die Morphologie der Streptokokken mitzuteilen, bei welchen die Kapsel-färbemethode zur Anwendung kam. Es wurden ungefähr 150 Stämme gefärbt. Viele derselben stammten von Exsudaten, sonstigen Nährsubstraten und von Versuchstieren. Andere wurden bloß in Serum- oder Serumglukoseagar untersucht. In diesen beiden Gruppen (ungefähr 50 im ganzen) waren nur pyogene Streptokokken enthalten, die von folgenden Fällen reingezüchtet worden waren: Phlegmone, Phlebitis, Osteomyelitis, Empyem, Abscesse, infizierte Uteri, Streptococcaemia etc. Eine größere Anzahl (ca. 100) wurde aus der Mundhöhle gesunder oder kranker Individuen gewonnen. Ihre Pathogenität wurde nur in einigen Fällen nachgewiesen, dagegen die Hauptaufmerksamkeit auf ihre Struktur in Loefflerschem Blutserum oder in Serumagar gerichtet.

Für meine Zwecke reihe ich die Streptokokken in folgende Abschnitte ein mit Unterabteilungen, je nachdem eine Kapsel oder Hülle vorhanden ist oder nicht:

- A. 1) Streptokokken ohne Kapseln.
- 2) Streptokokken mit Kapseln.

B. Streptokokken mit schleimigen Kapseln, besonders beschrieben als „*Streptococcus mucosus capsulatus*“.

A. Wie der *Pneumococcus*, hat auch der *Streptococcus* eine äußerst vielseitige Morphologie, die von vielen Faktoren abhängig ist. In eitrigen Exsudaten zeigt er öfters degenerative Vorgänge wie der lanzettförmige Organismus. Wird er nach der Kapselmethode gefärbt, kommen gewisse Einzelheiten in der feineren Struktur, die sich mit Gramscher oder einfacher Färbung der Beobachtung entziehen, deutlich zur Anschauung. Hier möchte ich erstens die Gegenwart von Kapseln anführen, zweitens die Unterscheidung der normalen Formen von den schlecht färbbaren und degenerierten Elementen.

Wir finden Streptokokken, und zwar in Exsudaten wie auf guten Nährböden, die vollständig ohne Kapsel sind. Viele Stämme, von ganz verschiedenen Quellen herrührend, verhalten sich in dieser Beziehung vollkommen gleich. Von denen, die zur Untersuchung kamen, waren einige von septischen Fällen isoliert worden, andere (wahrscheinlich saprophytische) stammten aus der Mundhöhle gesunder Individuen, andere aus den Faeces und wieder andere aus Kuhmilch.

Es gibt jedoch noch eine andere große Klasse dieser Organismen, denen folgendes gemeinsam ist, nämlich eine charakteristische Hülle, die deutlich von der typischen Pneumokokkenkapsel unterschieden werden kann, nicht aber unterscheidbar ist von der Kapsel, wie sie dem degenerierten Kettentypus des *Pneumococcus* eigen ist. Sie wird durch eine tief gefärbte Linie dargestellt, welche die Kette eng umschließt und zwischen den Kokkenelementen ziemlich tiefe Einbuchtungen aufweist. Wenn man mit starker Vergrößerung (1000-fach) untersucht, kann man sehen, daß dieselbe die beiden halbkugelförmigen Elemente eines einzelnen Coccus einschließt. Von der gut entwickelten Kapsel des *Pneumococcus* unterscheidet sie sich in folgenden Punkten: Sie ist mehr membranartig, die Grenzlinie liegt viel näher dem Leibe des Bakteriums an und sie schließt mehr die einzelnen Kokken wie die Kokkenpaare ein. Bis zu einem gewissen Grade gleicht sie der geschrumpften Kapsel, wie sie sich um degenerierte Pneumokokkenketten findet (s. Abbildung 3).

Diese Kapseln<sup>1)</sup> sind mehr als Außenhülle oder Membran denn als echte Kapseln zu betrachten. Die schleimige Substanz, die für den Pneumococcus und den Streptococcus mucosus capsulatus charakteristisch ist, scheint ihr zu fehlen.

Formen, wie sie soeben beschrieben wurden, finden sich recht häufig in der Mundhöhle gesunder Individuen. In eitrigen Exsudaten ist das Vorkommen von Degenerationsformen die Regel. Membranöse Hüllen können einige Glieder einer Kette einschließen und den Rest der Elemente freilassen. Die Membran kann sogar noch vorhanden sein, wo die von ihr eingeschlossenen Elemente ausgesprochene Degenerationserscheinungen aufweisen und nur wenig Farbe aufnehmen. Seltener ist eine Diplococcus-Form mit der vorbeschriebenen Kapsel frei oder in einer Leukocytenzelle eingeschlossen zu finden.

Auf die Wichtigkeit des Erkennens dieser Kapselstreptokokken und ihrer Unterscheidung von Pneumokokken soll im späteren Verlaufe dieser Arbeit aufmerksam gemacht werden. An dieser Stelle dürfte vielleicht der folgende Hinweis genügen: Es ist nicht sehr schwierig, zwischen den eingekapselten lanzettförmigen Pneumokokkenketten und den Streptokokken zu unterscheiden, doch kann der Pneumococcus dem Streptococcus sehr ähnlich sein, besonders wenn er in Kulturen gefunden wird, die schon eine Reihe von Umzüchtungen durchgemacht haben, sehr selten aber in Exsudaten.

Bei diesen Typen die Kapsel nachzuweisen, ist etwas schwieriger, als es bei anderen Organismen der Fall ist. Augenscheinlich sind diese Hüllen sehr empfindlich gegen äußere Einflüsse. Am besten benutzt man reiches Glukoseserumagar und untersucht vor Ablauf von 24 Stunden. Loefflers festes Nährsubstrat (wenn richtig hergestellt) entspricht in vorzüglicher Weise. Ich habe die übereinstimmendsten Resultate in Ausstrichpräparaten mit unverdünntem Rinderserum erhalten.

#### B. Der Streptococcus mucosus capsulatus.

Mit diesem Namen möchte ich eine Reihe von Organismen bezeichnen, die hinsichtlich ihrer Morphologie, Kultureigenschaften und Virulenz für die durchschnittlich empfänglichen Tiere sowohl mit den Streptokokken wie mit den Pneumokokken etwas Gemeinsames haben. Um nicht zu sehr vom Thema abzuschweifen, will ich mich mit der Aufführung einiger dieser Organismen, wie sie in der Literatur beschrieben sind, und die vielleicht in diese Klasse gehören, begnügen. Dieselben scheinen sich alle darin gleich zu sein, daß sie eine ausgesprochene schleimige Kapsel besitzen.

Hlava (8) beschreibt Streptokokken mit homogenen schleimigen Hüllen und ist der Ansicht, daß dieselben in die Klasse „Leuconostoc hominis“ gehören. Seine Organismen wurden reingezüchtet aus der Mundhöhle sowohl von Scharlach- und Masernfällen, von follikulärer Tonsillitis, von Diphtherie und anderen Racheninfektionen, als auch aus normalen Mundhöhlen. Charakteristisch war für diese Kulturen die Abwesenheit von Kapseln in Substraten, denen kein Zucker zugesetzt worden war.

Im Jahre 1897 züchtete Binaghi (9) einen Kapselstreptococcus aus einem Meerschweinchen, das an multiplen Lungenabscessen gelitten hatte. Diese Organismen wuchsen als durchscheinende wässrige Kolonien auf Agar und verursachten bei Meerschweinchen an der Impfstelle ein gela-

1) Ich möchte diese Art als Streptokokkentypus der Kapseln bezeichnen.

tinöses hämorrhagisches Exsudat. Ihre Virulenz nahm bei den nachfolgenden Generationen rasch ab.

Den Namen „*Streptococcus mucosus*“ gaben Howard und Perkins (10) einer Art, die sie aus dem Herzblut, Milz, Peritoneum, salpingo-ovarialem Absceß und rechter Niere eines Peritonitisfalles erhielten, der im Anschluß an einen salpingo-ovariellen Absceß entstanden war. Obwohl die Kapseln in tierischen Exsudaten besonders deutlich waren, gelang es nicht, sie in Kulturen auf künstlichen Nährböden zu färben.

Andere Beispiele liefern die Organismen von Bonome (11), die aus meningealen Exsudaten von Fällen von Meningitis cerebrospinalis gewonnen wurden, der „Mund-*Streptococcus aggregatus*“ von Seitz (12) und die Streptokokken von Kurth (13) und Besser (14).

Da ich keine Gelegenheit hatte, die Organismen anderer Autoren zu untersuchen, will ich nur die Morphologie meiner eigenen Bakterienstämme beschreiben. Die betreffenden Bemerkungen gelten mit geringen Abweichungen für die 8 Streptokokkenarten, die unter Beobachtung waren. Aus folgender Aufführung geht die Herkunft dieser Bakterien hervor:

*Streptococcus mucosus capsulatus* No. I. aus Cerebrospinalflüssigkeit eines akuten Meningitisfalles. Die Lumbalpunktion war unmittelbar nach dem Tode vorgenommen worden.

*Streptococcus mucosus capsulatus* No. II. aus dem Blute einer Maus, die offenbar sich spontan mit diesem Organismus infiziert hatte.

*Streptococcus mucosus capsulatus* No. III—VIII inklusive, aus der Mundhöhle gesunder Individuen, die an keiner lokalen Affektion litten.

Diese Streptokokken gleichen einander sehr in ihren morphologischen und biologischen Eigenschaften. Werden sie auf den günstigsten Nährböden (Serum und Glukoseserumagar) kultiviert, besitzen sie ein derart üppiges Wachstum, daß dasselbe die am raschesten wachsenden Pneumokokken übertrifft<sup>1)</sup>. Makroskopisch jedoch zeigen ihre Kolonien das gleiche wässrige Aussehen. Bei reflektiertem Lichte betrachtet, sind die oberflächlichen Kolonien augenscheinlich transparent. Dieselben lassen jedoch nicht alles Licht durch, und ein gegen das Licht gehaltenes schräg beschicktes Agarröhrchen scheint mit einer etwas opaken Schicht bedeckt zu sein. Es besteht eine ganz entschiedene Neigung zum Zusammenfließen der Kolonien, indem sie dabei eine etwas schleimige Decke auf dem Röhrchen bilden.

In Exsudaten und im Blute infizierter Mäuse treten diese Organismen sehr gerne in Gestalt runder, biskuit- oder seltener lanzettförmiger Diplokokken auf, die von einer weiten, schleimigen, diffus gefärbten und exakt begrenzten Kapsel umgeben sind. Hier und da finden sich Ketten von 4 und sogar 6 Elementen vor, die von einer ähnlichen Hülle umgeben sind. Die Diplokokken können beim ersten Anblick mit Pneumokokken verwechselt werden. Wenn jedoch die letzteren bei infizierten Tieren vorkommen, nehmen sie in der Regel typische Lanzettform an.

1) Es ist mir kürzlich gelungen, 3 Pneumokokkenstämme zu isolieren, die auf günstigen Nährböden ein so üppiges Wachstum zeigten, daß man sie kaum von Stämmen des *Streptococcus mucosus capsulatus* makroskopisch unterscheiden kann. Die Differentialdiagnose wird in einer späteren Arbeit besprochen werden.

Der schleimige Streptococcus ist selten lanzettförmig, seine Kapsel-elemente sind größer und es werden gewöhnlich kurze Ketten gefunden. Trifft man auf Pneumokokkenketten, so geben diese ein ganz anderes Bild. Zwischen den Diplokokken können gewöhnlich Anzeichen der Einschnürung wahrgenommen werden. Bei jenen Organismen besteht die Kettenkapsel aus einer in die Länge gezogenen Masse von schleimiger Substanz, die in ihrem Innern runde oder biskuitförmige Körper beherbergt, die sehr oft atypisch angeordnet sind und keine entsprechende Einbuchtungen an der Außenseite der Hülle besitzen.

In Nährböden konnte ich regelmäßig die Kapsel nachweisen, obwohl der Streptococcus No. I auf künstlichen Substraten beinahe 6 Monate lang gezüchtet war. Kulturen auf Serum, Milch, Loefflers koaguliertem Rinderserum, Bouillon und neutralem Agar zeigen ausgesprochene Abweichungen hinsichtlich der Morphologie der Organismen. Kapseln konnten in allen diesen Substraten gefunden werden. Ihre Größe und Entwicklung scheint Hand in Hand zu gehen mit der Ueppigkeit des Wachstums, die erzielt wurde. So sind die typischen schleimigen Formen auf den günstigsten Nährböden zu suchen, und dazu gehören die Serum enthaltenden. Untersucht man auf Serumagar (welches sehr ausgedehnte Kulturen gibt), so findet man, daß ihr Charakter von Generation zu Generation die Veränderungen erfährt, die ich nunmehr beschreiben werde. Die allerersten Kulturen, die vom Blute oder Exsudate einer infizierten Maus gemacht werden, zeigen oft ein Ueberwiegen der Diplokokkenformen. Doch ist dies wechselnd, da einige Stämme ebenso viele kurze Ketten wie Diplokokken aufweisen. Oft schien es mir, als ob ein gewisses Verhältnis zwischen dem Vorkommen der Diplokokkenformen und den Faktoren bestände, welche das üppigste Wachstum begünstigen. So zeigten einige Stämme mit dem reichsten Serum und dem besten Agar noch für eine Reihe von Generationen die Neigung zu doppelten Kokken an Stelle von Ketten. Das Gleiche scheint bis zu einem gewissen Grade für den Pneumococcus zu gelten. In diesen frühen Kulturen gleichen die Kapseln des Streptococcus mucosus capsulatus mehr oder weniger denen, deren Vorkommen in tierischen Exsudaten beschrieben wurde. Nach vielen Umzüchtungen können Zeichen einer Veränderung und Abweichungen in der Kapselstruktur vorhanden sein oder auch nicht. Die schleimigen Hüllen verlieren ihre Weite und an ihre Stelle tritt eine enge Kapsel, die nach und nach den Typus annimmt, wie er für gewisse Streptokokken beschrieben wurde. So kann der Streptococcus mucosus capsulatus das folgende Bild geben: Kurze Ketten von 4 oder 6 Gliedern (manchmal sogar 8 oder 10) die gewöhnlich aus runden oder biskuitförmigen Körperchen zusammengesetzt sind, mit oder ohne Degenerationszeichen; sie sind umgeben von einer deutlichen membranähnlichen Hülle, die von den Kokken selbst nur wenig entfernt ist. Ein derartiges Bild kann zu irgend einer Zeit hervorgerufen werden, indem man die Organismen auf sehr trockenen serumfreien Nährböden züchtet oder auf anderweitigen ungünstigen Nährsubstraten. Bei gehöriger Sorgfalt bei der Herstellung wird die Darstellung entweder des schleimigen oder des geschrumpften Typus der Kapseln dieser Streptokokkengruppe selten mißlingen. Abbildung 4 zeigt den Typus der die Ketten einschließenden Kapseln. Abbildung 5 stellt die schleimige Natur der Kapseln noch etwas besser dar.

Hat man mit diesen Formen zu tun, darf man nicht die charakteristische Klebrigkeit und die schleimige Natur der Kapseln vergessen.

Diese Eigenschaften verleihen der Oberfläche des Rasens das eigentümliche wässrige Aussehen. Mit Blut und tierischen Exsudaten macht es nur geringe Schwierigkeit, ausgezeichnete Resultate zu erhalten. Auf Nährböden jedoch sind die Verhältnisse etwas anders. Einige Serumarten, die zum Verdünnen und zu Ausstrichpräparaten gebraucht werden, scheinen physikalische und chemische Eigenschaften zu besitzen, die schädigend auf die Kapsel einwirken. Andererseits begünstigt die klebrige Natur des Materials nicht besonders gut die Herstellung eines gleichmäßig verteilten reinen Gesichtsfeldes. Zu vieles Manipulieren kann ebenfalls die Konturen der Hüllen zerstören. Abbildung 5 zeigt dies in charakteristischer Weise. Die Kapseln sind zum großen Teil zerfallen; einige sind leer und das Gesichtsfeld zeigt die Zeichen der klebrigen schleimigen Substanz, die von dem Ausstreichen dieser Streptokokken zurückgeblieben ist. Auf der anderen Seite begegnet man öfters äußerst vollkommenen Formen auf dem Loefflerschen Substrat, wenn die Kulturen direkt der Mundhöhle entnommen wurden und ca. 24 Stunden alt sind. In solchen gemischten Kulturen habe ich die am besten erhaltenen Kapseln gefunden, die oft eine ebenso scharf begrenzte Membran haben, wie sie in Pneumokokkenfällen gefunden wurden. In solchen Fällen besteht aber immer die Neigung zur tieferen und diffuseren Färbung.

Ob die Schrumpfung der mehr membranartigen Kapseln, wie man sie in alten Kulturen und in armen Nährböden findet, durch den Gebrauch der Fixierungsflüssigkeit übertrieben dargestellt wird oder nicht, kann ich nicht sagen. Vielleicht läßt sich ein gewisser Prozentsatz der Schrumpfung auf diese Weise erklären.

Die Unterscheidung dieser Organismen von den übrigen Streptokokkenarten und von den Pneumokokken wird im weiteren Verlaufe dieser Arbeit noch besprochen werden.

#### Die Gruppe des „*Bacillus mucosus capsulatus*“.

Dieser Sammelname wurde von Fricke für den dem Friedländerschen Bacillus gleichenden Mikroorganismus vorgeschlagen und soll derselbe hier ohne Rücksicht auf die Herkunft der Bacillen, ob aus der Lunge, der Nase, dem Mund oder Verdauungskanal etc., gebraucht werden. In dem Handbuch der pathogenen Mikroorganismen [Kolle und Wassermann (15)] stellte R. Abel in dem Abschnitt über diese Gruppe von Organismen die folgenden Sätze auf: „Die im Körper gekapselten Bacillen zeigen auf den üblichen künstlichen Substraten gezüchtet nur in den ersten Generationen noch hier und da deutlich abgegrenzte Kapseln. Meist fehlen sie und sind ersetzt durch eine dichte Schleimmasse, in die Bacillen eingebettet sind.“

Wenn auch meine Untersuchungen über die Kapseln dieser Bacillen nicht so systematisch und nicht an so vielen Kulturen und unter so verschiedenartigen Verhältnissen angestellt wurden, wie dies bei den Pneumokokken der Fall war, so konnte doch die Anwesenheit von Kapseln auf Nährböden in ca. 20 verschiedenen Stämmen bestimmt zur Anschauung gebracht werden. Die Faktoren, auf denen die Entwicklung und genaue Kapselfärbung beruht, sind hier etwas anders als in den früher beschriebenen Fällen. Wir haben es mit Kulturen zu tun, die noch schleimiger sind als die des *Streptococcus mucosus*. Die technischen Schwierigkeiten sind daher etwas größer.

Wie beim *Pneumococcus*, erhält man in der Regel zufriedenstellende Kapseln an frisch isolierten Organismen. Hier sind jedoch die

Serumssubstrate nicht wesentlich. Ich war im stande, die größten und am besten abgegrenzten Kapseln auf gewöhnlichem Agarnährboden darzustellen. Es werden vielfache Abweichungen in der Form, Größe und Klebrigkeit der Kapseln dieser Bakteriengruppe gefunden, und zwar beruhen diese Unterschiede nicht nur auf den Stämmen, sondern auch auf den Kulturbedingungen.

Drei Organismen meiner Untersuchungsreihe auf Agar gezüchtet, waren einzig in der Ueppigkeit des Oberflächenwachstums, in der Größe und scharfen Begrenzung ihrer Hüllen. Einer dieser Bacillen wurde aus den Faeces eines typhusverdächtigen Patienten isoliert, die beiden anderen aus der Mundhöhle gesunder Individuen. Ein Blick auf Abbildung 7 wird einen Begriff von dem Aussehen der dabei erhaltenen Kapseln geben. Die Stäbchen sind von sehr weiten, sich tief färbenden schleimigen Hüllen umgeben, deren Durchmesser den der Bacillenleiber um ein vielfaches übertrifft. Auf dem Präparat, von welchem das Mikrophotogramm genommen worden war, waren die Außenschichten der Kapseln stark gefärbt und ließen einen klaren Bezirk um die Bacillen frei. Solche Bilder erhält man nicht immer. Manchmal färbt sich auch der klare Bezirk, wenn auch in der Regel nicht so stark wie die Außenteile. Es sind auch noch feinere Details in der Morphologie zu sehen, so die dürftige Färbung der Stäbchenenden, ein Charakteristikum, das oft bei dieser Bacillengruppe angetroffen wird. In Photogramm No. 8 war eine mit einem großen noch nicht identifizierten Fäulniserreger vermischte Kultur des *Bacillus mucosus capsulatus* gefärbt worden, um das Fehlen jeglicher Kapsel bei ersterem zu demonstrieren. Die schleimige Natur der Hüllen und ihre Neigung, zu diffundieren, kommt zum Ausdruck.

Daß die außerordentliche Größe des Bacillus und seiner Kapsel keine wesentliche Eigenschaft dieser drei Bacillen bildet, geht aus den augenscheinlichen Verschiedenheiten hervor, die sie unter anderen Kulturbedingungen erleiden. So wurden auf den verschiedenen Nährböden große Abweichungen hinsichtlich der Größe beobachtet. In Bouillon und Glukosebouillon zeigte oft die nach 3 Tagen gebildete Oberflächenschicht etwas kleinere Stäbchen, mit nur schlecht gefärbten und nur schwach abgegrenzten Kapseln. Feste, ungünstige Nährböden lieferten kleinere Formen die den auf einem anderen Photogramm (Abbildung 9) zur Darstellung gebrachten ähnlich sind.

Wenn auch in der Regel bei der Untersuchung verschiedener Stämme Kapseln gefunden wurden, war doch manchmal das Resultat ein negatives. Ich werde später noch darauf zurückkommen. Die gewöhnlich angetroffenen Typen waren kleiner wie die oben beschriebenen, die äußeren Begrenzungslinien der Kapseln waren schmal und scharf ausgesprochen und am besten entwickelt in den gewöhnlichen festen Nährsubstraten. Sehr kleine Typen wurden öfters in Loefflerschen Kulturen gefunden, die direkt der menschlichen Mundhöhle entnommen worden waren. Ein derartiges Präparat ist in Abbildung No. 9 zur Darstellung gebracht worden.

Eine kleine Zahl von Bacillen, die vom Kulturstandpunkte aus zu den schleimigen Kapselbacillen gezählt werden müßten, zeigte keine Spur einer Kapsel. Ob dies irgend einem autolytischen Prozeß zuzuschreiben ist, ob die Bacillen nur eine schleimige, gallertartige, amorphe Substanz erzeugten, oder ob ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften das Ausstreichen in Serum nicht vertrugen, wage ich nicht zu entscheiden. Solche Vorkommnisse sind jedoch selten.

Es scheint, daß all die gebräuchlichen Nährböden, auf denen gute Kulturen erzielt werden können, günstig für die Entwicklung einer wohlbegrenzten Kapsel sind. Kulturen auf festen Nährböden untersucht man am besten nach 24 Stunden. Bei Bouillon ist es jedoch öfters von Vorteil, für diesen Zweck etwas von der Oberflächenschicht zu entnehmen. Letztere bildet sich jedoch nicht bei allen Kulturen, und wenn sie vorkommt, benötigt es einiger Tage zu ihrer Bildung.

Manchmal machte ich die Beobachtung, daß einzelne Kolonien auf Plattenreinkulturen besser zum Färben geeignet waren, als die obersten Wachstumsschichten auf Agar. Also auch hier begegnen wir ab und zu Ausnahmen. Ein Bacillus der Friedländerschen Gruppe, der einem Wurmfortsatz entnommen und auf Glukoseagar ausgesät worden war, wurde auf Anwesenheit von Kapseln untersucht. Es wurde regelmäßig gefunden, daß die Stäbchen der Oberflächenkolonien entweder ohne Kapsel waren oder deren doch nur sehr vereinzelte aufwiesen, während die tieferen Kolonien vollständig aus kleinen einzelnen oder doppelten Kapselformen bestanden.

Wenn die Kulturen auf schräg erstarrtem Agar alt werden, treten offenbar Veränderungen auf, die einen schädigenden Einfluß auf die Kapseln ausüben. Es dürfte den Anschein haben, als ob die Unmöglichkeit, wohlbegrenzte Hüllen in Kulturen nachzuweisen, deren makroskopisch schleimiges Aussehen die Anwesenheit von Kapseln mit Sicherheit hätte erwarten lassen, dem Umstande zuzuschreiben ist, daß entweder eine Verschmelzung der schleimigen Hülle in eine gallertartige Masse, oder daß eine Ueberproduktion dieser Substanz ohne Entwicklung deutlicher Kapselmembranen stattgefunden hat.

Kulturen, die auf künstlichen Nährböden monatelang oder sogar länger als ein Jahr am Leben erhalten wurden, zeigen regelmäßig das Vorhandensein von Kapseln. 7 derartige Kulturen erhielten wir durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. Bernstein aus diesem Laboratorium. Die meisten dieser Bacillen besaßen eine kleine membranöse Kapsel, von welcher einige sogar in größere Formen unter gewissen günstigen Bedingungen umgezüchtet werden konnten.

Mit Bezug auf die Technik ist zu sagen, daß manchmal vieles Manipulieren die Kapselbegrenzung nicht zerstört. Dies galt besonders für die Friedländerschen Bacillen, die in gemischten Kulturen aus Mundsekret in Loefflerschen Blutserumröhrchen gezüchtet waren. Manchmal wiederum müssen jedoch die Bacillen sehr sorgfältig ausgestrichen werden, wobei mehr auf die Erhaltung der Kapseln als auf die Herstellung gleichmäßig verteilter Felder Rücksicht genommen werden muß.

Die Anwendung der Gramschen Methode in Verbindung mit der Kapselfärbung ist von Wichtigkeit für die Unterscheidung der kleinen diplokokkenähnlichen Formen mit membranösen Hüllen von Pneumokokken in gemischten Kulturen. Ich war oft im stande, die Anwesenheit beider Organismen in einem einzigen Ausstrich, der von Rachenkulturen genommen war, zu konstatieren. Zur Erzielung einer sicher zufriedenstellenden Färbung der Kapseln sollte die starke Fuchsinachfärbung für eine Minute oder länger angewandt werden, dann Auswaschen des Präparates in Wasser und Untersuchen in dieser Flüssigkeit. Der klare Bezirk zwischen dem Leib des roten Friedländerschen Bacillus und seiner Hülle macht das Erkennen der Kapsel leicht. Der Leib des Pneumococcus ist Gram-positiv und seine Kapsel nimmt die Nachfärbung an.



Meine Zeit erlaubte mir nicht, der Frage nach dem Vorhandensein von Kapseln bei dem *Bacterium lactis aërogenes* (Escherich) näherzutreten. Ob zwischen diesem und der obigen Gruppe morphologische Verschiedenheiten bestehen oder nicht, verdient besonders untersucht zu werden.

#### Bakterien verschiedener Art.

Ich möchte einige Bemerkungen über die Morphologie der folgenden Bakterien und ihre Untersuchung mit dem Kapselverfahren machen: *Bacillus aërogenes capsulatus* (Welch, E. Fränkel), *B. anthracis*, *diphtheriae*, *typhi*, *coli communis*, *Staphylococcus albus*, *aureus*, *Micrococcus tetragenus*, *Gonococcus*, *Meningococcus*, *Micrococcus catarrhalis*, *Sarcina* und eine Reihe noch nicht identifizierter Bakterien.

Der *Bacillus aërogenes capsulatus* Welch wurde im Jahre 1891 von Welch reingezüchtet. Der Organismus ist wahrscheinlich identisch mit dem von E. Fränkel im Jahre 1893 beschriebenen und als „*Bacillus phlegmones emphysematosae*“ bezeichneten. Es machte einige Schwierigkeiten, bei diesem *Bacillus* eine Kapsel nachzuweisen. Für das Studium der Kapseleigenschaften erhielt ich diese Bakterien von einigen Autopsiefällen. Wenn man emphysematöses Gewebe mit Serum mischt und auf ein Deckgläschen austreibt, kann man durch die früher beschriebene Methode regelmäßig eine Kapselfärbung erzielen. Am besten jedoch benutzt man Anilinwasser-Gentianaviolett von doppelter Stärke (ca. 10-proz.), um eine genügend tiefe Färbung zu bekommen. Ist die Kapsel sichtbar, so erscheint sie als ein scharf begrenzter Streifen, der den *Bacillus* einschließt und durch einen fast klaren, schmalen Bezirk von ihm getrennt ist. Man soll nicht versuchen, ein ganz klares Feld zu bekommen, da die Gegenwart einer beträchtlichen Quantität Serum die Auflösung der Kapsel verhindert. Eine erschöpfende Untersuchung der Morphologie in verschiedenen Substraten wurde nicht vorgenommen. Bei der anaërobischen Züchtung in Milchröhrchen macht die Gegenwart des Gerinnsels und des dünnen wässrigen Fluidums die Herstellung der Präparate leichter wie bei den Pneumo- und Streptokokken. Ueppige Kulturen können auf folgende Weise behandelt werden. Man mischt einige Oesen voll der wässrigen Flüssigkeit mit ein paar Tropfen unverdünnten oder vielmehr dicken Serums auf einem Objektträger und überträgt hiervon eine genügende Quantität auf ein Deckglas und streicht dieselbe darauf aus; dann läßt man trocknen und färbt in der üblichen Weise (Fixieren etc.). Feine lineäre Kapseln konnten auch auf Serumglukoseagar und Glukoseagar beobachtet werden.

Der *Bacillus anthracis*<sup>1)</sup>. Serafini (18) lenkte zuerst die Aufmerksamkeit auf das Vorhandensein von Kapseln bei diesem *Bacillus*. Er fand dieselben nur in Körperflüssigkeiten infizierter Tiere. Die Frage, ob die Kapsel unter allen Umständen ein integrierender Bestandteil des *Bacillus* ist, oder ob dieselbe nur infolge des Einflusses der serösen Körperflüssigkeiten entsteht, ist immer noch strittig. In einigen Fällen wurden die Kapseln von John e, Haase u. a. in Kulturen nachgewiesen.

Wenn die *Bacillen* auf Agar (in weniger als 48 Stunden alten Kulturen) gezüchtet werden, kann das Vorhandensein einer deutlichen Kapsel oft nachgewiesen werden. Die Kapseln nehmen die Form von scharfen,

1) Erhalten durch die Freundlichkeit von Dr. Elser, New York.

geraden Linien, die von den Stäbchen durch einen klaren Zwischenraum getrennt sind, so daß es aussieht, als ob die Segmente selbst in einer membranösen Kapsel eingeschlossen wären. Auch hier wiederum ist unverdünntes Serum vorzuziehen und verdirbt zu vieles Manipulieren das Bild. In Dextrose enthaltendem Serumagar geht die Sporenbildung rascher vor sich und gelingt der Kapselnachweis gewöhnlich nicht. Doch scheinen die Agarpräparate wenig Zweifel über die Echtheit der Außenkapsel aufkommen zu lassen.

Lineäre Kapseln wurden noch bei einer Reihe von anderen Organismen beobachtet. *Sarcina lutea*, die auf Serumnährsubstraten gewachsen ist, zeigt hier und da deutliche Hüllen. Der *Micrococcus tetragenus* besitzt oft eine Kapsel in Loefflers Substrat, regelmäßig im Sputum und in tierischen Exsudaten. Die meisten der untersuchten Kulturen besaßen deutlich abgegrenzte, doch ziemlich enge Kapseln in Loefflers Serum<sup>1)</sup>. Es wurde eine Anzahl unidentifizierter Bacillen angetroffen, deren Kapseln denen des *B. anthracis* glichen. In Rinder-serum aus den Schlachthäusern wird oft ein eingekapselter *Diplococcobacillus* gefunden. Seine Elemente sind charakteristisch quadratisch mit einer Umhüllungsmembran, die dem Leib sehr eng anliegt. Er darf (bei der Verwendung eines derartigen unreinen Serums) nicht mit einem *Pneumococcus* oder Friedländerschen *Bacillus* verwechselt werden. Wenn man ihn einmal gesehen hat, ist er stets leicht zu erkennen. Nichts Kapselartiges konnte bei folgenden Organismen entdeckt werden: *Micrococcus catarrhalis*, *Gonococcus*, *Staphylococcus*, *Meningococcus*, *Bacillus diphtheriae*, *tetani* und *Bacterium coli commune*.

Die morphologische Unterscheidung der Pneumokokken und Streptokokken; der relative Wert der physiologischen, biologischen und anderer Methoden.

Trotz der Anwendung der neueren bakteriologischen Methoden, neuer Nährböden, der Gärung, Agglutination und anderer Differentialproben bereitet das Problem der Trennung der Streptokokken und Pneumokokken in deutlich gesonderte Klassen zur Zeit noch die größten Schwierigkeiten.

Wir wollen einige charakteristische Unterscheidungsmerkmale im Kulturverfahren betrachten, die oft hervorgehoben wurden. Das makroskopische Aussehen dieser Organismen in verschiedenen Nährböden ist so bedeutenden Veränderungen unterworfen, daß dasselbe höchstens als Hilfsmittel bei der Differenzierung in Frage kommen kann. Wir wissen, daß im allgemeinen die Kolonien des *Pneumococcus* mehr wässrig als die des *Streptococcus* sind. Dies mag wohl für einige Nährböden Geltung haben, allein bei den günstigeren Substraten wie Serumagar ist das Oberflächenaussehen beider oft identisch. Der Umstand, daß der *Pneumococcus* auf Gelatine bei niedriger Temperatur (22° C) kein Wachstum zeigt, kann ebenfalls nur wenig benutzt werden.

Man hat in den letzten Jahren nach Unterscheidungsmerkmalen hinsichtlich der Lebensvorgänge der Bakterien gesucht in der Hoffnung, in dieser Weise das Problem lösen zu können. Ich will hier hauptsäch-

1) Während ich dies niederschreibe, habe ich gerade eine etwas ungewöhnliche Form des *Micrococcus tetragenus* reingezüchtet. Seine Kapseln sind sehr groß und von schleimiger Natur. Oft fließen die Kapseln mehrerer Gruppen in eine große Masse schleimbildender Substanz zusammen, die 3, 4 oder mehr Tetraden einschließt.

lich zwei Methoden besprechen. Die erste derselben — obwohl nie als Methode veröffentlicht — beruht auf einer Beobachtung, die Libman (l. c.) in seiner Arbeit über die Niederschläge in Serums substraten mitgeteilt hat. Die zweite wurde von Hiss (l. c.) bei der 3. Zusammenkunft der Society of American Bacteriologists angegeben.

### 1. Der Niederschlag in Serums substraten.

Verschiedenheiten in den Lebensvorgängen der verschiedenen Bakterien kommen zum Vorschein, wenn sie auf Serumglukosesubstraten gewachsen sind. Im Jahre 1901 beschrieb Libman die charakteristische „Weißfärbung“ oder „Trübung“, die durch gewisse Bakterien hervorgerufen wird, wenn man sie auf festen Nährböden züchtet, welche bestimmte Zuckerarten enthalten (l. c.). Er machte die Beobachtung, daß die Streptokokken regelmäßig, die Pneumokokken nur ausnahmsweise diese Veränderungen in Nährböden hervorrufen.

Wenn ich auch das Wachstum der großen Menge von Streptokokken und Pneumokokken auf diesen Nährböden nicht systematisch untersucht habe, so habe ich doch von Zeit zu Zeit sehr viele Beobachtungen über ca. 75 verschiedene Stämme der ersten und 60 der zweiten Art gemacht, so daß ich im stande bin, einige bestimmte Schlüsse zu ziehen.

Das Substrat, das ich schon erwähnt habe, besteht aus 2-proz. Glukoseagar, dem ca. ein Drittel seines Volumens genügend reichen, keimfreien Ascitesserum zugesetzt wurde. In Wirklichkeit haben alle meine Streptokokken innerhalb 24—48 Stunden einen Niederschlag hervorgerufen. Nur einige wenige Kulturen mit armseligem Wachstum brachten keine wahrnehmbare Veränderung ihres Nährbodens zu stande. Die Pneumokokken verhielten sich gerade entgegengesetzt. Nur 3 der erwähnten 60 bewirkten einen Niederschlag und auch davon 2 erst nach 48 Stunden.

Damals schrieb Libman diesen Vorgang hauptsächlich der Säureproduktion durch die gärunsfähigen Kohlehydrate zu. Neuerdings sind sowohl Libman wie ich selbst unabhängig voneinander zu der Ansicht gekommen, daß vielleicht die Bildung gewisser Fermente bei der Säureproduktion eine Rolle spielt. So habe ich gefunden, daß nicht nur die Pneumokokken, sondern auch die Gruppe der schleimigen Streptokokken<sup>1)</sup> keine Weißfärbung<sup>2)</sup> des Nährbodens bewirken, obwohl in vielen Proben reichliche Säureproduktion durch Glukose nachgewiesen werden konnte. In günstigen, Glukose enthaltenden Nährsubstraten produzieren alle drei Organismen, Pneumokokken, Streptokokken und der *Streptococcus mucosus capsulatus*, reichlich Säure<sup>3)</sup>.

1) Wenn ich in dieser Arbeit von „schleimigen Streptokokken“ spreche, verstehe ich darunter nur die als *Streptococcus mucosus capsulatus* beschriebene Gruppe.

2) Die Bezeichnungen „Niederschlag“ und „Weißfärbung“ werden wechselseitig gebraucht.

3) Es ist mir kürzlich gelungen, einen geringen Niederschlag bei dem *Streptococcus mucosus capsulatus* und *Pneumococcus* hervorzurufen, indem ich eine 24-stündige Kultur der Organismen auf schräg beschicktem Glukoseserum-Agar mit Glukoseserum-Bouillon überschichtet habe. Dieses ist wahrscheinlich hervorgerufen dadurch, daß die Säureproduktion in der Bouillon infolge üppigen Wachstums der Bakterien eine beträchtliche ist und auch längeres Verweilen in dem festen Glukoseserum-Agar eine Trübung verursachen kann. Diese Trübung ist jedoch sehr gering und tritt erst nach 2—3 Tagen auf.

## 2. Das Inulin-Nährsubstrat zur Unterscheidung des Pneumococcus und Streptococcus.

Hiss fand, daß in einem flüssigen Nährboden, der aus einem Teil Rinderserum, 2 Teilen Wasser und 1 Proz. Inulin besteht, die Gerinnung und Säurebildung für den Pneumococcus charakteristisch sind, d. h. alle Pneumokokken waren im stande, das Inulin unter Säurebildung zu spalten. Streptokokken dagegen besaßen diese Eigenschaft nicht. Ein derartiges Nährsubstrat sieht er daher als zuverlässiges Mittel zur Unterscheidung der beiden Organismen an.

Während der Sommermonate 1904 beschäftigte ich mich mit dem Studium der fermentierenden Eigenschaften gewisser pathogener und saprophytischer Streptokokken in der Hoffnung, die Kulturen dieser Organismen vielleicht nach ihrem gleichen oder ungleichen Verhalten gegenüber von Kohlehydraten gruppieren zu können. Anderweitige Arbeiten, die dazwischen kamen, ließen mir nicht genügend Zeit, diese Untersuchungen zu beenden. Immerhin konnte ich ausgesprochene Verschiedenheiten bemerken. Ein aus dem Blute eines an Streptococcaemia und „maligner Endocarditis“ leidenden Patienten gezüchteter Streptococcus besaß die Fähigkeit, Inulin in einem Nährmedium zu spalten, das aus diesem Kohlehydrat und zuckerfreier Bouillon zusammengesetzt war. Als später in Inulinserumwasser untersucht wurde, wurde das gleiche Resultat erhalten. Seit dieser Zeit zeigte ein anderer Streptococcus, der ebenfalls aus dem Blute eines Falles von Streptococcaemia (im Anschluß an eine Phlebitis und Periphlebitis des Beines) gewonnen worden war, die gleiche Eigenschaft. 30 andere Stämme verschiedener Herkunft wurden untersucht, allein keiner derselben besaß die Fähigkeit, das Inulin zu spalten.

Auf der anderen Seite wurde gefunden, daß die Pneumokokken (60 Kulturen wurden untersucht) wie auch die Gruppe des als „Streptococcus mucosus capsulatus“ beschriebene Gruppe (8 Stämme) regelmäßig in diesem Nährsubstrat Säure bildeten. Daraus müssen wir schließen, daß, wenn auch wahrscheinlich alle Pneumokokken Inulin zerlegen, einige Streptokokken, sowohl der schleimigen, wie eitererregenden Gruppe, ebenfalls diese Fähigkeit besitzen.

Des besseren Verständnisses halber füge ich nachfolgendes Schema bei:

	Inulin spaltend	Niederschlag auf Serum-Glukoseagar
Streptokokken	sehr wenige	alle <sup>1)</sup>
Pneumokokken	alle	sehr wenige
Streptococcus mucosus capsulatus	„	keine

Schließlich kommt noch zur Betrachtung die Impfung auf empfängliche Tiere zu diagnostischen Zwecken. Werden virulente Pneumokokkulturen weißen Mäusen injiziert, verursachen sie raschen Tod und Einwanderung der typischen lanzettförmigen Kapselformen in das Blut. Allein diese Organismen bereiten uns keine Schwierigkeiten. Das Erkennen

1) Mit den bereits mitgeteilten Ausnahmen. Die Tabelle gibt die Resultate der Inulinproben bei 32 Streptokokken und 60 Pneumokokken. Beobachtungen des Niederschlages wurden angestellt bei 75 Streptokokken und 60 Pneumokokken. Die von septischen Fällen, Abscessen oder anderen eiterigen Prozessen beim Menschen gezüchteten Streptokokken haben stets Niederschlag hervorgerufen. Ganz wenige atypische Diplococcus- oder kurze Streptococcus-Formen, die aus der Mundhöhle gesunder Individuen gewonnen worden waren, riefen keine Weißfärbung des Nährmediums hervor. Einige derselben wurden weißen Mäusen injiziert und nicht pathogen befunden.

der Streptokokken und der degenerierten Pneumokokkenformen (welche ihre Virulenz verloren haben und daher keine Sepsis hervorrufen) ist nur durch mühsame und wiederholte Impfungen von Tier zu Tier möglich.

Teils die Abweichungen in der Charakteristik der verschiedenen Kulturen der Pneumokokken und Streptokokken, wie dieselben bereits beschrieben wurden, teils Aehnlichkeiten in der Morphologie, Kultureigenschaften, Stoffwechselfätigkeit, und Virulenz für Tiere gestalten das Problem ihrer Scheidung in bestimmte Klassen zu einem schwierigen. Die Frage nach dem gemeinsamen Ursprung dieser Organismen und nach der Berechtigung, dieselben in zwei bestimmte Klassen einzuteilen, wage ich nicht zu beantworten. Für praktische Zwecke jedoch erscheint es immer noch zweckmäßig, diese Organismen gesondert zu gruppieren. Die Schwierigkeit scheint in der Beurteilung zu liegen, wie weit noch die Verschiedenheiten in der Kultur und in den chemisch-physiologischen Eigenschaften innerhalb der Grenzen einer Abart ein und derselben Species liegen. So will Kruse (19) nahe Verwandtschaft gelten lassen zwischen den Milchsäure bildenden Streptokokken und den Pneumokokken wegen ihrer in folgendem Satze angeführten Aehnlichkeiten: „Seine Gestalt, seine Neigung zur Kettenbildung, seine färberischen Eigenschaften (Gram), sein Verhalten zu den Nährböden, auch zur Milch sind im wesentlichen die gleichen.“ Durch Untersuchungen einer Reihe von Stämmen des „Streptococcus lacticus“ bin ich zu der Ansicht gekommen, daß dieselben trotz der Häufigkeit der lanzettförmigen Diplokokkenformen eher den Streptokokken zuzuzählen sind. Das Fehlen von Kapseln unter den günstigsten Bedingungen und zwar bei allen Kulturen, der Niederschlag im Serum und das Unvermögen, in Inulin Säure zu produzieren, scheint diese Ansicht zu stützen.

Welche der verschiedenen bekannten Eigenschaften, morphologische, kulturelle oder sonstige, sollten uns nun bei der Gruppierung dieser Organismen leiten? Wenn der Pneumococcus die typische Kapselform besitzt, ist sein Erkennen durch die Morphologie allein ein leichtes. Es sind dann diejenigen Kulturen, die entweder in Körperexsudaten oder in Nährmedien ihre Kapseln verlieren oder den Streptokokkentypus annehmen, denen wir unsere Aufmerksamkeit schenken müssen.

Die Kapseldiplokokkenform des Pneumococcus ist als die vollständig entwickelte und typische Form des Organismus zu betrachten. Sie findet sich unter Bedingungen, die dem Wachstum am günstigsten sind. Man findet sie in Exsudaten und im Blute infizierter Tiere und bis zu einem gewissen Grade auf bestimmten Kulturböden. Das gleiche gilt für den Streptococcus mucosus capsulatus, dessen Morphologie einigermaßen abweichend ist, besonders auch hinsichtlich der Neigung zur Kettenbildung. Beide Organismen verhalten sich bis zu einem gewissen Grade gleich hinsichtlich der Veränderungen, welche sie bei Ueberzüchtung in den Nährmedien eingehen. Das Verschwinden der Kapseln und das Annehmen des Kettentypus ist dem Pneumococcus eigen, die Neigung zu Ketten mit Kapseldegeneration dem schleimigen Streptococcus. Wir haben daher diese atypischen Formen als Degenerationszeichen zu betrachten, als labile Kennzeichen, die sehr oft wieder den ursprünglichen Typus annehmen, sobald geeignete Bedingungen geschaffen werden, entweder im Tierkörper oder in günstigen Kulturmedien.

Lassen sich in Exsudaten (gewöhnlich menschlichen) die Kapselorganismen wegen ihrer besonderen chemischen und physikalischen Eigenschaften nicht zur Anschauung bringen, so kann in der Praxis und bei

Routineuntersuchungen die Diagnose in der Regel innerhalb von 24 Stunden durch Identifizierung der Kapselformen in den bereits erwähnten Kulturmedien gestellt werden. Ich habe dies wiederholt beobachtet bei sehr zähem und schleimigem Sputum und bei Eiter. Die seltenen Fälle, in welchen der Pneumococcus wie in dem bereits aufgeführten Peritonitistfälle in der Form von nicht eingekapselten kurzen Ketten erscheint, sind sehr schwer zu behandeln. In einem Falle konnte man sehen, daß der Pneumococcus seine Kapselform bei den allerersten Umcüchtungen auf festen Serumnährböden annahm. Ist dies nicht der Fall, dann haben wir es offenbar entweder mit einem degenerierten Pneumococcus zu tun, der auf dem betreffenden Nährboden seinen Ursprungstypus nicht wieder annimmt, oder mit einem Streptococcus. In derartigen Fällen müssen wir zu den Gärungs- und Kulturproben unsere Zuflucht nehmen. Mit Berücksichtigung der Tatsache, daß alle Pneumokokken (so weit wir wissen) in Inulinmedien Säure produzieren, finden wir in diesen, wenn auch keine spezifischen, doch sehr wertvolle Hilfsmittel in der Diagnose. Wird keine Säure produziert, haben wir es mit aller Wahrscheinlichkeit mit einem Streptococcus zu tun. Andererseits kann ein Organismus, der Fermentation bewirkt, eines von beiden sein. Für diesen Fall ist der Gebrauch des Glukoseserumagars zu empfehlen. Das Fehlen jeder Spur eines Niederschlages spricht für Pneumococcus.

Das nachstehende Schema bringt die Hauptunterscheidungsmerkmale der häufigeren Typen der drei Organismen Streptokokken, Pneumokokken und Streptococcus mucosus capsulatus zur Anschauung:

Form		Kapseln	Inulin	Säure	Serum-Glukose-agar	Weißfärbung
Streptokokken	nicht eingekapselt	—	(die meisten	—	die meisten	+
	eingekapselt	Streptokokkentypus <sup>1)</sup>	wenige	+	wenige?	—
Pneumokokken	typische	typische	alle <sup>2)</sup>	+	die meisten	—
	Streptokokkenform	keine Streptokokkentypus			(sehr) wenige	+
Streptoc. mucosus capsulat.	typische Form	schleimige	alle	+	alle	—
	degenerierter Kettentypus	Streptokokkentypus				

Ich will nicht länger bei der Tierimpfung verweilen und auch nicht ausführlich die Unterscheidungsmerkmale zwischen den Pneumokokken und schleimigen Streptokokken besprechen. Daß der letztere eine von der ersteren verschiedene Species darstellt, geht in mannigfacher Beziehung aus seiner Morphologie und Art des Wachstums hervor. Am meisten charakteristisch für den Streptococcus mucosus capsulatus ist vielleicht seine eigentümliche Morphologie in tierischen Exsudaten und auf Nährböden, die Dauerhaftigkeit seiner Kapseln, das profuse charakteristische Wachstum auf festen Serummedien, seine Virulenz

1) Unter Streptokokkentypus der Kapsel möchte ich das verstanden wissen, was als Charakteristikum für die nicht zum schleimigen Typus der Kapselstreptokokken (i. e. Streptococcus mucosus capsulatus) gehörenden beschrieben wurde.

2) Weiteres über den Wert des Inulins wird in einer späteren Arbeit besprochen werden.

für gewisse Tiere, sein Unvermögen, einen Niederschlag hervorzurufen in Serumagar bei Gegenwart von Glukose, und seine Fähigkeit, Inulin zu spalten. Eine weitere Besprechung dieser sehr interessanten Organismen soll einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben.

Zum Schlusse möchte ich noch die Wichtigkeit der Natur des Nährmediums betonen, das zur Züchtung der Strepto- und Pneumokokken verwendet wird. Nach dem Gesagten ist es klar, daß der Nachweis der typischen Pneumokokkenformen in Kulturen die zuverlässigste Identifizierungsmethode ist. Wenn auch die Streptokokken Kapseln besitzen können, die den degenerierten Kapselformen des Pneumococcus ähnlich sind, so haben wir bei unseren Untersuchungen doch keine Formen angetroffen, deren Kapseln das dem Pneumococcus eigentümliche Aussehen haben. Nährmedien wie das Loefflersche und spezielle Serumarten (Ascites oder Hydrocele) sowie Glukoseserumagar liefern uns einen trefflichen Nährstoff für die Hervorbringung dieser typischen Form und lassen auch die Veränderungen (Niederschlag) zu, welche manchmal bedeutsam sind. Allem Anschein nach ist noch sehr viel von verbesserten Nährböden zu erwarten, auf welchen vielleicht noch die beständigsten streptokokkenähnlichen Formen des Pneumococcus in ihre typische Gestalt verwandelt werden können. Ein Ueberblick über das, was über die Kultureigenschaften dieser Organismen gesagt wurde, macht es klar, daß sogar die neuesten Methoden im besten Falle nur Hilfsmittel in der Diagnose sind, und daß wir zur Zeit zufrieden sein müssen, mit dem, was wir von einer richtigen Beurteilung der morphologischen, kulturellen und anderen Kennzeichen dieser Organismen lernen können.

Den Mitgliedern des Aertzestabes des Mount Sinai-Hospitals möchte ich meinen Dank aussprechen für die Freundlichkeit, mit welcher dieselben mir einen großen Teil des Materials zur Verfügung stellten, ebenso den Hausärzten und ganz besonders Dr. A. E. Cohn und Dr. J. Hertz.

Herrn Dr. F. S. Mandlebaum fühle ich mich sehr verpflichtet für Anfertigung der meiner Arbeit beigegebenen Photogramme.

#### Literatur.

- 1) Hiss, Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXI. p. 302.
- 2) Séé, G., Des maladies spécifiques du poulmon. Paris. (Ref. Fortschr. d. Med. 1885. No. 3. p. 91.)
- 3) Guarnieri, G., Studi sulla etiologia della polmonite. (Atti della R. Accad. med. di Roma. Vol. IV. Serie 2. 1888.)
- 4) Ortman, P., Beitrag zur Aetiologie der akuten Cerebrospinalmeningitis. (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak. Bd. XXIV. 1888.)
- 5) Schmidt, Adolf, Ueber die Benutzung verschiedener Sputanährböden und das Wachstum der Pneumokokken auf denselben. (Centralbl. f. klin. Med. Bd. XIV. 1893. No. 30. p. 625.)
- 6) Welch, Bull. of the Johns Hopkins Hospital. 1892. p. 125. Dec.
- 7) Libman, Growth of bacteria. (Journ. of med. research. N. S. Vol. I. 1901. p. 84.)
- 8) Hlava, Leuconotsoc hominis und seine Rolle bei den akuten exanthematischen Krankheiten (Scharlach, Masern, Flecktyphus). (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. 1902. p. 263.)
- 9) Binaghi, Ueber einen Streptococcus capsulatus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. p. 273.)
- 10) Howard and Perkins, Journ. of med. research. N. S. Vol. I. 1901. p. 163.
- 11) Bonome, Zieglers Beitr. Bd. VIII. 1890. p. 377.
- 12) Seitz, Joh., Streptococcus aggregatus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XX. 1896. p. 854.)
- 13) Kurth, Bakteriologische Untersuchungen bei Maul- und Klauenseuche. (Arb. a. d. kais. Ges.-A. Bd. VIII. 1895. p. 439.)

- 14) Besser, Streptococcus pseudopyogenes. (Beitr. z. pathol. Anat. Jahrg. III. Bd. VI. p. 357.)
- 15) Abel, R., Handb. d. pathogenen Mikroorganismen (Kolle u. Wassermann). Bd. III. p. 873.
- 16) Welch and Nuttall, A gas producing bacillus (*B. aërogenes capsulatus*) etc. (Bull. Johns Hopkins Hospital. Vol. III. 1892. p. 81.)
- 17) Fraenkel, E., Ueber die Aetiologie der Gaspneumone (Phlegmone emphysematosa). (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII. 1893. p. 13.)
- 18) Serafini, Ref. in Baumgartens Jahresber. Bd. IV. 1888. p. 102.
- 19) Kruse, Das Verhältnis der Milchsäurebakterien zum Streptococcus lanceolatus (*Pneumococcus*, *Enterococcus* etc.). (Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXIV. No. 8.)
- 20) Longcope, Journ. of med. research. Vol. VII. 1902. p. 228.

#### Erläuterung der Photographie.

Fig. 1. Pneumococcus; Kultur auf Serumagar; 1:1500. Typische Kapseln, einzelne Kokken, Diplokokkenformen und eine kurze Kette ist zu sehen; ferner einige leere und degenerierte Kapseln.

Fig. 2. Gemischte Kultur aus dem Rachen; Loefflers Medium; 1:1500. Kurzer Streptococcus und Pneumokokken. 2 kurze Ketten, 2 lanzettförmige Diplokokken und 2 biskuitförmige Diplokokkenformen. Die obere Kette auf dem Photographie ist typisch, die untere Kette ist von einer Kapsel eingeschlossen, deren Enden leer sind und auf deren rechten Seite eine kleine Form mit der Seite der Kette verschmilzt.

Fig. 3. Alter (14-tägiger) Empyemiter; 1:1500. Unten 2 Eiterzellen; die linke enthält einen degenerierten Pneumococcus. 4 atypische Kapselpneumokokken nehmen ungefähr die Mitte des Gesichtsfeldes ein. Ganz links befindet sich eine leere Kapsel. Oben ist eine degenerierte Pneumokokkenkette mit einer Kapsel zu sehen, wie sie gewöhnlich bei Streptokokken gefunden wird.

Fig. 4. Streptococcus mucosus capsulatus; Serum-Agarkultur; 1:1500. Zwei kurze Ketten sind von den charakteristischen Schleimkapseln umgeben. Daneben finden sich biskuitförmige Diplokokkenformen mit schwach gefärbten, zarten Kapseln.

Fig. 5. Streptococcus mucosus capsulatus; Serum-Agarkultur; 1:1500. Diplococcus- und kurze Kettenformen; die schleimige Natur der Hüllen ist dargestellt.

Fig. 6. Pneumococcus; Serum-Agarkultur; 1:1500. Stäbchenförmige, in die Länge gezogene Form.

Fig. 7. Bacillus mucosus capsulatus; Agarkultur; 1:1500. Kokkenförmiger, kokkenstäbchenförmiger Bacillus und Diplobacillenformen. Man sieht die schwach gefärbten Enden der Bacillen.

Fig. 8. Gemischte Kultur des Bacillus mucosus capsulatus und großer unbekannter Fäulnisbacillus. Der schleimige Charakter der Kapseln und ihre Neigung zum Zerfall kommen zum Ausdruck.

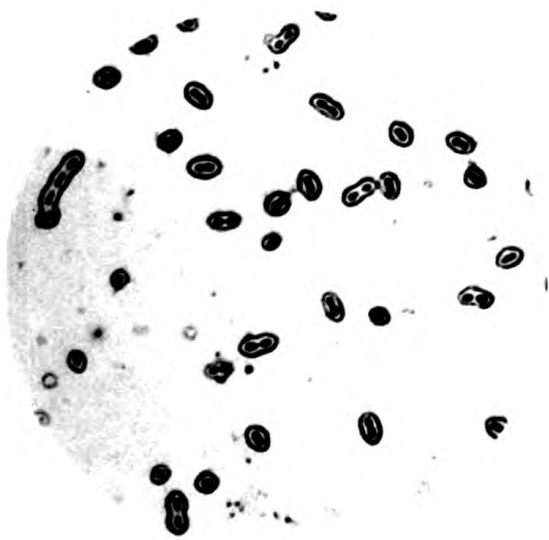
Fig. 9. Bacillus mucosus capsulatus (Friedländer) aus der Mundhöhle; Kultur auf Loefflerschem Medium; 1:1500. Viel kleinere Formen wie auf den Fig. 7 und 8.

#### Inhalt.

- |   |  |
|---|--|
| <p><b>Bahr, L.</b>, Ueber die zur Vertilgung von Ratten und Mäusen benutzten Bakterien, p. 263.</p> <p><b>Bertarelli, E.</b>, Ueber aktive und passive Immunisation der Neugeborenen und Säuglinge auf dem Wege der Verdauungsorgane, p. 285.</p> <p><b>Bosc, F. J.</b>, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). III. (Forts.), p. 247.</p> <p><b>Burger, Leo</b>, Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien; zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen. (Schluß), p. 335.</p> <p><b>De Waale, H. et Sugg, E.</b>, Sur la production d'hémolysine par le Streptocoque variolo-vaccinal, p. 325.</p> <p><b>Galli-Valerio, Bruno</b>, Notes de parasitologie et de technique parasitologique, p. 230.</p> | <p><b>Klein, Arthur</b>, Ueber Erythrocytenpräzipitin und andere Immunprodukte einzelner Bestandteile des Blutes, p. 303.</p> <p><b>Landsteiner, Karl u. v. Eisler, Michael</b>, Ueber Agglutinin- und Lysinwirkung, p. 309.</p> <p><b>Looss</b>, Schistosomum japonicum Katsurada, eine neue asiatische Bilharzia des Menschen, p. 280.</p> <p><b>Löwit, M.</b>, Der Nachweis sichelförmiger Gebilde im myelämischen Blute bei Giemsa-Färbung, p. 274.</p> <p><b>Mankowski, A. F.</b>, Zur Frage von den Mitteln zur Vertilgung der Mücken, als Verbreiter der Malariainfektion, p. 277.</p> <p><b>Porges, Otto</b>, Zur Kenntnis der agglutinierenden Immunsere, p. 319.</p> <p><b>Reitmann, Karl</b>, Zur Kenntnis der Saccharomycosis hominis, p. 225.</p> |
|---|--|

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

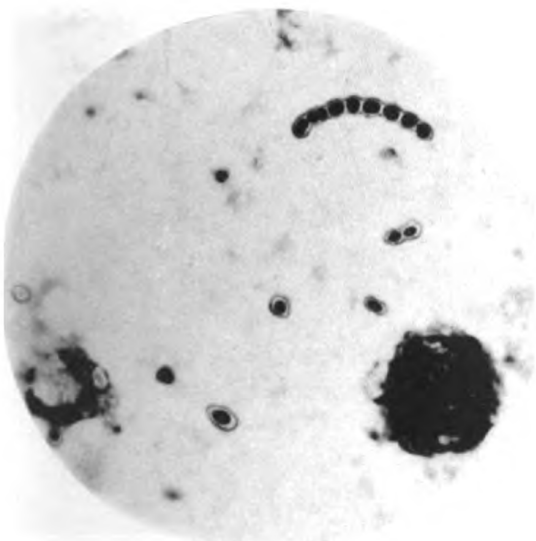




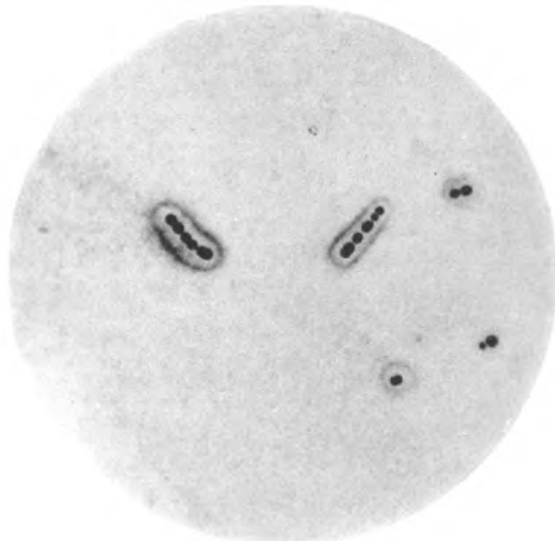
1



2



3



4



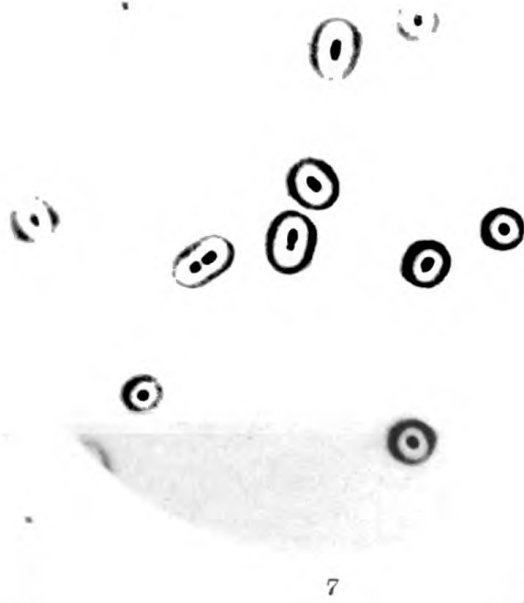


5

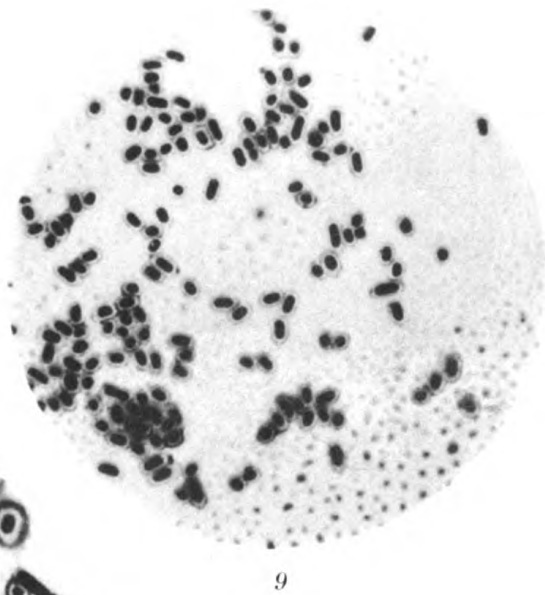


6

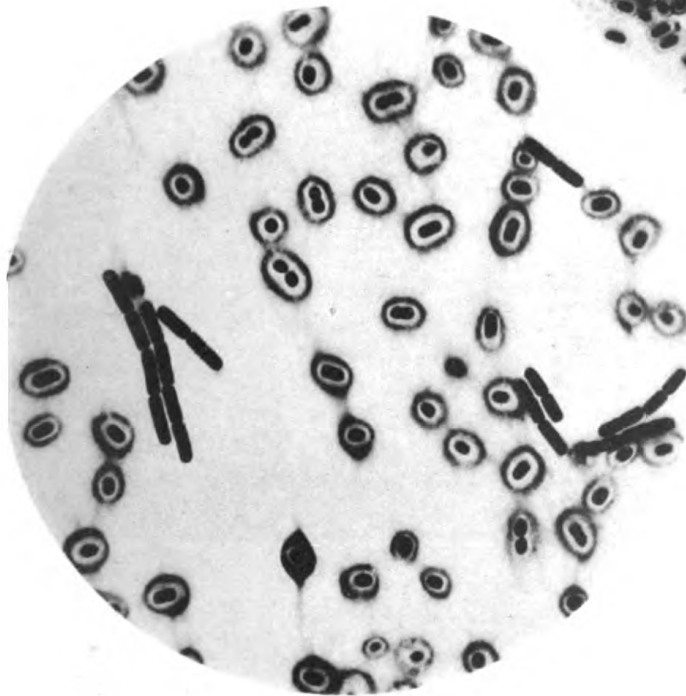




7



9



8



Sur les ferments protéolytiques des microbes  
et une méthode d'évaluation quantitative de la liquéfaction  
de la gélatine.

Par Dr. H. De Waele et Dr. A. J. J. Vandeveldé (Gaud).

On a reconnu dans les cultures de nombreuses espèces bactériennes l'existence de ferments protéolytiques. En général les expériences ont été faites avec les filtrats de cultures dans le but d'étudier la nature de ces enzymes ainsi que leur résistance aux agents physiques et chimiques.

A la suite de nos recherches sur la production de lait cru stérile<sup>1)</sup> nous avons été amenés à étudier l'action de divers ferments protéolytiques, et dans le cas particulier des ferments protéolytiques des microbes, leur action comparée sur le lait cru, le lait bouilli et la gélatine.

Nous avons, dans nos expériences, utilisé les microbes suivants: 1) *Bacillus pyocyaneus*; 2) *Bacillus anthracis* P; 3) *Bacillus megatherium*; 4) et 5) *Vibrio cholerae asiaticae*, souche Nazik P et Pfeiffer V; 6) et 7) *Bacillus enteritidis* (empoisonnements alimentaires), souches Günther et Moorzeele (Krål); 8) *Bacillus typhosus* V et *Bacillus coli* W.

Ces divers microorganismes furent ensemencés dans les milieux et maintenus à 37°; leur action protéolytique a été déterminée quantitativement en dosant la gélatine ou bien la caséine et l'albumine non transformées à des intervalles successifs, de la manière suivante:

1) Lait crû stérile préparé suivant le procédé décrit par nous, réparti en tubes par quantités de 30 c. c. Nous avons dosé l'albumine et la caséine ensemble par l'addition de 1 c. c. d'acide acétique à 20 V. % et chauffage à 100° C.

2) Bouillon caséiné: 1600 c. c. de bouillon sont additionnées de 400 c. c. d'une solution de caséine à 5 %, dans la soude caustique  $\frac{1}{10}$  N.

Les tubes de cultures renfermaient 50 c. c. de ce liquide filtré. Par un dosage de contrôle (précipitation par 2 c. c. d'acide acétique à 20 V. % et chauffage à 100°) nous avons constaté que la teneur en caséine s'élevait à 0,1802 g par tube.

3) Lait centrifugé, bouilli et filtré préalablement pour le débarrasser de l'albumine coagulée. Le liquide est distribué en tubes par quantités de 40 c. c. et stérilisé. Le dosage s'effectue sur la caséine non protéolysée que l'on précipite à chaud au moyen de 1 c. c. d'acide acétique à 20 V. %.

4) Bouillon gélatiné renfermant 3,5 à 4 % de gélatine. La détermination du degré de liquéfaction repose sur la donnée que les peptones, les albumoses etc., insolubles dans l'alcool absolu, sont encore solubles dans l'alcool à 70 V. %.

Cette méthode de dosage n'ayant pas encore été appliquée dans la technique bactériologique nous la décrirons avec quelques détails.

1) De Waele, Sugg et Vandeveldé, Sur l'obtention de lait cru stérile. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. XIII. 1904.) — Vandeveldé, De Waele et Sugg, Ueber proteolytische Enzyme der Milch. (Hofmeisters Beitr. Bd. V. 1904.)

### Méthode d'évaluation quantitative de la liquéfaction de la gélatine.

On verse le contenu du tube de culture dans un vase de Berlin, on le lave d'abord avec 10 c. c. d'eau chaude, puis avec 60 c. c. d'alcool à 94 % et on recueille ces liquides de lavage dans le vase de Berlin, puis on complète la précipitation dans ce récipient, par l'addition de 100 c. c. d'alcool à 94 %, en agitant constamment le liquide.

Le mélange de 40 c. c. de bouillon gélatiné, de 10 c. c. d'eau et de 140 c. c. d'alcool à 94 % donne un titre alcoolique final de 71 V. %.

On laisse reposer pendant 24 heures et on recueille ensuite, en s'aidant du vide le précipité sur une double rondelle de papier à filtrer, tarée et déposée dans un entonnoir de Büchner. On lave le filtre avec de l'alcool à 70 % et on sèche à 100° C jusqu'à poids constant.

Les résultats fournis par les analyses faites à des intervalles déterminés 2, 5, 9, 10, 15 et 20 jours sont réunis dans les tableaux qui suivent. Ils expriment le poids de la substance azotée non encore solubilisée rapportés à 100 c. c. de milieu de culture.

Pour le lait centrifugé bouilli nous avons déterminé également l'acidité du milieu (exprimée en soude caustique  $\frac{1}{10}$  N par 100 c. c. de liquide)<sup>1)</sup> et nous avons évalué les modifications de la teneur en lactose par des dosages polarimétriques, sans y insister davantage pour le moment.

#### I. *Bacillus pyocyaneus*.

Jours	0	2	5	9	10	15	20
Bouillon gélatiné	9,022	3,510	2,248	2,015	—	1,875	—
Lait cru	1,890	1,030	0,820	0,260	—	0,180	—
Bouillon caséiné	0,450	—	0,100	—	0,179 <sup>2)</sup>	0,200	0,207
Lait bouilli	{ caséine lactose acidité	3,303	—	0,925	—	1,449 <sup>2)</sup>	—
		4,567	—	2,814	—	2,412	2,284
		20,0	—	62,5	—	70,0	82,5

#### II. *Bacillus anthracis*.

Jours	0	2	5	9	10	15	20
Bouillon gélatiné	9,022	—	7,670	7,562	—	7,394	—
Lait cru	1,890	1,670	1,590	1,220	—	—	—
Bouillon caséiné	0,450	—	0,335	—	0,177	0,105	0,085
Lait bouilli	{ caséine lactose acidité	3,303	—	2,892	—	2,842	0,957
		4,567	—	3,616	—	3,543	—
		20,0	—	21,7	—	26,0	63,2

#### III. *Bacillus megatherium*.

Jours	0	2	5	9	10	15	20
Bouillon gélatiné	9,022	—	8,286	—	—	7,887	—
Lait cru	1,890	1,640	1,610	1,380	—	1,060	—
Bouillon caséiné	0,450	—	0,433	—	0,429	0,412	0,390
Lait bouilli	{ caséine lactose acidité	3,303	—	3,221	—	—	3,227
		4,567	—	3,743	—	3,743	3,450
		20,0	—	34,6	—	36,2	36,2

1) L'acidité initiale de 20,0 indiquée dans les tableaux correspond à la réaction légèrement acide, d'ailleurs habituelle, du lait employé.

2) L'augmentation de poids est due au développement abondant de la culture, ainsi qu'aux erreurs provenant de la difficulté de laver le précipité fortement mucilagineux.



IV. *Vibrio cholerae asiaticae*, Souche Nazik.

Jours	0	2	5	9	10	15	20
Bouillon gélatiné	9,022	—	8,029	6,979	—	6,048	—
Lait cru	1,890	1,620	1,470	1,290	—	—	—
Bouillon caséiné	0,450	—	0,258	—	0,095	0,036	0,042
Lait bouilli	caséine	3,303	—	3,099	—	2,922	2,383
	lactose	4,567	—	3,174	—	2,728	2,284
	acidité	20,0	—	21,5	—	31,5	32,0

V. *Vibrio cholerae asiaticae*, Souche Pfeiffer.

Jours	0	2	5	9	10	15	20
Bouillon gélatiné	9,022	6,562	5,891	4,331	—	3,175	—
Lait cru	1,890	1,600	1,470	1,260	—	—	—
Bouillon caséiné	0,450	—	0,058	—	0,068	0,070	0,069
Lait bouilli	caséine	3,303	—	3,063	—	3,070	2,803
	lactose	4,567	—	—	—	3,889	3,616
	acidité	20,0	—	55,5	—	65,7	82,5

VI. *Bacillus enteritidis*, Souche Günther (Krål).

Jours	0	2	5	9	10	15	20
Bouillon gélatiné	9,022	—	—	—	—	8,367	—
Lait cru	1,890	—	1,670	1,510	—	1,190	—
Bouillon caséiné	0,450	—	0,359	—	—	0,345	0,259
Lait bouilli	caséine	3,303	—	3,105	—	3,080	2,973
	lactose	4,567	—	3,775	—	3,680	3,775
	acidité	20,0	—	14,8 <sup>1)</sup>	—	38,0	—

VII. *Bacillus enteritidis*, Souche Moorzele (Krål).

Jours	0	2	5	9	10	15	20
Bouillon gélatiné	9,022	—	—	—	—	7,361	—
Lait cru	1,890	—	1,830	1,980	—	—	—
Bouillon caséiné	0,450	—	0,404	—	—	0,357	0,246
Lait bouilli	caséine	3,303	—	3,181	—	3,029	2,951
	lactose	4,567	—	3,743	—	3,110	3,237
	acidité	20,0	—	18,8 <sup>1)</sup>	—	23,2	—

VIII. *Bacillus typhosus* W.

Jours	0	2	5	9	10	15	20
Bouillon caséiné	0,450	—	0,442	—	0,417	0,375	0,359
Lait bouilli	caséine	3,303	—	3,301	—	3,278	3,113
	lactose	4,667	—	4,124	—	2,720	2,475
	acidité	20,0	—	21,7	—	32,5	45,0

1) La diminution de l'acidité au début de l'action de ces bactéries nous conduit à admettre qu'il se produit des substances basiques neutralisant une quantité déterminée d'acide.

IX. *Bacillus coli* W.

Jours	0	2	5	9	10	15	20
Bouillon caséiné	0,450	—	0,428	—	0,379	0,307	0,227
Lait bouilli	caséine	3,303	—	3,129	—	3,044	3,021
	lactose	4,467	—	3,743	—	3,870	3,426
	acidité	20,0	—	57,2	—	65,7	44,3

L'examen des tableaux montre que toutes les bactéries que nous avons étudiées possèdent un certain pouvoir protéolytique, mais que cette fonction montre de grandes différences dans son intensité. Chacun de ces microbes pris individuellement agit d'une façon à peu près parallèle sur les substances azotées des divers milieux au point de vue de la protéolyse. Les microbes qui liquéfient fortement la gélatine sont précisément ceux qui solubilisent énergiquement la caséine.

Ce parallélisme semble indiquer que la liquéfaction de la gélatine et la solubilisation de la caséine sont dues à un même ferment.

De plus l'activité de ce ferment protéolytique est favorisée par la réaction acide du milieu et l'intensité de la protéolyse est en rapport direct avec la formation de l'acide. Cette proportionnalité est particulièrement évidente pour les bacilles pyocyanique et charbonneux; exceptionnellement l'augmentation de l'acidité est plus forte que la protéolyse, pour le *V. cholera Pfeiffer*. Quant au *Bacillus megatherium*, il se développe avant tout en surface par suite de son besoin d'oxygène et ne liquéfie la gélatine qu'à ce niveau: le ferment ne semble pas se répandre uniformément dans tout le milieu, de sorte que le maintien de la gélatine à l'état fluide (37°) ne compense pas l'influence défavorable de la hauteur de la colonne liquide.

La transformation du lactose correspond en général à la formation d'acide et il semble que l'acide se forme aux dépens du sucre. Cependant dans certains cas une partie de celui-ci doit subir une décomposition directe en d'autres substances; en effet on constate une différence d'action des deux souches du *Vibr. cholérique*; la souche *Pfeiffer* attaque moins le lactose que la souche *Nazik* tandis qu'elle produit plus d'acide et protéolyse davantage.

Enfin il faut remarquer que la différence connue entre le bacille typhique et le *Bacille coli*, quant à leur action sur le lait bouilli, n'existe que dans le temps. — Le *Bacille coli* produit une forte quantité d'acide dès le début de la culture et précipite donc vite la caséine, mais cette production d'acide atteint son maximum vers le 10<sup>e</sup> jour; à partir de ce moment l'acide est lui-même transformé par l'activité du microbe.

Le *Bacille typhique* au contraire ne développe de l'acide que lentement et n'atteint le maximum trouvé pour le *Bac. coli* que vers le 20<sup>e</sup> jour; le lait qui au 10<sup>e</sup> jour est encore fluide, se coagule vers le 15<sup>e</sup> jour.

Comme les microbes qui ne forment que très peu d'acide tels le *Bacillus megatherium* et le *Bac. enter. Moorzeele*, ne coagulent pas encore le lait après 20 jours, l'existence d'un ferment analogue à celui du *Lab* parmi les produits de l'activité des microbes semble peu probable, contrairement à l'opinion de *Savage*<sup>1)</sup>.

1) *Savage*, Journ. pathol. bacteriol. 1904. No. 10. p. 90—97.

Les ferments protéolytiques que développent les bactéries paraissent donc faire partie d'un seul et même groupe et se rapprocher beaucoup, sans que l'on ait cependant déjà des arguments suffisants pour les considérer comme identiques dans les diverses espèces microbiennes.

Ils sont produits en quantités variables et leur action différerait non d'après leur origine mais d'après les conditions ambiantes connues ou encore inconnues dans lesquelles elles se produisent et opèrent.

Cette opinion a d'ailleurs été exprimée également au sujet d'autres enzymes tels que la catalase, la sucrase, l'oxydase.

G a n d, 1. mai 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber ein Influenzabacillen-ähnliches anaërobes Stäbchen.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. u. k. Militärsanitätskomitees (Vorstand: k. u. k. Regimentsarzt Dr. R. Doerr).]

Von Oberarzt Dr. Victor K. Russ, Wien.

Mit einer Figur.

Dem Laboratorium wurde von der chirurgischen Abteilung des k. u. k. Garnisonsspitals No. 1 in Wien ein aus einem periproktalen Absceß entstammender Eiter zur bakteriologischen Untersuchung überwiesen.

Pat. suchte am 9. März l. J. wegen eines schmerzhaften Knotens in der Aftergegend das Spital auf.

Die Untersuchung ergab an der linken Gesäßhälfte, knapp unterhalb des Anus, einen derben, von geröteter Haut bedeckten, ca. nußgroßen Tumor, an dem deutlich Fluktuation nachzuweisen war.

Am 11. März wurde in Narkose der subkutan am After mündende Absceß auf der Hohlsonde gespalten, der darin enthaltene gelbliche, dünnflüssige Eiter in eine sterile Eprouvete abgelassen und die Höhle tamponiert.

Der weitere Krankheitsverlauf war vollkommen normal, die Wunde granulierte ohne Sekretion, und Pat. wurde am 8. April geheilt entlassen.

In den aus dem Eiter angefertigten und mit verdünntem Karbol-fuchsin gefärbten Deckglaspräparaten konnte eine große Anzahl kleiner, deutlich bipolar gefärbter Stäbchen nebst typischen kurzkettigen Streptokokken nachgewiesen werden.

Es wurden nun mit dem Materiale Blut-, Serum-, Glycerin- und Traubenzucker-Agarplatten beschickt und teils unter aëroben Verhältnissen, teils im Pyrogallustopfe<sup>1)</sup> in Stickstoffatmosphäre bei 37° C gehalten.

Während alle aëroben Züchtungsversuche ein vollkommen negatives Resultat ergaben, zeigten sich auf den unter Sauerstoffabschluß gehaltenen Traubenzuckeragarplatten nach 3mal 24 Stunden zahlreiche kleinste, taupfropfenähnliche, kreisrunde, scharfrandige Kolonien, deren Transparenz nur wenig geringer war, als die der Influenzokolonien auf Pfeifferschem Blutagar. Unter dem Mikroskop erwiesen sie sich halbkugelig, kuppenförmig, im Zentrum schwach gelblich gefärbt und fein granuliert, in der Peripherie wasserhell und farblos. Von der Mitte zogen feine radiäre Streifen gegen die Randteile der Ansiedelungen.

1) Kamen, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. No. 5.

Die Kolonien konfluieren selbst bei dichtestem Wachstum nicht, sind voneinander scharf getrennt und zeigen auch bei längerem Aufenthalt im Thermostaten keine weitere Vergrößerung.

Der Bacillus stellt ein sehr kurzes, gerades Stäbchen mit abgerundeten Enden dar, dessen Länge die Breite ungefähr dreimal übertrifft.

In etwas älteren Kulturen kann man ein Auswachsen in längere Fäden konstatieren, die keine Gliederung erkennen lassen.

Mit den gebräuchlichen Anilinfarben gut tingierbar, lehnt der Mikroorganismus die Färbung nach der Gramschen Methode ab und zeigt auch keine Säurefestigkeit.

Eine Aufschwemmung möglichst junger Kulturen in vorher auf 37° erwärmten physiologischen Kochsalzlösung oder Peptonbouillon im hängenden Tropfen beobachtet, läßt nur ein molekulares Zittern, aber keine Beweglichkeit erkennen; damit steht in Uebereinstimmung, daß sich weder nach Loeffler noch nach van Ermengem Geißeln darstellen ließen.

Sporenbildung konnte auch in allen Kulturen nicht nachgewiesen werden.

In den meisten flüssigen Nährmedien, wie Milch, Peptonwasser, Peptonbouillon gelang (auch bei Ausschluß des Sauerstoffes nach verschiedenen Methoden) eine Kultur niemals. Nur in ausgekochter, durch Paraffinüberschichtung vor Luftzutritt geschützter Traubenzuckerbouillon findet das Wachstum nach 3—4 Tagen in Form eines kleinkrümeligen Bodensatzes bei klarbleibender, darüberstehender Flüssigkeit statt.

Die festen Nährböden — Agar, Serumagar, Glycerinagar, Loeffler-Serum, Glycerinkartoffel, Gelatine —

blieben gleichfalls steril; nur auf Traubenzuckeragar konnte, wie erwähnt, ein Wachstum erzielt werden.

Als Temperaturoptimum kann man 30—37° C ansehen, innerhalb welcher Grenzen sich in 3—4 Tagen Kolonien entwickeln. Zimmertemperatur hindert den Mikroorganismus an der Weiterentwicklung und bringt ihn bei länger dauernder Einwirkung zum Absterben, während im Thermostaten gehaltene Kulturen 3—4 Wochen haltbar sind.

Im Stich ist das Wachstum typisch anaërob, und zwar ist ein dünner, gelblich-brauner Faden von etwas körniger Beschaffenheit zu sehen, der bis ca. 1—1½ cm unter die Oberfläche des Nährbodens reicht.

Die Entwicklung in der Stichkultur geht übrigens viel langsamer als an der Oberfläche eines Nährbodens vor sich, indem meist eine Zeit von 6—10 Tagen bis zur deutlichen Ausbildung der Kultur notwendig ist.

Zur Prüfung der Tierpathogenität wurde einer Anzahl von Mäusen je 1 ccm einer Aufschwemmung, enthaltend 0,1—3 Oesen einer 4 Tage alten Agarkultur intraperitoneal injiziert.

Keines der Tiere zeigte auch nach längerer Beobachtungsdauer irgendwelche Krankheitserscheinungen.

Die Sektion der 14 Tage nach der Injektion getöteten Tiere ergab keinerlei pathologische Veränderungen im Bereiche der Injektionsstelle;

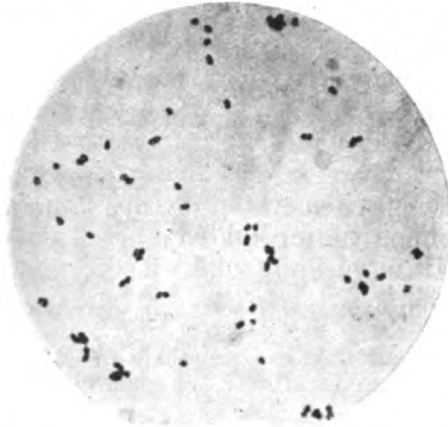


Fig. 1. Ausstrich einer 4tägigen Kultur auf Traubenzuckeragar. (Vergr. 800.)

ebenso mißlingen sämtliche Versuche, in dem Peritonealsaft kulturell den injizierten Mikroorganismus nachzuweisen.

Es handelt sich hier offenbar um einen sekundär in den Absceß, aus dem Darminhalte eingedrungenen Saprophyten. Hervorgerufen war die Eiterung durch die Streptokokken, die nur mehr mikroskopisch nachgewiesen werden konnten, sich aber nicht mehr kultivieren ließen; sie waren in dem Absceßinhalte mit der Zeit abgestorben.

Die außerordentliche Aehnlichkeit dieses anaëroben Saprophyten mit Influenzastäbchen, sowohl in morphologischer als kultureller Beziehung, rechtfertigt die kurze Mitteilung dieses Befundes.

Für die Ueberlassung des Materials sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Chef, Herrn Regimentsarzt Dr. Doerr, meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Wien, im Juni 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums in Zürich.]

Von **P. Ankersmit.**

Die vorhandenen schon ziemlich zahlreichen Arbeiten über Darmbakterien beziehen sich fast ausschließlich auf die Verhältnisse im menschlichen Organismus. Untersuchungen über Darmbakterien bei den verschiedenen Tierarten sind nur wenige zu verzeichnen und in diesen wenigen sind nur vereinzelte Angaben zu finden, welche das Rind betreffen. Eine systematische Untersuchung des ganzen Darmtraktes beim Rinde wird man in der Literatur vergeblich suchen. Das hat meinen verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Burri, veranlaßt, mich mit Untersuchungen zu betrauen, die feststellen sollten, ob sich in der Zusammensetzung der Bakterienflora im Magen und Darmkanal des Rindes gewisse Gesetzmäßigkeiten erkennen lassen. Gleichzeitig sollte die Frage der Vergärung von Cellulose und verwandten Substanzen in den verschiedenen Magen- und Darmabteilungen besondere Berücksichtigung finden.

### 1. Einleitung.

Systematische Untersuchungen über Darmbakterien bei verschiedenen Tierarten wurden von Klein, Rahner, Hemick und Ballner ausgeführt. Klein (15) untersuchte die Entwicklung der Bakterienflora im Darmkanal des Kaninchens und konnte vom Magen bis zum After eine fortwährende Abnahme der Keimzahl nachweisen. Nicht einmal im Blinddarm und Mastdarm war eine Vermehrung festzustellen. In absteigender Richtung des Darmkanals verschwanden die Gelatine verflüssigenden Arten bei fortwährend stärkerem Hervortreten der Vertreter der Coli-Gruppe.

Rahner (26) beschäftigte sich mit der Darmflora des Hühnerdarmes. Während dieser Autor die Dejektionen vom eben ausgebrüteten Hühnchen immer steril fand, konnte er schon nach einigen Tagen das Auftreten

und die lebhaftere Vermehrung von Bakterien konstatieren und nach 8 Tagen ließ sich die Flora nicht mehr von jener erwachsener Hühner unterscheiden. Dabei traten neben den weit vorherrschenden Coli-Bakterien verflüssigende Kokken und andere Typen nicht häufig auf. Weiter verfolgte Rahner die Bakterienflora in den verschiedenen Darmabschnitten. Im Muskelmagen waren neben Gelatine verflüssigenden Kokken spärliche Megatherium nachzuweisen; im oberen Dünndarm nahmen diese noch zu unter gleichzeitigem Auftreten des *Bact. coli*. Das letztere vermehrte sich in den unteren Darmpartien immer stärker, um schließlich in den Blinddarmsäcken fast ausschließlich, und zwar massenhaft, zu vegetieren.

Von Hemick (9) wurde die Bakterienflora des Schweinedarmes berücksichtigt. Bei den betreffenden von 23 verschiedenen Schweinen entnommenen Proben konnte festgestellt werden, daß regelmäßig nur *Bact. coli* und *lactis aërogenes* vorkamen, obwohl auch die sogenannten fakultativen Darmbakterien selten fehlten. Im Dünndarm und Blinddarm schien Coli zu überwiegen, im Mastdarm öfters *Aërogenes*. Der Bakteriengehalt des Dünndarmes war immer ein sehr spärlicher, wogegen der Blinddarm fast immer eine auffallend große Menge Bakterien aufwies. Versuche, Anaëroben zu isolieren, wurden nur bei einigen wenigen Proben, und zwar mit negativem Resultate, ausgeführt.

Aus neuester Zeit stammende Untersuchungen über die Darmbakterien des Kaninchens, ausgeführt von Ballner (2), stimmen auffallend schlecht mit den Kleinschen Angaben überein. Ballner bestätigt die Angaben Kohlbrugges, wonach das Coecum als die Brutstätte der Coli-Bakterien zu betrachten ist. Von hier verbreiten sie sich sowohl aufwärts in den Dünndarm als auch und zwar hauptsächlich abwärts in den Mastdarm. Der Magen zeigte sich bei der mikroskopischen Untersuchung gewöhnlich fast steril oder ließ nur einige wenige Kokken oder träge bewegliche, aber nicht Coli-ähnliche Stäbchen erkennen. Ballner nimmt mit Kohlbrugge (17) eine eigene obligate und eine in der Zahl stark zurücktretende fakultative Darmflora an.

Die Zahl der Arbeiten, welche sich mit den Magen- und Darmbakterien des Rindes beschäftigen, ist eine auffallend kleine.

Popoff (25) hat den Darminhalt neugeborener Kälber untersucht, konnte aber, in Uebereinstimmung mit den Untersuchungen am Meconium der Säuglinge, niemals Mikroben nachweisen.

Gröning (8) prüfte den Darmtraktus des Rindes auf das Vorhandensein von Streptokokken. Während er im ersten Viertel des Dünndarmes weder mikroskopisch noch kulturell Streptokokken nachweisen konnte, traten in den hinteren Abteilungen desselben, wenn auch nur selten, kurze zwei- bis viergliedrige Ketten auf. Im Dickdarm nahm im allgemeinen mit der Gesamtzahl auch die Zahl der Streptokokken bedeutend zu, bis letztere im Mastdarm sehr häufig in 10—30-gliedrigen Ketten nachzuweisen waren.

Streit vermochte aus Kuhkot von 7 verschiedenen gesunden Kühen Coli-Bakterien in großer Anzahl nachzuweisen.

Wüthrich und Freudenreich (38) stellten den Einfluß der Fütterung auf den Bakteriengehalt des Kuhkotes fest. Bei den an 2 Kühen angestellten Versuchen ergab sich ein Steigen des Bakteriengehaltes beim Uebergang von der Grasfütterung zur Trockenfütterung einerseits, andererseits eine Verminderung der Keimzahl, als das Heu durch saure Kartoffeln ersetzt wurde. Die genannte Vermehrung betrifft in erster Linie

die Heu- und Kartoffel-, in zweiter Linie die Coli-Bakterien. Da das Heu immer große Mengen der erstgenannten Bacillen enthält, ist ihre Vermehrung leicht erklärlich. Dagegen scheinen im Darmtraktus für die Coli-Bakterien durch die Heufütterung günstige Umstände geschaffen zu werden, da diese Bakterien im Heu nicht sehr häufig sind.

Nachdem schon vorher durch eine Arbeit von Freudenreich (7) im Panseninhalt massenhaft Gelatine verflüssigende und nicht verflüssigende Kokken nachgewiesen waren, untersuchte Steiger (29) den Inhalt des Pansens und Psalters des Rindes auf „Galaktokokken“. Das Material entnahm Verf. entweder in der Tiefe des Magens, oder näher an dessen Wandung; in der Bakterienflora vermochte er jedoch dabei keinen Unterschied wahrzunehmen. Das Material wurde sofort auf Gelatineplattenkulturen verarbeitet und diese täglich auf ihr Kolonienwachstum untersucht. Mikroskopisch konnten im Pansen neben Streptokokken und Kokken der verschiedensten Größen Kurz- und Langstäbchen und endlich auch Sarcinen nachgewiesen werden. Ebenso mannigfaltig wie im Pansen zeigte sich die Bakterienflora im Psalter. Nach den morphologischen, biologischen und kulturellen Merkmalen der im Pansen und Psalter gefundenen Kokken glaubt Verf. neben einigen, eine Sonderstellung einnehmenden Arten, zwei große Gruppen unterscheiden zu können. Die erste Gruppe hält Verf. identisch mit dem *Staphylococcus mastitidis* (Guillebeau), während die Vertreter der zweiten Gruppe den im kranken Kuheuter gefundenen Galaktokokken (im Sinne Guillebeaus) sehr nahestehen.

In neuester Zeit hat Neubauer (22) den Dünndarm, Blinddarm und Mastdarm des Rindes auf die Anwesenheit von obligat-anaëroben Bakterien geprüft, wobei er Dextroseagarplatten benutzte, welche im Botkinschen Apparat gehalten wurden. Von jedem Abschnitt wurden 3 Platten gegossen, von je 3 Platten 10 Kolonien untersucht und auf Stich und Agarstrich geimpft. Auf diese Weise wurden von im ganzen 30 Rindern zusammen 900 Kolonien der anaëroben Plattenkulturen geprüft. Von diesen 900 konnte der genannte Autor nur ein einziges streng anaërobes Bakterium isolieren, während 3 andere sich „philanaërob“ verhielten. Der aus Dünndarm isolierte Anaërobier bildet kleine bläuliche Kolonien und ist ein Diplococcus, welcher in Stichkulturen nur 1 bis 1½ cm unter der Oberfläche zu wachsen beginnt und kein Gas bildet. Ferner ist er grampositiv und zeigt bei Zimmertemperatur kein Wachstum. Was die 3 „Philanaërobier“ betrifft, so dürften jedenfalls 2 von ihnen der Coli-Gruppe nahestehen.

Mit der Frage der Cellulosegärung haben sich schon frühzeitig verschiedene Autoren befaßt. In erster Linie ist wohl die Arbeit von Tappeiner (31) zu erwähnen, da dieser Forscher die grundlegenden Untersuchungen über die genannte Gärung eingeleitet hat. Zwar war durch die Arbeiten von Haubner, Henneberg und Stohmann (10) bekannt geworden, daß die Rohfaser für die Wiederkäuer zum Teil verdaulich ist. Auf welche Weise aber diese chemisch so schwer angreifbare Substanz im Darmkanal gelöst wird, darüber konnte man sich nicht gut eine Vorstellung bilden, bis Popoff und Zuntz es wahrscheinlich machten, daß es sich nicht um eine eigentliche Verdauung, sondern mehr um eine Gärung unter Gasbildung handle, wobei das Methan die Hauptrolle spielen sollte. Ueber den Ort, wo die Lösung der Cellulose stattfand, war aber nichts bekannt. Diesen letzteren zu bestimmen, stellte Tappeiner sich zur Aufgabe und untersuchte zu diesem Zwecke den

Inhalt eines jeden Hauptabschnittes des Verdauungstraktus von nur mit Heu gefütterten Rindern, und zwar vom Pansen, von der Mitte des Dünndarmes und vom Dickdarm. Die Versuche wurden so eingeleitet, daß nicht nur der Ort der Celluloselösung bestimmt, sondern auch gleichzeitig die Frage der Anwesenheit von celluloselösenden Enzymen geprüft werden sollte. Die Ergebnisse dieser schönen Arbeit sind folgende: In erster Linie kommt als Ort der Celluloselösung der Pansen in Betracht; ein zweiter Ort einer viel weniger intensiven Cellulosegärung ist der Dickdarm, während der Dünndarm sich nicht an dieser Gärung beteiligt. Die Anwesenheit eines Cellulose lösenden Enzyms konnte ebensowenig im Pansen als im Dickdarm nachgewiesen werden. Das durch die Gärung entwickelte Gas bestand neben Wasserstoff hauptsächlich aus Methan und Kohlensäure, während als Nebenprodukte flüchtige Fettsäuren, hauptsächlich Essig- und Buttersäure gebildet wurden. In geeigneten, einen Zusatz von Cellulose enthaltenden Nährflüssigkeiten vermochte Tappeiner durch Verimpfung geringer Mengen von Panseninhalt eine künstliche Gärung einzuleiten, wobei nachgewiesen wurde, daß die in diesem Falle entwickelten Gase die gleichen waren, als die, welche im Pansen gebildet wurden, während auch die flüchtigen Säuren in beiden Fällen ungefähr dieselben waren. Verf. schließt daraus, daß die Cellulose wahrscheinlich diejenige Substanz ist, welche im Pansen durch Bakterien zerlegt wird, und daß auch diese Gärung der einzige Vorgang ist, durch welchen Cellulose im Darmkanal der Wiederkäuer gelöst wird. Nicht nur im Pansen und Dickdarm des Rindes, auch im Blinddarm und Grimmdarm des Pferdes vermochte Tappeiner die Cellulosegärung nachzuweisen, wobei sich auch die gebildeten Gärungsprodukte identisch erwiesen mit denen der künstlich hervorgerufenen Gärung. Im Magen des Pferdes konnte er die Wasserstoffgärung der Cellulose nachweisen.

Von Hofmeister (11) wurde die Celluloseverdauung im Darmtraktus des Pferdes eingehend untersucht, wobei hauptsächlich die Darmsäfte auf Cellulose lösende Eigenschaften geprüft wurden. Zu diesem Zweck stellte Verf. Karbolwasserauszüge der lufttrockenen Bauchspeicheldrüse und der frischen Schleimhäute des Dün- und Blinddarmes her. Die mit diesen so gewonnenen Extrakten vorgenommenen Impfungen vermochten zum Teil gar nicht, zum Teil nur in zweifelhaften Mengen die verschiedenen Cellulosearten zu lösen. Es wurde dann Rohfaser aus jungem zu Heu gemachtem Gras mit der von frischem Pferdemaageninhalt ausgepreßten Flüssigkeit geimpft, aber gleichfalls mit negativem Resultat, wogegen aber die den frisch geschlachteten Pferden entnommenen Darmflüssigkeiten ohne Ausnahme Cellulose in der Menge von 40—70 Proz. zu lösen vermochten. Bei Kontrollversuchen löste frische Dünndarmflüssigkeit 20—40 Proz., gekochte Flüssigkeit dagegen gar keine Cellulose. Frische Blinddarmflüssigkeit konnte 45—58 und 72 Proz., gekochter Blinddarmsaft dagegen wieder keine Cellulose lösen. Die Cellulosevergärung beim Pferde findet also nicht im Magen, sondern in den unteren Darmpartien, und zwar hauptsächlich im Blinddarm, statt. Auf Grund des negativen Verhaltens der gekochten Darmflüssigkeiten glaubte Hofmeister die Ursache der Celluloselösung in einem Ferment erblicken zu dürfen, welches er aber nicht isolieren konnte.

Auch Holdefleiss (12) stellte im Sinne Hofmeisters Versuche über die Einwirkung von Verdauungssäften auf Rohfaser an, und bestätigte zunächst die Angaben von Hofmeister, wonach die Schleim-



hautextrakte nicht im stande sind, Cellulose zu lösen. Während Hofmeister aber eine lösende Wirkung der Verdauungssäfte nachgewiesen hat, vermochten die von Holdfleiss abfiltrierten Pansen- und Blinddarmflüssigkeiten eines Schafes die Cellulose nicht anzugreifen. Als er aber dann den Panseninhalt mit 0,25-proz. Karbollösung durchknetete, um nachher die ausgepreßte Flüssigkeit auf ihre Cellulose lösende Eigenschaft zu prüfen, vermochte diese bei 5-tägiger Einwirkung 23,5 Proz. Rohfaser zum Verschwinden zu bringen, wobei sich vorzugsweise Kohlensäure und etwas Kohlenwasserstoffe bildeten. Die auf gleiche Weise gewonnene Blinddarmflüssigkeit löste in einem Falle 20 Proz., in einem anderen Versuch 72 Proz. Rohfaser, während der Labmagen unwirksam war. Es wird also beim Schafe die Rohfaser nur im Pansen und vorzugsweise im Blinddarm gelöst.

Was den Nährwert der Cellulose betrifft, so ist dieser von vielen Autoren ganz verschieden beurteilt worden. Wolff betrachtete die Rohfaser als vollständig unverdaulich und somit als Ballast. Während Henneberg und Stohmann (10) die Cellulose als einen Nährstoff von großer Bedeutung bezeichnen, glauben Tappeiner, sowie auch Müller (20) dieser auf Grund ihrer Untersuchungen nur einen geringen Wert zuschreiben zu müssen, da sie zum Teil der Methangärung anheimfällt, und die dabei gebildeten Säuren dem Organismus nur einen geringen Nutzen bringen können.

Auch Weiske, Schulze, Flechsig (36) und Ustjantzen (32) glauben sich auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Schlusse berechtigt, daß die Cellulose keine dem Stärkemehl und anderen verdaulichen Kohlehydraten analoge Eiweiß ersparende Wirkung besitzt, während v. Kneriem (16) in dieser Beziehung zu einer vollständig abweichenden Ansicht gelangt, indem er den bei der Lösung der Cellulose sich bildenden Produkten sowohl eine Eiweiß als Fett ersparende Wirkung zuschreibt.

In neuerer Zeit sind dann eingehende Untersuchungen mit ausgewachsenen Ochsen von Kellner (13) in Möckern angestellt, die sich mit der Feststellung der Ausnutzung der verschiedenen Futterbestandteile und ganzen Futtermittel beschäftigen. Aus diesen Versuchen geht unzweifelhaft hervor, daß die Rohfaser im Darmkanal der Wiederkäuer zum Teil gelöst wird. Während der Strohstoff (eine mit Kalilauge unter Druck nach der Lehmannschen Methode aufgeschlossene Strohart, welche aus 77 Proz. Rohfaser und 20 Proz. Stickstoff freier Substanz besteht) eine Lösung bis zu 95 Proz. zeigte, wurde nicht aufgeschlossenes Stroh nur zu 30—40 Proz. verdaut. Weiter geht aus den Untersuchungen hervor, daß nicht nur die Cellulose, sondern auch die Stärke sich an der Sumpfgasbildung beteiligt und zwar zu rund 10 Proz., während die restierenden 90 Proz. auch noch durch andere Gärungen einen Teil ihres Nährwertes einbüßen. Von den anderen geprüften Futterbestandteilen ist noch der Rohrzucker zu erwähnen, welcher sich am geringwertigsten von allen erwiesen hat, eine Tatsache, welche sich Verf. erklärt durch die hohe Löslichkeit dieses Kohlehydrates, wodurch es sofort im Darmtraktus des Rindes durch die Tätigkeit der Bakterien zerlegt wird. In der Tat konnte der Autor kurze Zeit nach der Fütterung große Mengen von Säuren, worunter Milchsäure, welche nur für die Wärmebildung, aber für den Fettansatz keinen Wert besitzt, nachweisen, der Zucker aber war verschwunden. Da sich der Zucker an der Methanbildung nur wenig beteiligt, sind die großen Verluste nur durch die

intensive Säurebildung zu erklären. Die Tatsache, daß die zusammengesetzten Futterstoffe nicht immer den Nähreffekt lieferten, wie aus der Summe ihrer einzelnen Futterbestandteile erwartet werden dürfte, schreibt Kellner nicht nur der vermehrten Kauarbeit, welche einen entsprechenden Energieverlust mit sich bringt, sondern auch dem Ort der Verdauung zu. Werden nämlich die betreffenden Nährstoffe, wie Stärke und andere, schon im Magen und Dünndarm zum größten Teil verdaut und resorbiert, so können diese den Bakterien, die sich besonders in dem umfangreichen Dickdarm aufhalten, entgehen; im anderen Falle dagegen, wenn ein großer Teil des Futters in die unteren Darmpartieen übergeht, so fällt dieses den Bakterien anheim, und ist für die Resorption verloren. So spielt nicht nur die chemische, sondern auch die physikalische Beschaffenheit des verabreichten Futters eine wichtige Rolle bei der Ausnutzung desselben.

Vom chemisch-bakteriologischen Standpunkte wurde durch die schönen Untersuchungen von Omelianski (23) die Frage der Cellulosegärung zu einem vorläufigen Abschluß gebracht, nachdem schon die Arbeiten van Tieghems, Gayons, Schloessings und Hoppe-Seylers nach verschiedenen Seiten wichtige Beiträge geliefert hatten. Omelianski konnte sich bald überzeugen, daß es 2 Arten von Cellulosevergärung gibt, eine Wasserstoff- und eine Methangärung, welche durch eine 15 Minuten lange Erhitzung gärender Gemische auf 75° C voneinander zu trennen sind. Als Ausgangsmaterial diente frischer Pferdemist und Flußschlamm, als Nährlösung Kaliphosphat (1 g), Magnesiumsulfat (1/2 g), Ammonsulfat oder -phosphat (1 g) nebst Spuren von Kochsalz in 1000 ccm destillierten Wassers, welchem eine gewisse Menge schwedischen Filtrierpapiers zugesetzt wurde. Bei Verwendung von Asparagin oder Pepton statt Ammonsalz und von anderen Cellulosepräparaten statt schwedischen Filtrierpapiers konnten keine wesentlichen Unterschiede im Verlaufe der Gärung konstatiert werden. Versuche, den Erreger der Wasserstoffgärung der Cellulose auf festen Nährböden rein zu züchten, gelangen zwar bei Verwendung von Kartoffelplatten, aber der Bacillus hat dabei seine typischen Eigenschaften verloren und vermochte nicht mehr oder nur sehr schwach die Cellulose in Gärung zu versetzen. Die von dem Wasserstoffbacillus gebildeten Gase bestanden hauptsächlich aus Wasserstoff und Kohlensäure in wechselnden Verhältnissen, während als Gärungssäuren Butter- und Essigsäure neben Spuren von Valeriansäure nachzuweisen waren. Bei der Methangärung dagegen, deren Erreger nicht auf festen Nährböden rein gezüchtet werden konnte, wurde neben viel Kohlensäure Methan, aber kein Wasserstoff gebildet. Die entstandenen Säuren setzten sich ebenfalls hauptsächlich zusammen aus Butter- und Essigsäure. Für beide Gärungen ist der langsame Verlauf auffallend, welcher für die Wasserstoffgärung noch stärker ausgeprägt ist, als für die Methangärung. Trotz dieses langsamen Verlaufes und der scheinbar geringen Leistung glaubt Omelianski die Rolle dieser Bakterien in der Natur nicht unterschätzen zu dürfen, wenn er auch nicht bezweifelt, daß es noch eine ganze Reihe von Cellulosefermenten gibt, die eine ähnliche Zersetzung hervorrufen können.

Diesbezüglich wäre eine neuere Arbeit von Mazé (19) zu erwähnen, welcher eine „Pseudosarcina“ als Erreger einer Sumpfgasgärung aufgefunden haben will. In Reinkulturen war dieser Organismus nicht imstande, Cellulose zu lösen, sondern nur in Begleitung von 2 Arten

Buttersäurebakterien, die ihrerseits weder einzeln noch zusammen Methan zu bilden vermochten.

An dieser Stelle sei noch einer Arbeit von Eberlein (6) gedacht, welche sich mit dem Nachweis von Infusorien im Wiederkäuermagen beschäftigt. Bei 87 untersuchten Wiederkäuern konnte Eberlein in 86 Fällen immer die Anwesenheit von Infusorien nachweisen. Sie bilden einen normalen Bestandteil des ersten und zweiten Magens der Wiederkäuer, während sie im Labmagen, wie übrigens auch beim Saugkalbe, nicht nachzuweisen waren. Verf. hält sie für physiologisch wichtig, weil sie einen Teil der Cellulose in leichter verdauliche Form überführen können.

Im Anschluß an die Celluloselösung im Darmkanal müssen wir kurz die Frage der Pentosanverdauung berühren. Bekanntermaßen bestehen die sogenannten inkrustierenden Substanzen der Rohfaser zum Teil aus Pentosanen von der Zusammensetzung  $(C_5H_8O_4)_x$ , welche nach Inversion mittels verdünnter Mineralsäure die Pentosen liefern. Im allgemeinen wird man die Pentosane, inkl. Pektinstoffe, zu den Hemicellulosen rechnen dürfen, das sind nach E. Schulze diejenigen Teile des pflanzlichen Zellgerüsts, welche im Gegensatz zur eigentlichen Cellulose in verdünnten Säuren löslich sind.

Weiser (33) bestimmte den Pentosangehalt im Futter und Kot, und konnte eine Verdauung von 34—74 Proz. nachweisen. Die Größe der Verdauungskoeffizienten der Pentosane geht proportional mit dem der Cellulose.

Nach Lindsey und Holland (18) sind die Pentosane fast ebenso verdaulich als irgend einer der übrigen Futterbestandteile.

Stone konnte eine Verdauung bis zu 40 und 60 Proz. feststellen. In vielen Fällen war die Pentosanverdauung geringer als die der Cellulose.

Rudzinski (27) betrachtet die Pentosane als einen ausgezeichneten Nährstoff für gewisse Bakterienarten. Die Verdauungskoeffizienten aus zwei gut übereinstimmenden Versuchen berechneten sich auf 46 Proz. Nach diesem Autor üben die leicht löslichen Kohlehydrate eine Depression auf die Verdaulichkeit der Pentosane aus.

Auch über die Bedeutung der Amidsubstanzen für den tierischen Organismus wären einige Worte angebracht. Von Zuntz (40) wurde zuerst die Vermutung ausgesprochen, daß das Asparagin seine eiweißsparende Wirkung indirekt der Tätigkeit der Bakterien verdankt, indem es diesen statt des Eiweißes als Stickstoffquelle diene. Dadurch würde letzteres geschont, während außerdem die durch den Verdauungsakt getöteten Bakterien einen weiteren Eiweißgewinn für den Körper bedeuten könnten. Nun herrschen allerdings über die eiweißsparende Wirkung des Asparagins große Meinungsverschiedenheiten. Während Weiske (34), Schulze (35), Bahlmann (1) und Pohlhart an Kaninchen, Hühnern, Gänsen und Schafen und Schrodtt an Milchkühen sowohl den Eiweißansatz, als auch für die letzteren die Milchsekretion sich vermehren sahen, konstatierten dagegen Munk (21) bei Hunden, Voit (21) und Politus bei Ratten keine eiweißsparende Wirkung des Asparagins, Munk sogar einen vermehrten Stickstoffumsatz. In neuerer Zeit hat dann Kellner (14) bewiesen, daß nur im Falle eines sehr weiten Nährstoffverhältnisses, d. h. bei großer Eiweißarmut der Nahrung, das Asparagin eine eiweißsparende Wirkung auszuüben vermag, also unter Verhältnissen, welche in der Praxis wohl kaum vorkommen dürften.

2. Die an 15 frisch geschlachteten Rindern zum Zwecke einer allgemeinen Orientierung ausgeführten Versuche.

**Probeentnahme und Arbeitsmethoden.** Sofort nachdem die Mägen und Eingeweide aus dem betreffenden Tier entfernt waren, wurde beim Pansen und Labmagen eine passende Stelle durch Abwaschen mit Sublimat und nachheriges Trocknen mit Alkohol gereinigt und sodann mit einem sterilen Messer durchstoßen. Von dem ausfließenden Inhalt wurden 40—50 ccm in einer sterilen Epruvette aufgefangen. Zum Zweck der Probenahme bei Dünndarm und Blinddarm wurde der betreffende Darmteil, und zwar soweit als möglich die Mittelpartie, über den Tischrand gelegt, wie oben gereinigt, durchstoßen und der Inhalt aufgefangen. Sofort nach der Probeentnahme ist das gesamte Material im Laboratorium auf Gelatineplatten und Dextroseagar in hoher Schicht verarbeitet worden.

Zur Herstellung der Verdünnungen wurde je ein Gramm des betreffenden Darminhaltes in ein steriles Kölbchen abgewogen und mit sterilem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Ein zweites Kölbchen wurde mit 1 ccm Flüssigkeit des ersten Kölbchens beschickt und gleichfalls durch Wasserzusatz auf das Volumen von 100 ccm gebracht. 1 ccm des ersten Kölbchens enthielt somit  $\frac{1}{100}$  g der ursprünglichen Masse, 1 ccm vom zweiten Kölbchen dagegen  $\frac{1}{10000}$  g. Aus diesen beiden Kölbchen wurden dann mittels steriler Pipetten gewöhnlich je 1 ccm und  $\frac{1}{10}$  ccm in die betreffenden Nährböden übertragen und mit denselben gemischt.

Zum Nachweis der bei Luftabschluß gedeihenden Bakterien haben wir uns ausschließlich der Kultur in hoher Schicht in der von R. Burri (5) beschriebenen Modifikation bedient und zwar mit der Vereinfachung, daß das Aufgießen einer Schicht sterilen Agars auf die eigentliche Kulturschicht unterlassen wurde. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß bei Aussaat von Bakteriengemischen die vorhandenen luftbedürftigen Arten im allgemeinen den Luftabschluß ebenso gründlich besorgen, als dies eine Schicht von Deckagar zu tun vermag. Allerdings läßt sich eine solche Kultur nicht ohne weiteres zur Feststellung der Zahl der ohne Luftzutritt gedeihenden Arten verwenden, indem die obere Schicht unter Umständen stark mit luftbedürftigen Arten durchsetzt sein könnte. Wir haben daher für die Zählung der in hoher Schicht gewachsenen Kolonien immer nur die untere Hälfte des Agarcylinders berücksichtigt, worauf hier ausdrücklich aufmerksam gemacht sei. Wie aus den unten stehenden kleinen Tabellen zu ersehen ist, wird man, um die annähernde Gesamtkeimzahl zu bekommen, in vielen Fällen die Keimzahl, welche die Plattenmethode geliefert hat, addieren müssen zu der durch die Kulturen in hoher Schicht gewonnenen Zahl, denn was auf den ersteren sich entwickelt hat, fehlte meist in den letzteren, und umgekehrt. Es ist dies wieder ein Fingerzeig, daß die Untersuchung eines unbekanntes Keimgemisches unbedingt nicht nur nach einem gewöhnlichen Plattenverfahren, sondern gleichzeitig nach irgend einer anaëroben Methode erfolgen muß, wenn man nicht zu ganz falschen Vorstellungen über die Zusammensetzung des betreffenden Keimgemisches gelangen will.

## Versuch I.

## A. Vorläufige Prüfung.

**Panseninhalt.** Reaktion schwach alkalisch (Lackmuspapier). Geruch schwach nach Exkrementen. Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalt.** Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz breiig.

**Dünndarminhalt.** Reaktion alkalisch. Geruchlos. Konsistenz breiig.

**Direkte mikroskopische Untersuchung.** Gefärbtes Präparat. Färbung mit Methylviolett.

**Pansen.** Trotz massenhaft vorhandener Futterpartikel, die eine klare Uebersicht verhinderten, konnte man deutlich zahlreiche Bakterien wahrnehmen und zwar vorherrschend Kurzstäbchen. Langstäbchen dagegen waren nur relativ wenige zu sehen.

**Labmagen.** Auffallend der große Unterschied gegenüber dem Pansenpräparat. Kurzstäbchen ließen sich nur vereinzelt nachweisen, so daß mit ziemlicher Sicherheit eine geringere Bakterienzahl erwartet werden dürfte als im Pansen.

**Dünndarm.** Wie im Labmagenpräparat, konnten nur vereinzelt Kurzstäbchen aufgefunden werden.

B. Quantitative bakteriologische Analyse.  
Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen	Labmagen	Dünndarm
Gelatineplattenkulturen	500 000	20 000	12 000
Dextroseagar h. Schicht	1 900 000	30 000	25 000
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl. unbewegl. Kurzstäbchen + Kokken	Gemisch verschiedener Typen	Coli
	h. Sch.-K. Güntheri	Güntheri	Coli + Güntheri

## C. Qualitative bakteriologische Analyse.

a) **Pansen.** Die A- und B-Platte waren schon nach 2 Tagen vollständig verflüssigt durch einige Megatherium- und Mesentericus-Kolonieen. Die C-Platte zeigte neben recht vielen Kokkenkolonieen vorherrschend punktförmige, scharf abgegrenzte, ganz kreisrunde, schwach gelbliche Kolonieen von unbeweglichen Kurzstäbchen ( $2-3 \mu \times 0,5-0,6 \mu$ ). Nach Abimpfen und Untersuchung auf den gebräuchlichen Nährböden erwies sich dasselbe als eine streng aërobe, Gelatine nicht verflüssigende, in Dextroseagarschüttelkultur kein Gas bildende, Milch scheinbar nicht verändernde Art, die wegen ihrer geringen Aktivität wohl keine besondere Bedeutung beanspruchen darf. Neben diesen Kurzstäbchen- und Kokkenkolonieen kommen relativ häufig aber doch stark zurücktretend Kolonieen der großen sporenbildenden Bodenbakterien vor, wovon Megatherium, Mycoides, Tumescens und Mesentericus als die Hauptvertreter zu nennen sind. Auch zeigten sich auf der A- und B-Platte vereinzelt Schimmelpilzkolonieen.

Die Kulturen i. h. Schicht wiesen eine stark getrübe Agarmasse, aber keine Gasbildung auf. Kultur C, die stärkste Verdünnung, ließ große linsenförmige Kolonieen von kleinen, zugespitzten, unbeweglichen Kurzstäbchen sehen, welche häufig 2- und 4-gliedrige Kettchen bildeten. Bei vielen dieser Kolonieen war das mikroskopische Bild etwas anders, indem die Stäbchen Neigung zur Involutionbildung zeigten und dann häufig der Kokkenform sehr nahe kamen. Auch alle untersuchten Kolonieen von der Verdünnung B zeigten das gleiche Verhalten. 4 Kolonieen wurden auf Milch abgeimpft, 3 von ihnen brachten sie schon nach 24 Stunden zur Gerinnung, die 4. erst nach 2 Tagen. Die erwähnten Eigenschaften und der Molkenagarstich ließen deutlich erkennen, daß wir es mit dem Bact. Güntheri (Lehm. et Neum.) [Bac. lactis acidi Leichm.], dem Erreger der normalen Milchsäuerung, zu tun hatten.

b) **Labmagen.** Die Platten zeigten eine sehr gemischte Kolonieenflora. Die A-Platte war ganz verflüssigt von einigen wenigen pilzmycelartiges Wachstum zeigenden, schnell die Gelatine verflüssigenden Langstäbchenkolonieen. Auch Megatherium- und Tumescens-Kolonieen waren nachzuweisen. Die B-Platte war gleichfalls vollständig verflüssigt von den genannten Bakterienarten. Es kamen hier außerdem ziemlich viele Kolonieen eines unbeweglichen, sporenbildenden, dem Bac. ruminatus Meyer et Gottheil nahestehenden Langstäbchens vor, welches im hiesigen Laboratorium häufig aus Züricher Erde isoliert worden ist. In den Kulturen i. h. Schicht fehlt wie beim Pansen die Gasbildung und es ist eine starke Trübung der Agarmasse bemerkbar. Es zeigten sich neben den weit vorherrschenden Güntheri-Kolonieen einige wenige

Kolonien von Involutionen bildenden, in der Länge stark variierenden unbeweglichen Stäbchen, die nach Abimpfung auf Dextroseagarstich auch nach 8 Tagen noch kein wahrnehmbares Wachstum erkennen ließen. Die geringe Kolonienzahl bestätigte übrigens die Vermutung, zu welcher das gefärbte Präparat Veranlassung gegeben hatte, betrug doch die Keimzahl im Labmagen nur ungefähr  $\frac{1}{100}$  derjenigen des Pansens.

c) Dünndarm. Die Platten zeigten vorherrschend Kolonien, die, soweit sie oberflächlich waren, dem Coli-Typus angehörten. Nach Abimpfung von 4 solchen Kolonien auf Gelatinestrich und Dextroseagarschüttelkultur ließ sich ihre Zugehörigkeit zur Gruppe des *Bacterium coli* ohne weiteres erkennen. Neben diesen Coli-Kolonien waren einige wenige verflüssigende Arten, *Megatherium*, *Mesentericus* und andere zu bemerken.

In den anaëroben Röhren war schon nach 20 Stunden eine kräftige Gasbildung eingetreten. Es kamen neben Kolonien eines unbeweglichen Vertreters der Coli-Gruppe Kolonien von typischen und weniger typischen Güntheri-Stäbchen vor. Ob Coli oder Güntheri vorherrschend war, konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden wegen der starken Zerreißen der Agarmasse.

Hervorzuheben ist für diesen Versuch zunächst das Vorherrschen des fakultativ anaëroben Milchsäurebakteriums, das an Zahl alle anderen Bakterienarten weit übertrifft, nicht nur im Pansen, sondern auch noch im Labmagen. Daß trotz dieses auf eine stattfindende Milchsäuregärung hindeutenden Befundes im Pansen die Reaktion alkalisch ist, dürfte wohl zurückzuführen sein auf die großen Massen stark alkalisch reagierender Mundspeichelflüssigkeit, die immer wieder mit dem Futter vermischt werden. Bemerkenswert ist auch die Massenvernichtung der Bakterien im Labmagen, nur erklärlich durch die stark antiseptische Wirkung des sauer reagierenden Magensaftes. Bemerkenswert ist fernerhin das Auftreten der Coli-Bacillen im Dünndarm, wo sie sich neben den Güntheri behaupten.

## Versuch II.

### A. Vorläufige Prüfung.

**Panseninhalte.** Reaktion neutral oder höchstens eine Spur alkalisch. Geruch nach Jauche, Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalte.** Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz flüssig.

**Dünndarminhalte.** Reaktion alkalisch. Kein ausgesprochener Geruch. Konsistenz breiig.

**Mastdarminhalte.** Reaktion neutral. Geruch schwach nach Exkrementen. Konsistenz fest.

### B. Quantitative bakteriologische Analyse. Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen	Labmagen	Dünndarm	Mastdarm
Gelatineplattenkulturen	900 000	16 000	—	870 000
Dextroseagar h. Schicht	10 000 000	60 000	32 000	1 600 000
Gel.-Pl.	Kokken + Bodenbakterien	Megath., Mycoides, Mesentericus	Megath., Mesentericus + andere	Coli, Megath. + Mesentericus
Vorherrschende Bakterienarten	h. Sch.-K. Güntheri	Güntheri	Coli + Güntheri	Güntheri + Coli

### C. Qualitative bakteriologische Analyse.

a) Pansen. Die Gelatineplatten waren schon nach 36 Stunden vollständig verflüssigt von großen und kleinen, gelben und weißen Kokkenkolonien, welche vorherrschend waren. Daneben ließen sich einige grün verflüssigte Fluorescens- sowie *Megatherium*- und *Mesentericus*-Kolonien nachweisen.

Die Kulturen i. h. Schicht zeigten keine Gasbildung, dagegen war eine starke Trübung der Agarmasse wahrzunehmen. Von den 45 Kolonien, in der stärksten Verdünnung C, waren wenigstens 40 mehr oder wenige typische Güntheri-Kolonien, manchmal der Kokkenform sehr ähnlich, manchmal aber schön die zugespitzten

Stäbchen zeigend. Auch alle untersuchten Kolonien der A- und B-Kultur zeigten diesen Milchsäurebildner, woraus zu schließen ist, daß derselbe in den vorliegenden Kulturen fast ausschließlich enthalten war.

b) Labmagen. Die A-Platte war ganz verflüssigt von *Megatherium*, *Mycoides* und *Mesentericus*, die B-Platte zeigte nur einige wenige verflüssigte Kartoffelbacillen- und *Megatherium*-Kolonien, während die C-Platte steril geblieben war. Die Kulturen i. h. Schicht waren stark getrübt, ohne Gasbildung. Auch hier konnte das dem Güntheri-Typus entsprechende Stäbchen weit vorherrschend, ja fast ausschließlich, gefunden werden. Manchmal zeigte sich dasselbe stark zur Involution neigend. Neben großen, linsenförmigen Kolonien von typischen Güntheri kamen kleinere vor, und diese namentlich zeigten die krankhaften Formen.

c) Dünndarm. Die Platten waren auch hier vorzeitig verflüssigt, so daß eine nähere Untersuchung ebenso wie die Feststellung der Zahl nicht vorgenommen werden konnte. Die letztere dürfte derjenigen des Labmagens ungefähr gleich kommen. In der verflüssigten Gelatine waren *Megatherium*, *Mesentericus* und bewegliche, Coli-ähnliche Stäbchen mikroskopisch nachzuweisen.

Das A-Röhrchen der Kulturen i. h. Schicht ließ eine ganz zerrissene Agarmasse sehen, die B-Kultur enthielt nur 2 Kolonien von typischen Güntheri, während die C-Kultur steril geblieben war. Das in der A-Kultur gebildete Gas ist auf die Tätigkeit eines Coli-ähnlichen Kurzstäbchens zurückzuführen, das allerdings im hängenden Tropfen zunächst keine Bewegung zeigte. Bei Ueberimpfung auf Gelatinestrich wurde indessen nicht nur typisches Coli-Wachstum, sondern auch die charakteristische Bewegung erhalten.

d) Mastdarm. Die Platten waren zum Teil verflüssigt von *Megatherium*, *Mesentericus* und anderen Bodenbakterien. Ferner zeigten sich kleine, punktförmige Tiefenkolonien, welche zum Teil relativ dicke, unbewegliche, an *Aërogenes* erinnernde Kurzstäbchen, zum Teil aber lebhaft bewegliche Coli-Formen erkennen ließen.

In den Kulturen i. h. Schicht der A- und B-Verdünnung war etwas Gas gebildet, aber bedeutend weniger als bei den entsprechenden Dünndarmkulturen. Auch war eine starke Trübung der Agarmasse zu verzeichnen. Von den 15 Kolonien der B-Kultur sind nach mikroskopischer Untersuchung 12 Güntheri-Kolonien, während die anderen 3 Kolonien aus Polkappen zeigenden, unbeweglichen Kurzstäbchen bestanden.

Bei einer Uebersicht der Ergebnisse des II. Versuches sehen wir, daß dieser keine wesentlichen Unterschiede gegenüber dem ersten aufzuweisen hat. Auch hier eine ausgesprochene Entwicklung von Milchsäurebakterien im Pansen und zum Teil auch noch im Labmagen. Im Dünndarm treten neben Güntheri die Coli-Bakterien auf. Im Mastdarm steigt die Keimzahl wieder bedeutend, wenn sie auch gegenüber derjenigen im Pansen noch weit zurücksteht. Was die Platten betrifft, so scheinen hier die Bodenbakterien eine Hauptrolle gespielt zu haben, wenn auch zugegeben werden muß, daß durch ihre schnelle Verflüssigung das Aufkommen resp. der Nachweis von anderen Bakterienarten unmöglich gemacht worden ist. (Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Kenntnis der Geschwulstflora.

[Aus der Abteilung von Dr. Krajewski im Krankenhaus „Kindlein Jesu“ in Warschau.]

Von Dr. L. Karwacki, Warschau.

Mit 1 Tafel.

Durch die Erfahrungen meiner Vorgänger auf dem Gebiete der Parasitologie der bösartigen Geschwülste belehrt, habe ich als Ausgangspunkt meiner Untersuchungen die Erforschung der Flora der bösartigen

Geschwülste im allgemeinen gewählt, ohne beweisen zu wollen, daß dieser oder jene Mikroorganismus das spezifische und ausschließlich ätiologische Moment der Geschwulst sei. Angesichts des zwar berechtigten Skeptizismus gegen alle Untersuchungen, welche sich die Auffindung des ätiologischen Moments als Ziel gestellt haben, erachte ich diese Vorbemerkung als notwendig. Verschiedene Gründe haben mich dazu bewogen: Erstens scheint es mir — wenigstens zur Zeit — unmöglich, auf diesem Gebiete die von Koch für spezifische Infektionserreger gestellten Postulate zu erfüllen, nämlich experimentell bei Tieren durch Reinkulturen Geschwülste zu erzeugen. Wenn wir alle Versuche auf diesem Gebiete summieren, müssen wir offen gestehen, daß sie eher negativ ausgefallen sind, und diese Erfahrung konnte ich — ohne die Sache für die Zukunft vorausbestimmen zu wollen — nicht gering-schätzen. Andererseits hat mich die Literatur dieser Untersuchungen in der Ueberzeugung befestigt, daß viele Arbeiten auf diesem Gebiete gewissenhaft und technisch vollkommen ausgeführt waren und nur dadurch an Kredit verloren haben, daß die durch die Autoren gezogenen Schlüsse weiter reichten, als es das faktische Material, auf das sie begründet waren, erlaubte. Was aber die Ergebnisse dieser Arbeiten, nämlich die aus bösartigen Geschwülsten gezüchteten Parasiten, betrifft, so gehen sie manchmal diametral auseinander.

Die von mir gewählte Fragestellung befreit mich schließlich von der theoretischen Entscheidung der Frage, ob überhaupt in den bösartigen Geschwülsten irgend ein spezifischer Infektionserreger vorhanden sein kann.

Aus dieser Darstellung kann man schon leicht den Schluß ziehen, welchen Weg man bei solchen Untersuchungen wählen mußte. Die Untersuchungen müßten einen synthetischen Charakter tragen, da die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, daß man Protozoen, Pilze, Hefezellen und eigentliche Bakterien finden wird.

Deshalb habe ich verschiedene Arten von flüssigen Nährböden angefertigt: 1-proz. Peptonwasser, schwach alkalische Bouillon, Bouillon mit 2 Proz. Glukose und Weinsäure, 2-proz. Glycerinbouillon.

Ich habe Aussaaten in Kolben, welche 200—300 ccm des Nährbodens faßten, gemacht. Zu Aussaaten nahm ich große Stücke der Geschwülste, sterilisierte bald nach der Entfernung die Oberfläche in einer Bunsenflamme bis zur Bildung eines dicken Schorfes, dann schnitt ich sie mit erhitztem Messer durch, um die Osmose zu erleichtern, und brachte sie in den Nährboden oder ich schnitt nach der Verschörfung der Oberfläche mittels des Paquelinschen Apparates oder eines erhitzten Messers keilförmige Stücke, wenn die Geschwulst klein war.

Bei dieser Technik kamen Verunreinigungen durch gewöhnliche Saprophyten äußerst selten, nämlich 3mal, vor; bei einem Intestinaltumor, bei einem Enchondrom, wo das Durchschneiden nicht rasch genug ausgeführt werden konnte, und einmal bei der ersten Probe der Sterilisierung in einer Bunsenflamme, wo die Pinzette, in welcher ich die Drüse hielt, nur stark erhitzt war, aber nicht bis zum Glühen. Die Flüssigkeit trübte sich während der ersten 20 Stunden; solche Kulturen untersuchte ich gar nicht. In den übrigen Fällen entstand die Trübung oder ein flockiger Niederschlag am Boden erst am 2.—3. Tage, manchmal 5. Tage. Die Trübung entstand gewöhnlich plötzlich: Am Mittag war die Kulturflüssigkeit noch ganz durchsichtig und gegen Abend schon ganz trübe.



Dies trat am anschaulichsten in Glycerinbouillon hervor.

Diese Erscheinung ist ganz verständlich bei der Annahme, daß die Zahl der Parasiten in dem Geschwulstgewebe sehr gering ist. Wenn aber dem nicht so wäre, wäre es ein leichtes, sie unter dem Mikroskope bei entsprechender Färbung aufzufinden. Die Parasiten entwickeln sich erst dann energisch, wenn die Kulturflüssigkeit zu ihnen eindringt, und sie werden aus der Geschwulst befreit, wenn sich die nekrotischen peripherischen Teile lösen.

In allen meinen Fällen waren die Bösartigkeit und die Merkmale der Geschwülste durch histologische Untersuchungen von Frau Dr. Marie Zielińska festgestellt worden.

Die Untersuchungen, welche sich mit der Rolle der Protozoen bei der Tumorenbildung beschäftigen, tragen, die Arbeiten von Schüller ausgenommen, rein morphologischen Charakter; sie beschränken sich nämlich auf die Feststellung gewisser rätselhafter Einschlüsse in den Geschwulstzellen. In der vorliegenden Arbeit lasse ich diese Untersuchungen als rein histologische ganz beiseite. Schüller beschränkte sich nicht auf die Färbung von Präparaten und versuchte, Kulturen der vermutlichen Protozoen zu erhalten. Zu diesem Zwecke übertrug er Geschwulstteile in Probierröhrchen, wobei Abkühlung vermieden wurde, stellte sie in den Wärmeschrank und untersuchte jeden Tag ohne Färbung. Die Ergebnisse seiner Untersuchungen waren äußerst interessant.

Zunächst fiel Schüller die hellgelbe bis braune Farbe dieser Gebilde auf, welche sich scharf von der blassen Farbe der Zellen abhob.

Außerdem hatten diese Gebilde eigentümliche Formen. Die kleinen gelben Kugeln betrachtet Schüller als junge Parasiten. Die großen gelbbraunen, in der Mitte gekörnten, doppelt konturierten Gebilde, an denen papilläre Erhabenheiten zu bemerken waren, hält er für reife Parasiten. Die Hülle ist an der ganzen Zirkumferenz mit Poren versehen. Die reifen Gebilde können sich inkapsulieren und Sporen bilden. Kolonien reifer Parasiten sitzen in den dichten bindegewebigen Maschen, welche zwischen die Zellen eingekleilt sind. Bei der Maceration des Gewebes fallen die lose verbundenen Kapseln aus. Die einen sind schon leer, die anderen tragen in den Maschen vereinzelt Parasiten.

In Peptonwasser habe ich in allen Fällen, wo die Aussaat in bakteriologischer Hinsicht steril ausfiel, die Schüllerschen Parasiten in allen Stadien ihrer Entwicklung beobachtet. Es ist schwer, zu beurteilen, ob wirklich zwischen diesen morphologisch so verschiedenartigen Gebilden eine genetische Verwandtschaft vorhanden ist. Die runden hellgelben Gebilde, welche Schüller für junge unreife Parasiten hält, könnte ich auf Grund meiner Untersuchungen zu jener Gruppe zählen, von der ich unten sprechen werde, denn sie teilen sich durch Knospung. Was andere Bilder betrifft, so bin ich einstweilen nicht im stande, ihre Entstehung aufzuklären: Es ist möglich, daß es Protozoen sind; es ist aber auch die Erklärungsweise zulässig, daß es Produkte der Degeneration und des Zellenzerfalls sind, welche sich unter speziellen Bedingungen, Asepsis und Temperatur von 38°, gebildet haben. Diese Bilder habe ich ausschließlich in ungefärbten Präparaten bei der Untersuchung im hängenden Tropfen beobachtet. So oft ich die Präparate fixiert und gefärbt habe, verschwand alles, wie bei Berührung mit einem Zauberstabe, und das mikroskopische Bild setzte sich ausschließlich aus beschädigten, schlecht und metachromatisch sich färbenden Geschwulst-

zellen zusammen. Ich muß bemerken, daß diese Gebilde ausschließlich aus den Neubildungsgeweben entstehen. Die Untersuchung anderer Gewebe, welche ich von Tieren entnahm und in dieselben kulturellen Bedingungen versetzte, haben morphologisch abweichende Ergebnisse geliefert.

Deshalb wundere mich die unverdienten Angriffe der Anatomic-Pathologen auf Schüller, deren keiner sich die Mühe gegeben hat, persönlich seine Untersuchungen zu prüfen. Dieser Umstand hat sie aber nicht gehindert, z. B. Lubarsch, über Schüller zu lachen und zu behaupten, er habe Korkzellen gesehen.

Ich wiederhole, daß Schüller eine reelle Erscheinung beobachtet und sie ganz genau beschrieben hat, ohne der Phantasie freien Lauf zu lassen. Es fehlten ihm aber Belege, welche die Genese dieser Gebilde erklären und speziell sie als spezifische Parasiten zu erklären erlaubten.

In zuckerhaltigen bzw. sauren Nährböden habe ich die Entwicklung anderer Gebilde beobachtet; es waren dies gelbe, einfach konturierte Kügelchen verschiedener Größe — von sehr kleinen bis zu den Dimensionen eines Erythrocyten. Diese Kugeln vermehrten sich im Innern der Neubildungszellen, wie die Untersuchung in ungefärbten Tropfen ergab. Oft waren ganze Zellenhaufen förmlich mit ihnen besät. Viele waren frei. Ein Teil dieser Gebilde war im Begriffe, sich durch Knospung zu vermehren.

Die von mir unter dem Mikroskope beobachteten Bilder geben ganz genau die in der Arbeit von Leopold enthaltene Beschreibung dieser Erscheinung wieder.

Die in den sogenannten Körnchenzellen enthaltenen Körner wiesen nur die drehende Bewegung, von welcher Leopold erwähnt, nicht auf. Bei der Zugabe eines Tropfens Lauge lösten sich die Gewebselemente auf und die Massen gelber Körnchen traten noch deutlicher hervor.

Diese Gebilde wuchsen nicht im Peptonwasser und ließen sich gut auf Bouillon, speziell zuckerhaltiger, überimpfen. Sie trübten die Nährbouillon nicht und wuchsen am Boden als amorpher oder flockiger Niederschlag. Auf Agar und Gelatine wuchsen sie als feuchter grauweißer Belag.

Auf Kartoffeln war das Wachstum mäßig.

Die zweite Generation, besonders auf festen Nährböden, zeichnete sich durch gleichmäßige Größe, etwa eines kleinen Lymphocyten, aus; kleine Körnchen waren gar nicht vorhanden.

Quantitativ waren alle folgenden Kulturen bedeutend ärmer an Mikroorganismen als die erste, welche das Geschwulstgewebe enthielt. Man könnte daraus schließen, daß in den Mikroorganismen, dank der Anpassung an den Parasitismus, das Vermögen außerhalb des Organismus zu vegetieren abnimmt.

Die Parasiten färben sich nach Gram und mit allen Anilinfarben. Die Hüllen treten deutlich hervor, wenn man die Präparate vor der Färbung in 1-proz. Essigsäure bringt.

Der Vergleich mit den mir gefälligst von den Autoren übersandten Blastomycetenkulturen von Sanfelice, Plimmer und Leopold zeigt, daß meine Parasiten mit der Leopold'schen Kultur am meisten gemeinschaftliche Merkmale aufweisen.

Es entsteht die Frage, in welche Gruppe man diese Gebilde unterbringen soll. Das Aussehen, der Teilungsmodus, das Fehlen von Hyphen zwingen, sie zunächst in den wenig wissenschaftlichen Rahmen der Blastomyceten unterzubringen.

Beim Studium, welchen Einfluß die Sera von mit Geschwülsten behafteten Kranken auf Aufschwemmungen dieser Mikroorganismen ausüben, habe ich keine Antikörper festgestellt.

Ich habe zwei solche Abarten gezüchtet. Die Aussaat der Drüsen von einem Falle von Gebärmutterkrebs hat in der ersten Kultur ausschließlich gleichartige Gebilde geliefert. Nach der Ueberimpfung auf Kartoffelabkochung mit 1 Proz. Pepton sind außer kugeligen Gebilden auch Stäbchen ausgewachsen. Die Stäbchen vereinigten sich in lose gebundene und leicht zerfallende Hyphen. Die runden Gebilde stellten sich ohne Färbung homogen dar. Außer großen länglichen Gebilden waren auch kleine, stark lichtbrechende Gebilde vorhanden. Bei Doppelfärbung (Ziehl, 2-proz. Anilinchlorid, Alkohol, Wasser, Methylenblau) färbten sich die Stäbchen blau, die Körnchen rot und die runden Gebilde färbten sich nur an der Peripherie rot, so daß sie wie leere ovoide Säckchen aussahen. Manche Säckchen hatten an beiden Polen blau sich färbende Massen, ein kleiner Teil färbte sich nicht rot, sondern schwach blau oder violett. Die Stäbchen hatten in der Mitte eine ungefärbte Zone. Die runden roten Körnchen stellen möglicherweise Sporen dar, aus welchen sich jene ovalen Gebilde zu bilden scheinen. Die Säckchen mit polständigen blauen Massen stellen gewissermaßen Uebergänge zu den Stäbchen dar.

Diese Angaben stehen aber keineswegs fest und die Aufklärung der Morphologie des Pilzes bedarf noch weiterer Untersuchungen.

Einstweilen will ich nur auf die auffallende Aehnlichkeit dieser Gebilde zu den Plimmerschen Körperchen, jenen rätselhaften Einschlüssen, welche wir in den Geschwulstzellen antreffen, hinweisen. Bei Färbung mit Hämatoxylineosin oder Ehrlichs Triacidlösung färben sich die „Säckchen“ protoplasmatisch und erinnern außerordentlich an jenen Typus von Zelleinschlüssen, welche unter dem Namen „Plimmersche Körperchen“ bekannt sind.

Wenn wir annehmen, daß dieser Pilz im Organismus gar keine Hyphen bildet, was gewissermaßen das Ergebnis der Aussaaten bestätigt, so ist die Aehnlichkeit groß, jedenfalls viel größer als mit degenerierten Hefezellen, für welche gewisse Forscher die Plimmerschen Körperchen halten.

Ich will auf Grund dieser morphologischen Aehnlichkeit nicht den Schluß von der Identität ziehen, bis es mir nicht gelingen wird, Plimmersche Körperchen im Organismus nach Infektion mit Reinkulturen zu erhalten.

Auf Kartoffeln wuchs der Pilz ausschließlich in der Form von Hyphen.

Ohne Sauerstoffzutritt wuchs die Kultur sehr spärlich ausschließlich in Form der Stäbchen und Sporen.

Mein Pilz stellt gewisse Analogieen mit den von Bra entdeckten Parasiten dar. Bra erwähnt aber gar nichts von den charakteristischen tinktoriellen Eigenschaften, welche bei meinem Pilze hervortreten. Aehnliche tinktorielle Eigenschaften zeigt das durch Bourignon aus dem Rachen eines Kranken gezüchtete Oidium. In diesem Falle waren auch ovale Zellen neben Stäbchen vorhanden und färbten sich ebenfalls nur auf der Peripherie. Bourignon betrachtete diese Körperchen als Sporen.

In manchen Aussaaten in Nährbouillon mit Traubenzucker oder Glycerin entwickelten sich neben Hefen noch andere Mikroorganismen,

und zwar in einer sie beträchtlich überwiegenden Zahl, wobei sich die Bouillon auffällig trübte. Im hängenden Tropfen beobachtete man unter dem Mikroskope Körnchen von der Größe der Staphylokokken vereinzelt oder zu zweien, manchmal in größeren Haufen, manchmal zu verschiedenen langen sich verzweigenden oder verschlingenden Ketten vereinigt. Es überwiegen vereinzelt und doppelte Körner.

Es ist mir gelungen, diese Mikroorganismen auf gewöhnliche Nährböden zu überimpfen.

Ich führe hier die Beschreibung der Fälle nebst Ergebnissen der Aussaaten an.

I. Sarkom aus der Gegend des Vas deferens. Während 3 Tagen „Parasiten“ von Schüller. Nach 3 Tagen Kultur von Kokken.

II. Sarkom der Weichteile des Oberschenkels. Nach 2 Monaten Exitus letalis wegen Hirnmetastasen. Nach 2 Tagen Kultur von Kokken und Hefen.

III. Sarkom mit Herden in den Lungen, Pleura unter der Schädelhaut in den Muskeln der Innenseite des Oberschenkels. Der Kranke ist gestorben. Nach 5 Tagen Schüllers „Parasit“. Dann reichliches und plötzliches Wachstum von Kokken.

IV. Aus dem intermuskulären Bindegewebe ausgehendes Sarkom. Die Kultur ist steril. In dem beim Zentrifugieren erhaltenen Bodensatz wurden nach Gram färbare Kokken gefunden.

V, VI. Fibrome der Weichteile. Sterile Aussat.

VII. Osteochondrom. Verunreinigte Kultur.

VIII. Carcinom der Unterlippe. Nur Eiter aus der Ulceration ausgesät. *Staphylococcus aureus* und *Sarcina flava* gewachsen.

IX. Carcinom der Unterlippe. Eine Submaxillardrüse extirpiert. In der Drüse wurde Eiter gefunden. Im Präparate aus dem Eiter zahlreiche kugelige Gebilde von Aussehen und tinktoriellen Eigenschaften der Hefezellen. Sterile Aussaat.

X. Wandständiges Carcinom des Dünndarms. Kultur durch *Coli-Bacillen* verunreinigt, trotzdem die Oberfläche mit Paquelin sehr sorgfältig verbrannt wurde.

XI. Metastatisches Carcinom des Peritoneums. Bei der Probe-laparotomie 2 Knötchen extirpiert. In der Kultur spärliche Kokken und Hefezellen. Nur die letzteren gelang es mir zu überimpfen.

XII. Nierencarcinom mit zahlreichen Metastasen. Der Kranke bald nach der Operation gestorben. In gewöhnlicher Nährbouillon Kokken am 2. Tage; in Glycerinbouillon Trübung am 4. Tage. Außer Kokken spärliche Hefezellen. Außer der primären Geschwulst habe ich aus zwei Drüsenmetastasen Kulturen angelegt. Eine Kultur war verunreinigt, in der anderen waren die Ergebnisse dieselben wie in der Kultur aus der Niere. Ich habe beide Mikroorganismen gezüchtet und isoliert.

XIII. Hirntumor. Zu Untersuchungszwecken wurde eine Halsdrüse extirpiert und ausgesät. Am 5. Tage Trübung in Glycerinbouillon. Kokken gezüchtet.

XIV. Gebärmutterkrebs. Drüsenteile ausgesät. Gewachsen Kokken und ein Pilz. Beide Mikroorganismen wurden isoliert.

Im Falle III habe ich außer den Geschwulstteilen auch das hämorrhagische Pleuraexsudat und im Falle XI die aus der Bauchhöhle erhaltene Flüssigkeit ausgesät. Beide Aussaaten blieben steril. Aus diesen beiden Untersuchungen könnte man schließen, daß die Kokken

bei Geschwulstkranken mit dem Geschwulstgewebe eng verbunden sind und daß sie in die Flüssigkeiten des Organismus nicht übergehen.

Im allgemeinen ist mir bis jetzt gelungen, 6 Kokkenstämme zu züchten, die nach ihrem mikroskopischen Aussehen ähnlich sind, sich aber durch ihr Verhalten gegen Nährböden unterscheiden.

In Peptonwasser, gewöhnlicher oder Glycerinbouillon gab Stamm III (Fall III) während 24 Stunden geringen flockigen Bodensatz; Trübung der ganzen Kulturflüssigkeit entstand nach 48 Stunden. Nach 4 Tagen fing die Trübung an, sich zu klären und nach einer Woche sanken alle Mikroorganismen als feiner flockiger Niederschlag zu Boden. Die Reaktion des Nährmediums blieb schwach alkalisch.

Die Stämme I (Fall I), IV (Fall XII), V (Fall XIII) und VI (Fall XIV) gaben schon nach 24 Stunden eine allgemeine Trübung; außerdem entstand ein flockiger Bodensatz. Stamm II (Fall II) stellte gewissermaßen einen Uebergang zwischen dem III. und den übrigen dar. Die Kulturen dieser Stämme klärten sich im Laufe von 2—4 Wochen.

Auf schrägem Agar gab Stamm III makroskopische Kolonien nach 2—3 Tagen. Die Kolonien waren grau, durchsichtig, von der Größe eines Stecknadelkopfes, mit wenig ausgesprochener Tendenz, zu konfluieren. Beim Herabnehmen mit einer Platinnadel erwies sich die Kultur nicht klebrig.

Stamm II gab makroskopisch schon nach 24 Stunden vereinzelte Kolonien von oben erwähntem Charakter. Nach 48 Stunden konfluieren die Kolonien zu grauweißem durchscheinenden Belage. Beim Herabnehmen mit einer Platinnadel zog sich der Belag in klebrige Fäden aus.

Die Stämme I, IV, V und VI gaben reichlichen Belag schon nach 24 Stunden. Der Belag wies dieselben Eigenschaften wie beim Stamme II auf und war ebenso klebrig beim Herabnehmen mit einer Platinnadel.

Die im Kondenswasser der Agarkultur wachsenden Mikroorganismen des Stammes III wiesen im hängenden Tropfen auffallend kettenförmige Anordnung auf: sehr oft bildeten die Ketten geschlossene Ringe; in anderen Stämmen erinnerte die Anordnung der Kokken sowohl an Staphylo- wie Streptokokken.

Auf schrägem Agar mit Blutzusatz gaben alle Stämme reichliches Wachstum und ließen dabei schwache hämolytische Wirkung wahrnehmen.

Stämme II und III wuchsen auf Nährgelatine nicht.

Andere Stämme gaben makroskopische Kolonien nach 2—3 Tagen. Bei schwacher Vergrößerung hatten die Kolonien kugelige Form mit regelmäßigen Umrissen und körnigem Inhalte. In Strichkulturen auf Gelatine war das stärkste Wachstum bei der Stichöffnung und an der Oberfläche. Stamm VI verflüssigte die Gelatine nach 3 Tagen; I, IV und V fingen erst am 10. Tage an, die Gelatine zu verflüssigen.

Auf bei 70° erstarrtem menschlichen Serum mit 2 Proz. Glycerinzusatz wuchsen alle Stämme schwach; auf bei 100° erstarrtem Serum war das Wachstum besser, aber weniger reichlich als auf gewöhnlichem Agar (den Stamm III ausgenommen, welcher sich auf diesem Nährboden besser entwickelte als auf Agar).

Auf Kartoffeln wuchsen die Stämme I, IV und V reichlich in Form eines farblosen, sehr feuchten Belages; der Stamm III hatte dieselben Merkmale, aber die Vegetation war spärlicher und Stamm II entwickelte sich gar nicht. Stamm VI wuchs auf Kartoffeln mäßig in Form eines feinen weißen Häutchens.

Stamm VI brachte Milch nach 24 Stunden zur Gerinnung; das Gerinnsel war homogen und es schied sich Serum ab; das Gerinnsel löste sich auch nach 2 Wochen nicht auf.

Stämme I, IV, V brachten Milch nach 4 Tagen zur Gerinnung. Kulturen des Stammes II blieben selbst nach 2 Wochen flüssig. Stamm III rief feine Gerinnsel nach 8 Tagen hervor; nach 14 Tagen war die Gerinnung vollständig. Kulturen des Stammes II hatten alkalische Reaktion, alle anderen schwach sauer. Das geronnene Kasein peptonisierte sich nicht. Alle Stämme wuchsen ohne Sauerstoffzutritt ziemlich gut.

Wie lange die Mikroorganismen auf Nährböden ihre Vitalität bewahren, kann ich nicht bestimmen: Bei meinen Versuchsbedingungen ließen sich 2-monatige Agarkulturen ganz gut überimpfen.

Beim Erwärmen während 1 Stunde auf 50° wurde Stamm III nicht mehr überimpfbar; alle anderen blieben sogar nach 1-stündiger Erwärmung auf 55° lebensfähig. Bei 1-stündiger Erwärmung auf 60° gingen alle Stämme unter.

Untersuchungen über die Pathogenität dieser Stämme für Tiere beabsichtige ich eine besondere Arbeit zu widmen.

Schon nach der Beendigung der vorliegenden Arbeit hat mir Dr. Doyen 2 seiner aus Fällen von Mamma- und Ovarienkarzinom gezüchtete Stämme übersandt. Beide Stämme haben sich als identisch mit meinen Stämmen I, IV und V erwiesen.

Ich habe schon oben vom Aussehen meiner Kokken unter dem Mikroskope berichtet; ich muß hier nur bemerken, daß Stamm III öfter als andere eine streptokokkenähnliche Anordnung aufwies. Geschlossene Ketten in der Form von Ringen habe ich nur bei dieser Varietät angetroffen.

Stämme I, II, IV und V wiesen Staphylo- und Streptokokkenanordnung der einzelnen Körner auf: in flüssigen Medien war der zweite Typus, auf festen der erste vorwiegend. Die einzelnen Kokken waren beim Stamme II größer als bei anderen Varietäten.

Die Kokken färben sich nach Gram und mit allen Anilinfarben.

Die Mikroorganismen hatten, Varietät VI ausgenommen, spontane Bewegungen. Diese Fähigkeit war am meisten bei Individuen der ersten Kultur ausgesprochen. In den darauffolgenden Kulturen waren die Bewegungen schwächer; jedenfalls unterscheiden sie sich auch dann deutlich von Molekularbewegungen.

Nach der Feststellung der Merkmale der Mikroorganismen war ich bestrebt, die Frage aufzuklären, ob im Serum von Geschwulstkranken spezifische Agglutinine gegen die Kokken vorhanden sind. Ich habe mit der Untersuchung normaler Sera und Sera von Kranken mit Infektionskrankheiten, wie Typhus, Tuberkulose, Pyämie begonnen. Die Untersuchungsergebnisse haben sich für verschiedene Stämme und verschiedene Sera different erwiesen. Die Stämme I, IV und V wurden durch die Mehrzahl der untersuchten Sera agglutiniert, manchmal in Verdünnung bis 50. Verschiedene Stämme gaben mit demselben Serum verschieden starke Reaktion. Die Mehrzahl der Sera agglutinierte nicht den Stamm II und kein verdünntes Serum agglutinierte den Stamm III. Mit reinem Serum fiel aber die Reaktion manchmal positiv aus. Ich meinte folglich, daß nur dieser einzige Stamm zum Nachweis der spezifischen Agglutination verwendet werden konnte. Ich untersuchte die Reaktion derart, daß ich eine 48-stündige Bouillonkultur mit gleicher Menge ver-

dünnten Serums zusammenbrachte und auf 10 Stunden in den Wärmeschrank stellte. Eine mikroskopische Reaktion auf Deckgläschen konnte ich nach 2 Stunden kein einziges Mal feststellen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen waren folgende:

Sarcoma generalisatum. Serum agglutiniert nach 10 Stunden in 100-facher Verdünnung.

Carcinoma peritonei. Agglutination mit der ascitischen Flüssigkeit in 150-facher Verdünnung. Die Flüssigkeit wurde einige Wochen lang aufbewahrt und enthielt Agglutinoide, welche die Reaktion bis zur 10-fachen Verdünnung hemmten.

Carcinoma labii inferioris. Agglutination bei 320-facher Verdünnung.

Osteosarcoma — nur unverdünntes Serum agglutiniert.

Osteosarcoma maxillae inferioris (?) — Serum agglutiniert nicht.

Tumor pelvis. Die primäre Knochengeschwulst stammt aus dem Becken.

Sekundäre Geschwülste im Omentum. Agglutination fehlt.

Tumor cerebri (Natur der Geschwulst nicht aufgeklärt), Agglutination fehlt.

Carcinoma renis generalisatum. Agglutination bei Verdünnung 40. Untersucht 1 Woche vor dem Tode.

Sarcoma pelvis (aus der Privatpraxis) Diagnose durch Prof. Przewoski auf Grund der Probepunktion bestätigt. Agglutination bei 40.

Carcinoma oesophagi. Agglutination bei Verdünnung 15.

Carcinoma vesicae urinae. Agglutination bei Verdünnung. 1:50.

Carcinoma glandularum supraclavicul. recidivans post ablationem mammae. Agglutination positiv 1:100.

In 4 Fällen von benignen Fibromen, in 2 Fällen Cystoma ovarii war das Ergebnis negativ.

Die spezifische Agglutination kommt, wie aus diesen Beobachtungen ersichtlich, ausschließlich in Fällen von malignen Tumoren, die Knochenprozesse ausgeschlossen, vor und kann zu diagnostischen Zwecken verwendet werden. Nicht alle aus Tumoren gezüchtete Kokkenstämme eigneten sich aber zur Prüfung der Reaktion und nicht deshalb, weil sie auf die Sera nicht reagierten, aber im Gegenteil, weil sie sogar gegen normale Sera sich empfindlich erwiesen.

Während 2-monatlicher Überimpfung erlitten die Eigenschaften des Stammes III gewisse Veränderungen. Dieser Stamm gibt jetzt üppigeres Wachstum auf Agar und das Aussehen der Kolonien wird den Varietäten I, IV und V ähnlich. Die Kolonien beginnen schon zu konfluieren und bilden einen grau-weißen Belag. Gleichzeitig hat der Stamm III seine Agglutinabilität vermehrt und beginnt schon unter dem Einflusse nicht spezifischer Sera zu agglutinieren.

Dank der Liebesswürdigkeit des Doktors Doyen, welcher mir ein wenig seines „antineoplastischen“ Serums eingeschickt hat, war ich imstande, eine Reihe von Agglutinationsversuchen auch mit spezifischem tierischen Serum auszuführen. Ich habe festgestellt, daß dieses Serum seine beiden Stämme und meine I, IV, V nach 24 Stunden bis zur Verdünnung 500 agglutiniert, dagegen normales Pferdeserum, antituberkulöses und antityphöses Serum nur bis zur Verdünnung 50. Stamm II gibt jetzt in Kulturen spontane Sedimentation und eignet sich deshalb nicht zu den Experimenten; Stamm III gab mit dem Doyenschen Serum Niederschläge in Verdünnung 2000 und mit normalem Pferdeserum bis zur Verdünnung 500. Den Stamm VI agglutiniert das Doyen-

sche Serum in Verdünnung 1000 und normales Pferdeserum nur bis zur Verdünnung 25.

Die spezifische Agglutination ist für mich ein zweifelloser Beweis der pathogenetischen Wirkung der Kokken. Ob wir Doyen beistimmen werden, daß diese Mikroorganismen die Urheber der Geschwülste sind, oder sie, wie mir scheint, vielmehr als eine Komplikation der malignen Tumoren zu betrachten sind, müssen wir zugeben, daß ihre pathogenetische Wirkung bei den Intoxikationen, welche im Verlaufe der Tumoren auftreten, eine bedeutende Rolle spielt. Und deshalb muß die Geschwulsttherapie mit ihnen rechnen.

Die Bekämpfung der Kokken kann entweder auf dem Wege der Serotherapie geführt werden oder durch Immunisierung des Organismus mit spezifischen Proteinen. Da ich nicht im Besitze genügender Mengen des Serums war, habe ich mit aktiver Immunisierung in einigen Fällen, welche sich zur chirurgischen Intervention nicht eigneten, begonnen.

Ich kann die therapeutischen Resultate einstweilen noch nicht beurteilen. Es sind mir aber gewisse Folgen der Immunisierung aufgefallen, welche für die pathogenetische Bedeutung der Kokken sprechen.

Erstens tritt nach der Einspritzung des Impfstoffes, welcher aus getöteten Parasiten besteht, in der Regel eine Temperatursteigerung in den Grenzen von 0,3—1,0° ohne irgend welche lokale Reaktion. Zweitens treten nach einigen Einspritzungen im Erkrankungsherde entzündliche Erscheinungen in der Form einer diffusen Infiltration, welche die Umrisse der Geschwulst verwischt. Nach einigen Tagen verschwindet der entzündliche Zustand und die Geschwülste verkleinern sich.

Ich führe diese Tatsache nur aus pathogenetischen Gründen an. Die therapeutischen Resultate werde ich erst nach länger dauernder Observation und Sammlung eines größeren kasuistischen Materials veröffentlichen.

In welcher Parasitengruppe sollen diese Kokken gerechnet werden? Mit Streptokokken verbindet sie die kettenförmige Anordnung, welche sehr deutlich in alten Bouillonkulturen auftritt. Nur der Stamm VI stellt in dieser Hinsicht eine Ausnahme dar. Dieser Typus stammt aber von einer ulcerierten Geschwulst und muß, obwohl er aus einem metastatischen Herde gezüchtet war, eher als ein zufälliger Parasit betrachtet werden. Sie unterscheiden sich aber von Streptokokken vollständig durch das Aussehen der Agarkulturen, das Wachstum auf Kartoffeln und Gelatine. Die letztgenannten Eigenschaften erlauben die Parasiten zu der Familie der Staphylokokken als eine autonome Gruppe von ganz bestimmten biologischen Eigenschaften zuzurechnen.

Da die von mir gezüchteten Stämme gewisse Unterschiede aufweisen, entsteht die Frage, ob man alle diese Stämme zu einer gemeinschaftlichen Gruppe rechnen kann. Es scheint mir, daß man diese Frage aus dem Grunde bejahen kann, daß die Unterschiede nicht qualitativer, sondern quantitativer Natur sind und daß diese Unterschiede sich beim Stamme III während des 2-monatlichen Wachstums auf künstlichen Nährboden verwischt haben. Beim Resumé der Ergebnisse meiner Aussaaten habe ich verzeichnet, daß es mir oft nicht gelang, eigentliche Kulturen zu erhalten, dafür habe ich Kokken im zentrifugierten Bodensatz mikroskopisch nachgewiesen; weiter habe ich bemerkt, daß es mir gelungen war, eine Kultur im Kölbchen mit Geschwulstteilen zu erhalten, aber die weitere Ueberimpfung mißlang. Diese Tatsachen beweisen, daß man in Geschwülsten Kokken von ver-



schiedener Vegetationsfähigkeit antrifft, was selbstverständlich auf die Ergebnisse und Merkmale der Kulturen bei weiteren Ueberimpfungen von Einfluß ist.

Die Varietät VI stellt gewissermaßen einen Uebergang zwischen den in den Geschwülsten angetroffenen Kokkengruppen und dem *Staphylococcus albus* dar.

Durch ihre Verwandtschaft mit den Saprophyten der menschlichen Haut und den in Geschwülsten vorkommenden Kokken klärt sie bis zu einem gewissen Grade die Entstehung jener Mikroorganismen und die Wege, auf welchen sie in den Organismus eindringen, auf.

Ich habe in der Literatur eine Erwähnung von Kokken getroffen, welche sich zu Diplokokken gruppieren und langsam auf Glycerinagar als graue, halb durchsichtige Niederschläge, welche zu Belägen konfluieren, wachsen. Dieser Belag ist beim Herabnehmen mit einer Platinnadel fadenziehend. Die Kokken wachsen gut in der Milch, ohne ihre Reaktion zu verändern. Dieser Mikroorganismus erinnert vollständig an meinen Stamm II und war in Hautschuppen, auf den Schleimhäuten, im Blute (die Technik der Aussaaten nicht angeführt) bei Scharlachkranken gefunden. Claes, welcher ihn entdeckt hat, betrachtet ihn als das ätiologische Moment des Scharlachs. Dieser letztere Umstand ist für mich nicht von Wichtigkeit; ich bemerke nur, daß Kokken von ähnlichen (wenn nicht identischen) zu dem in Geschwülsten angetroffenen Typus auf normaler und kranker menschlicher Haut vorkommen können.

Unter gewissen Umständen können die Kokken in den Kreislauf übertreten. Claes hat aber festgestellt, daß sie im Kreislaufe nur kurze Zeit existieren können; später gehen sie zu Grunde, wie Claes meint, spezifischen Eigenschaften des Blutes zufolge.

Eine andere Beobachtung in dieser Richtung führt Doyen an: Bei einer Kranken, die gar keine Zeichen einer beginnenden Neubildung bot, ist ohne (greifbare) Ursache ein Ausfluß aus der Brustwarze entstanden. In diesem Ausflusse hat Doyen seine Kokken in Reinkultur gefunden.

Es scheint mir also die Vermutung wahrscheinlich, daß verschiedene Varietäten der Hautsaprophyten aus der Familie der Staphylokokken, welche in gewisse Geschwulstarten durch den Kreislauf oder durch die unbeschädigte Haut aus der Umgebung eingedrungen waren, sich dort niederlassen. Ihre parasitische Reaktion kann sowohl auf die weitere Evolution der Geschwulst wie das Schicksal des ganzen Organismus einen Einfluß ausüben.

Die parasitische Lebensweise — durch Anpassung — verändert gewissermaßen die biologischen Eigenschaften jener Mikroorganismen. Deshalb erhalten wir bei Aussaaten von Geschwülsten Unterschiede in den Kulturen. Nur weitere, auf großem Material von Neubildungen unternommene Untersuchungen können die Frage aufklären, ob diese mit der Mischinfektion bei Infektionskrankheiten vergleichbare Komplikation der Geschwulste spezifisch ist und ob noch andere Familien von Mikroorganismen ähnlichen Einfluß ausüben können.

Zur Zeit aber erlauben: die Konstanz der bei Aussaaten erhaltenen Ergebnisse, die Agglutinationsversuche und die Immunisierungsversuche — die Doyenschen Kokken für eine spezifische Komplikation der Geschwulste, mit stark ausgeprägten pathogenetischen Eigenschaften, zu betrachten.

Vielleicht ist die ganze „Bösartigkeit“ gewisser Geschwülste durch den Einfluß der Kokken bedingt. Es ist dies aber nur eine Vermutung und ganz unmöglich erscheint es, die ganze Theorie von der ätiologischen Rolle der Kokken bei der Entstehung der bösartigen Geschwülste ausschließlich in verba magistri anzunehmen. Und selbst der Name „*Micrococcus neoformans*“ scheint mir ungenügend begründet zu sein, und deswegen möchte ich einen anderen, den des *Micrococcus Doyeni*, vorschlagen.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Chef, Herrn Dr. Krajewski, für das mir gütigst zur Verfügung gestellte Material meinen aufrichtigsten Dank abzulegen.

#### Erklärung der Tafel.

Fig. 1. 2-tägige Kultur in Glycerinbouillon aus einem Fall von Sarkom. *Micrococcus Doyeni* und eine Hefezelle. Färbung nach Gram. Ok. 6. Immersion  $\frac{1}{16}$  (Stiassnie).

Fig. 2. 10-tägige reine Kultur in Glycerinbouillon von *Micrococcus Doyeni*. Färbung mit Karbolfuchsin.

Fig. 3. 2-tägige reine Kultur auf Agar von *Micrococcus Doyeni*. Färbung nach Gram.

Fig. 4. 4-tägige reine Kultur auf Agar von Blastomyceten. Färbung mit Karbolfuchsin.

Fig. 5. Dieselbe Kultur. Färbung: Heißes Karbolfuchsin, Anilinchlorid, Alkohol, Wasser, Methylenblau.

Fig. 6. 4-tägige reine Kultur auf Agar von *Oidium* (Fall XIr). Färbung wie 5.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal

### Acidophile Bakterien.

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

Von S. S. Mereshkowsky.

Mit 1 Tafel.

Verschiedene Kavitäten und Kanäle des Tierkörpers, wie z. B. die Harn-, Gallenblase, die Samenbläschen, die feinen Bronchen, die Alveolen, der Uterus, die Harnröhre, die Scheide, die Nasengänge u. s. w. bleiben, obgleich sie mit verunreinigten Medien kommunizieren, oder manchmal sogar sich mit denselben in unmittelbarer Berührung befinden, entweder vollständig frei von Mikroorganismen, oder enthalten solche nur in einer verhältnismäßig geringen Anzahl. Der Mechanismus dieser Erscheinung ist uns vorläufig wenig verständlich, aber es unterliegt keinem Zweifel, daß er eine große Rolle beim Schutze der Tiere gegen Infektionen spielt.

In vollem Widerspruche hiermit befindet sich der Darmkanal, in welchem, wie absichtlich, günstige Lebens- und Vermehrungsbedingungen für die Mikroorganismen vorhanden sind, woher ihre Anzahl hier, nach den Untersuchungen verschiedener Autoren, außerordentlich groß ist. So bilden sie nach Strasburger<sup>1)</sup>  $\frac{1}{3}$  des Trockengewichtes der Exkreme.

1) Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. XLVI. 1902. p. 413.

Fig. 1.



Fig. 2.

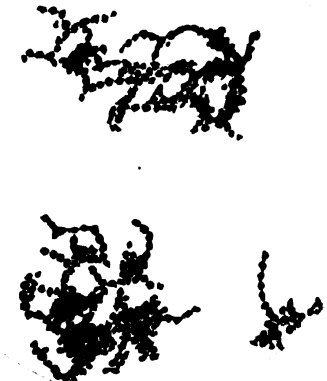


Fig. 3.

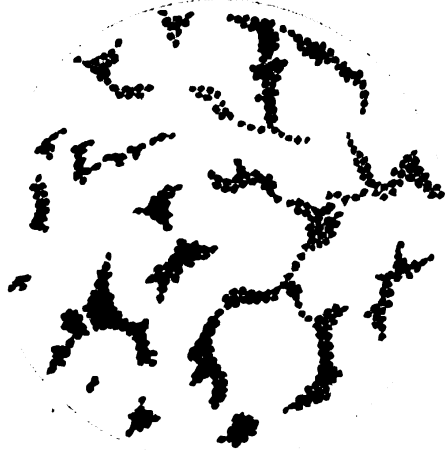


Fig. 4.

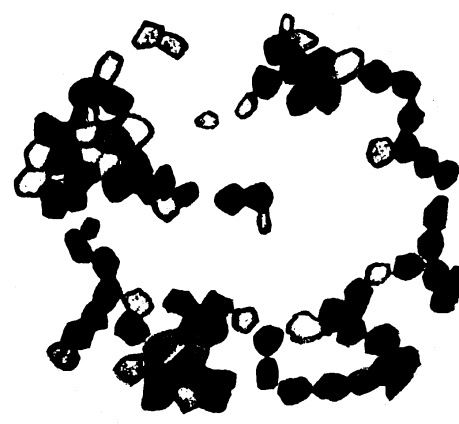


Fig. 5.

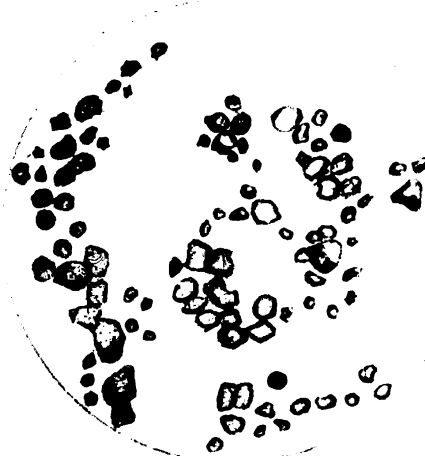


Fig. 6.



Karwacki del.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith., Jena.



Anfangs, als die Physiologie des Verdauungsprozesses noch wenig erforscht war, glaubte man, daß die Anwesenheit von Bakterien im Darne mit der Verdauung im Zusammenhang stehe. Die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen schienen gewissermaßen diese Annahme zu bestätigen, da einige Darmbakterien sich als befähigt erwiesen, in den Nahrungsmitteln den beim Verdauungsakte vorgehenden analoge Veränderungen hervorzurufen. Diese Annahme verlor aber sehr bald ihre Begründung, als es bekannt wurde, daß der Darmkanal mit ausgezeichnet eingerichteten Apparaten zur Produktion verschiedenartiger, außerordentlich wirksamer Enzyme ausgestattet ist, vor denen die fermentative Bedeutung der Bakterien vollständig zurücktritt.

Zufolge einer anderen Annahme sollen unter den Darmbakterien sich Arten befinden, welche durch die Produkte ihrer Lebenstätigkeit die Entwicklung pathogener oder anderer, aus irgend einem Grunde unerwünschter Mikroorganismen behindern und auf diese Weise, ohne Hervorrufung eines bemerkbaren Kraftaufwandes seitens des Tieres ihm den Schutz vor Infektion oder Intoxikation erleichtern.

Schließlich betrachtet eine dritte Theorie diese Frage von einem diametral entgegengesetzten Standpunkte aus. Sie erkennt nicht nur keinerlei Nutzen für die Theorie von dem Vorhandensein von Mikroorganismen im Darne an, sondern hält sie für eine vollständig unerwünschte Erkrankungsquelle.

Sich in diesen Hypothesen zurechtfinden und die wahre Bedeutung der Darmbakterien für die Tiere aufklären, kann man auf zweierlei Weise.

Der eine Weg ist rein experimentell: Man hat die Tiere unter Bedingungen vollkommener Sterilität aufzuerziehen und zu halten, den Gang ihrer Ernährung und ihr Verhalten zu den verschiedenen Infektionen und Intoxikationen, welche vom Darmkanal ausgehen, zu verfolgen.

Aehnliche Versuche sind schon angestellt worden, doch infolge ihrer höchst umständlichen Anordnung nur in sehr geringer Zahl, und sie waren bisher ausschließlich darauf gerichtet, die Rolle der Mikroorganismen in dem Verdauungsprozesse aufzuklären. Da aber die Tiere dabei unter außerordentlich künstliche Bedingungen gestellt wurden, welche schon an und für sich auf die Resultate einwirken konnten, so sind diese Versuche wohl kaum von großer Bedeutung.

Der andere Weg besteht in der genauen Erforschung der Darmflora bei einer möglichst großen Anzahl von Tieren, die den verschiedensten Klassen angehören, und in der Feststellung, welche Arten von Bakterien die beständigen und welche die zufälligen Bewohner sind. Wenn man die erlangten Resultate zusammenstellt, wird es vielleicht gelingen, aufzuklären, ob nicht gewisse Arten dieser Bakterien bestimmten Tierklassen in Abhängigkeit von der Lebensart, der Nahrungsweise, der Empfänglichkeit der Tiere für diese oder jene Infektionen u. s. w. angepaßt sind.

Im Jahre 1902 wurde im bakteriologischen Laboratorium des botanischen Institutes der militärmedizinischen Akademie zu St. Petersburg unter unserer Leitung eine Reihe von Arbeiten in der eben angegebenen Richtung begonnen. Da jedoch die genaue Untersuchung der Darmflora von den Säugetieren an bis zu den Mollusken einen zu großen Zeitaufwand und sehr viel Mühe erfordert hätte, was gar nicht mit den Bedingungen übereinstimmte, unter denen diese Untersuchungen ausgeführt werden konnten, so mußte das eben beschriebene Programm etwas abgeändert werden. Wir wählten daher von den bereits bekannten Arten der Darmbakterien solche, welche sich durch leichte Erkennbarkeit aus-

zeichneten, und stellten uns zur Aufgabe, ihr Vorkommen bei den verschiedenen Tierklassen zu bestimmen.

Infolge der eingetretenen politischen Ereignisse mußte leider die Entwicklung unserer Untersuchungen zeitweilig unterbrochen werden, und das Programm derselben bleibt daher noch lange nicht erledigt; dessenungeachtet können die durch die in unserem Laboratorium ausgeführten Arbeiten der Doktoren Bjeloussow<sup>1)</sup>, Obraszow<sup>2)</sup>, Podgaetzky<sup>3)</sup>, Trussow<sup>4)</sup> und Lukin<sup>5)</sup> erzielten Facta bei einer Zusammenstellung derselben schon zu einigen nicht uninteressanten Schlußfolgerungen berechtigen.

Als erstes Objekt für die Untersuchungen wählten wir die von Moro<sup>6)</sup> im Jahre 1900 aus den Faeces von Brustkindern ausgeschiedenen und von ihm unter dem Namen „acidophile“ beschriebenen Bakterien.

Da die in der Literatur vorhandenen Angaben über die Art der Ausscheidung und Kultivierung, sowie über die charakteristischen Wachstumsmerkmale dieser Bakterien sich nicht immer durch Klarheit auszeichnen, und da außerdem infolge des geringschätzigen Verhaltens vieler Autoren der Plattenreinkulturmethode gegenüber sie nur ein bedingtes Vertrauen verdienen, so war es für uns vor allem unerläßlich, in diesen Fragen eigene Versuche anzustellen, um auf Grund derselben sich bei der weiteren Arbeit orientieren zu können.

Dementsprechend wollen wir unsere Darstellung beginnen mit einer kurzen Beschreibung, der von uns angewandten Methode zur Erlangung von Reinkulturen acidophiler Bakterien, sowie des Charakters ihres Wachstums auf den gebräuchlichsten Nährmedien und der Methoden ihrer Erkennung.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der nach Gram gefärbten Strichpräparate aus den Faeces, besonders wenn die letzteren von jungen Säugetieren herrühren, die noch mit Muttermilch genährt werden, erscheint das Gesichtsfeld fast durchweg mit gefärbten Stäbchen besät, unter denen nur hier und da ungefärbte verstreut sind. Wenn man aus solchen Faeces auf gewöhnliche Art eine Plattenkultur herstellt, so wird sich in derselben, wie dieses auch von Bjeloussow bestätigt wurde, eine Menge Kolonien entwickeln, von denen aber keine einzige aus nach Gram färbbaren Stäbchen bestehen wird. Wenn man aber nach der Heymanschen<sup>7)</sup> Methode die zu untersuchenden Proben der Faeces vorbereitend auf 1—3 Tage in Bouillon mit 0,5—1-proz. Essig- oder andere Säure hineinbringt und nach Ablauf dieses Zeitraumes aus dieser Bouillon Plattenkulturen herstellt, so wird sich in denselben eine große Anzahl

1) Bjeloussow, Zur Biologie und Methodik der Ausscheidung der sogenannten acidophilen Bakterien. Diss. No. 76. St. Petersburg. (Russisch.)

2) Obraszow, Zur Frage über die Verbreitung der sogenannten acidophilen Bakterien bei den verschiedenen Tierklassen. 1904. Diss. No. 38. St. Petersburg. (Russisch.)

3) Podgaetzky, Ueber die sogenannten acidophilen Bakterien im Magen und Darne von Brustkindern. 1903. Diss. No. 54. St. Petersburg. (Russisch.)

4) Trussow, Zur Frage über die Einwirkung der sogenannten acidophilen Bakterien des Darmes der Brustkinder auf sterilisierte Kuhmilch. 1904. Diss. No. 44. St. Petersburg. (Russisch.)

5) Dr. Lukins Arbeit ist, da derselbe als Marinearzt mit dem II. Geschwader nach dem fernen Osten abreisen mußte, schon gleich am Anfange unterbrochen worden.

6) Moro, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LII. Juli.

7) Finkelstein, Ueber säureliebende Bacillen im Säuglingsstuhl. (Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 16.)

Kolonien entwickeln, und zwar ausschließlich von nach Gram färbbaren Stäbchen, den sogenannten acidophilen Bakterien.

Diese Erscheinung hängt offenbar davon ab, daß die acidophilen Bakterien auf unseren gewöhnlichen Nährböden mit den nicht färbbaren Darmbacillen nicht wetteifern können und von ihnen schnell überwuchert werden, während in der Bouillon mit Säure alle Beimischungen verschwinden, die acidophilen Bakterien aber ihre Lebensfähigkeit verhältnismäßig lange Zeit bewahren.

So vermindert sich die Anzahl der nach Gram nicht färbbaren Bakterien, den Untersuchungen Bjeloussows gemäß, wenn man Teile der Faeces in Bouillon mit 0,5—1-proz. Essig- oder Milchsäure hineinbringt und dieselben bei 37,5° C aufstellt, schon von den ersten 24 Stunden ab und sie verschwinden ganz nach 2—3 Tagen, während die acidophilen Bakterien im Laufe von 20—32 Tagen lebensfähig bleiben. Die Milchsäure ruft bei gleichem Prozentgehalte in der Bouillon ein schnelleres Absterben der acidophilen Bakterien hervor, als die Essigsäure (außerdem ist es in der Bouillon mit Milchsäure schwerer, die acidophilen Bakterien von den eventuell in den Faeces vorhandenen Hefearten zu sondern).

In Plattenkulturen, die in unserem Laboratorium aus den Faeces angestellt wurden, konnten wir nach deren 1—3-tägigem Aufenthalte in Bouillon mit 0,5—1 Proz. Säure die Entwicklung von nur 2 Typen von Kolonien beobachten, welche aus nach Gram färbbaren, unbeweglichen Stäbchen bestanden.

Die Kolonien des Typus I erscheinen bei Besichtigung der Plattenkultur mit unbewaffnetem Auge von der Größe eines Stecknadelkopfes oder ein wenig umfangreicher; sie sind weiß, undurchsichtig, kahnförmig oder rund und infolge der Trübung des Agars an deren Peripherie wie von einer Aureole umgeben. Bei schwacher Vergrößerung zeigen diese Kolonien eine eiförmige, kahnförmige, manchmal runde Form, sind dunkelbraun, undurchsichtig, mit undeutlich begrenzter Aureole, die zu beiden Seiten der Längsachse der Kolonie hervortritt, wenn dieselbe mehr oder weniger kahnförmig ist (s. Fig. 1).

Die Kolonien des Typus II erscheinen, mit bloßem Auge betrachtet, als graue, halb durchscheinende Kreise, die gewöhnlich nicht die Größe eines Stecknadelkopfes erreichen, ohne geringste Anzeichen einer Aureole. Mit der Zeit beginnen am Rande dieser Kolonien, besonders wenn sie voneinander weit entfernt sind und ihre maximale Größe erreicht haben, außerordentlich kleine, kurze Zähnchen hervorzutreten. Bei mikroskopischer Untersuchung zeigen die jungen sowohl wie auch die alten Kolonien dieses Typus das Aussehen von nach allen Seiten wurzelartig verzweigten braunen Gebilden (s. Fig. 2).

Sogar bei mehrfach wiederholten Plattenkulturen ist es uns nie gelungen, aus Abimpfungen der Kolonien des einen Typus Kolonien des anderen zu gewinnen. Man muß daher annehmen, daß ihre Merkmale konstant sind, und folglich die Kolonien zwei verschiedenen Arten acidophiler Bakterien angehören.

Bjeloussow, der die Wachstumseigentümlichkeiten dieser Bakterien studierte, nannte die Art, welche Kolonien des I. Typus bildete, *B. acidophilus* No. 1, und die andere, welche Kolonien des II. Typus ergab, *B. acidophilus* No. 2. Die Angaben in der Literatur mit seinen eigenen Beobachtungen vergleichend, hält Bjeloussow den *B. acidophilus*

No. 1 für den von Tissier<sup>1)</sup> beschriebenen *B. bifidus communis*, den *B. acidophilus* No. 2 aber für den von Moro<sup>2)</sup> beschriebenen *B. acidophilus*.

Die hiermit eingeführte neue Nomenklatur wird unserer Meinung nach durch folgende Erwägungen gerechtfertigt:

Moro, welcher als erster seine Aufmerksamkeit auf diese Gruppe von Bakterien lenkte, nannte den von ihm isolierten Bacillus *B. acidophilus*, weil derselbe, wie er glaubte, aus den Faeces nur dank seiner Fähigkeit, sich auf sauren Nährböden üppig zu entwickeln, auf denen andere Darmbakterien nicht wachsen, abgesondert werden kann. Bjeloussow hat durch seine Untersuchungen aufgeklärt, daß die Isolierung der acidophilen Bakterien aus Faeces durchaus nicht auf ihrer üppigen Entwicklung auf sauren Nährmedien basiert, sondern auf ihrer im Vergleiche mit den anderen, den nach Gram nicht färbbaren Darmbakterien, größeren Standhaftigkeit gegen die schädliche Einwirkung der Säuren. Folglich ist der von Moro für diese Bakterien gewählte Name „acidophile“ vollständig unbegründet; da derselbe jedoch in die Literatur bereits eingedrungen und wenigstens äußerlich den Facta entspricht, so hält Bjeloussow es für zweckmäßig, ihn einstweilen beizubehalten.

Noch weniger war Tissier im Rechte, als er seinem Bacillus den Namen „*B. bifidus*“ gab, indem er annahm, daß die Stäbchen desselben befähigt wären, sich zu verzweigen — meist gabelig — dem Buchstaben Y ähnlich, und dieses für ein charakteristisches Merkmal seines Bacillus hielt. Er beobachtete solche Formen in Strichpräparaten sowie aus Kulturen, so auch aus Faeces. Doch ist es weder Bjeloussow bei seinen Untersuchungen, noch uns bei der Durchmusterung unzähliger Strichpräparate sowohl aus Faeces, als auch aus Kulturen, welche in unserem Laboratorium angefertigt wurden, jemals gelungen, auch nur ein einziges verzweigtes Stäbchen zu Gesicht zu bekommen. Daher ist es sehr wahrscheinlich, worauf übrigens auch von anderen Autoren schon hingewiesen ist, daß Tissier die von ihm beobachteten mikroskopischen Bilder falsch gedeutet und zufällig schräg aufeinander gelagerte Stäbchen für verzweigte angesehen hat.

Von der Annahme ausgehend, daß der Bacillus Tissier sich vom Bacillus Moro nur durch die Form der Kolonien unterscheidet, sie im übrigen aber einander äußerst ähnlich sind, benannte Beloussow beide Arten mit dem einen Namen *B. acidophilus*; um sie jedoch zu unterscheiden, numerierte er sie, indem er den Bacillus Tissier, als den widerstandsfähigeren gegen Säuren (s. unten), mit No. 1, den Bacillus Moro aber mit No. 2 bezeichnete.

Das Wachstum dieser Bakterien auf den gebräuchlichen Nährmedien weist nach den Untersuchungen von Bjeloussow folgende Eigentümlichkeiten auf:

Das Wachstum des *B. acidophilus* No. 1 bei Zimmertemperatur und Luftzutritt<sup>3)</sup>.

Auf Bouillon wie auf gewöhnlichem, so auch mit Zusatz von Trauben- oder Milchzucker, bei neutraler, saurer oder alkalischer Reaktion — ist

1) Tissier, *Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique du nourrisson*. Thèse de Paris. 1900.

2) Op. cit.

3) Die unten folgenden Angaben beziehen sich auf Beobachtungen, die 3 bis 3½ Wochen nach der Impfung ausgeführt wurden. Die Nährböden wurden nicht aus



fast gar keine Entwicklung zu bemerken. Unter denselben Bedingungen ist auch auf Gelatine, Kartoffel und in Milch kein Wachstum zu beobachten. Als günstigerer Nährboden hat sich Agar erwiesen, aber nur bei schwachem Säuregehalt und bei Zusatz von Traubenzucker.

Das Wachstum des *B. acidophilus* No. 1 bei 37,5° C und bei Luftzutritt.

Unter diesen Bedingungen ist in Bouillon nur ein sehr schwaches Wachstum bemerkbar und auch das nur bei saurer Reaktion, in Form eines unbedeutenden Niederschlages am Boden des Probierrglases. Bei Zusatz von 2 Proz. Trauben- oder Milchzucker wird das Wachstum, unabhängig von der Reaktion des Nährbodens, etwas gefördert; die Bouillon bleibt fast durchsichtig, am Boden aber bildet sich ein geringer weißer Niederschlag, welcher beim Schütteln zuerst in Flocken zerfällt und nachher eine schwache Trübung der Flüssigkeit bedingt. Die Reaktion der Bouillon wird mit der Zeit aus einer neutralen oder alkalischen eine saure.

Auf Kartoffel ist kein Wachstum zu beobachten.

Milch nimmt eine saure Reaktion an, ohne dabei zu gerinnen.

Auf gewöhnlichem neutralen Agar geht das Wachstum längs des Impfstiches in Form eines dünnen Striches vor sich, der sich nach dem Boden zu gleichmäßig verschmälert. Bei Strichkulturen auf schräg erstarrtem Agar entwickeln sich sehr kleine punktförmige Kolonien. Die Reaktion des Agars bleibt unverändert.

Auf neutralem Agar mit 2 Proz. Traubenzucker geht das Wachstum längs des ganzen Impfstiches in Form eines ziemlich dicken Striches vor sich, der Agar im Probierrglase wird trübe und, mit den oberen Schichten beginnend, merklich braun; er nimmt dabei eine saure Reaktion an. Auf schräg erstarrtem Agar entwickeln sich längs des Stiches kleine, einzeln liegende, punktförmige Kolonien, wobei der Agar, wie auch bei Stichkulturen, trübe und braun wird und eine saure Reaktion annimmt.

Derselbe Charakter des Wachstums wird auch auf neutralem Agar mit 2 Proz. Milchzucker beobachtet, aber die Reaktion des Agars ist hier nur eine schwach saure.

In neutralem Agar mit 5 Proz. Glycerin und 2 Proz. Trauben- oder Milchzucker nimmt das Wachstum der Bakterien einen gleichen Charakter an, wie in neutralem Agar mit Zucker, ohne Glycerin. Das heißt mit anderen Worten, daß der Zusatz von Glycerin zum Agar auf das Wachstum keinen Einfluß hat.

In alkalischem oder saurem Agar mit oder ohne Zucker ist das Wachstum ganz dasselbe, wie auf neutralem Agar, nur mit dem Unterschiede, daß in saurem Agar ohne Zucker sogar eine ziemlich gute Entwicklung beobachtet wird, wobei der Agar sich trübt und bräunt.

Das Wachstum des *B. acidophilus* No. 1 bei Zimmer-  
temperatur unter Luftabschluß<sup>1)</sup>.

In Bouillon ohne Zucker, unabhängig von der Reaktion, ist das Wachstum kaum bemerkbar; in Form eines sich am Boden des Probierrglases

---

Fleisch, sondern aus *Extract. carnis Cibils* angefertigt, welches in Quanten von 1 Proz. genommen wurde.

1) Die Züchtung unter Luftabschluß wurde in meinem Apparate ausgeführt (*Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. No. 5*). Die Luft wurde in ihm zuerst durch Stickstoff und später durch Leuchtgas ersetzt, letzteres gereinigt durch Schwefelsäure, Alkalilösung und Pyrogallol. In den weiter unten erwähnten

ansammelnden, sehr unbedeutenden Niederschlages, welcher beim Schütteln eine kaum wahrnehmbare Trübung gibt.

Durch Zusatz von 2 Proz. Milchzucker wird das Wachstum nicht merklich gefördert.

In Bouillon mit 2 Proz. Traubenzucker ist das Wachstum üppiger: Am Boden des Probierrglases sammelt sich ein bedeutend größerer Niederschlag, als in den vorhergehenden Fällen; beim Schütteln der Flüssigkeit ergibt er eine schwache Trübung.

Die Milch zeigt keine merkliche Veränderung.

Auf Kartoffel ist kein Wachstum zu bemerken.

Auf Gelatine ist das Wachstum in Form eines sehr dünnen Striches längs des Impfstiches nur in Gegenwart von Zucker zu beobachten.

Auf alkalischem und neutralem Agar ohne Zucker ist die Entwicklung sehr schwach in Form eines dünnen Striches längs des Impfstiches, wobei der Agar ungetrübt bleibt. Auf saurem Agar ohne Zucker ist die Entwicklung viel üppiger in Form eines ziemlich dicken ununterbrochenen Striches längs des ganzen Impfstiches; der Agar wird dabei deutlich trübe.

Durch Zusatz von Zucker, besonders Traubenzucker (2 Proz.), wird das Wachstum bedeutend gefördert. Glycerin (5 Proz.) übt auf das Wachstum keine Einwirkung aus.

Das Wachstum des *B. acidophilus* No. 1 bei 37,5° C unter Luftabschluß.

In Bouillon ohne Zucker ist die Entwicklung am deutlichsten bei saurer Reaktion, und zwar in Form eines sehr kleinen Bodensatzes, welcher beim Schütteln eine kaum merkbare Opaleszenz hervorruft. Der Zusatz von Traubenzucker (2 Proz.) bewirkt, unabhängig von der Reaktion, ein bedeutend besseres Wachstum. Der Zusatz von Milchzucker (2 Proz.) übt eine schwächere Wirkung aus.

Auf Kartoffel ist keine Entwicklung zu bemerken.

Milch bleibt dem Anscheine und der Farbe nach unverändert, aber beim Umkippen des Probierrglases fließt sie nicht heraus, beim Durchschütteln aber nimmt sie die Konsistenz eines dicken Breies an. Die Reaktion der Milch ist eine saure.

Auf Agar ohne Zucker bei neutraler oder alkalischer Reaktion ist das Wachstum unbedeutend. Bei saurer Reaktion ist das Wachstum längs des Impfstiches in Form eines ziemlich dicken, weißen Striches zu beobachten, während der Agar trübe und braun wird.

Der Zusatz von Zucker, besonders Traubenzucker (2 Proz.), bewirkt ein auffallend üppigeres Wachstum, unabhängig von der Reaktion.

Glycerin wirkt auf das Wachstum nicht ein.

Das Wachstum des *B. acidophilus* No. 2 auf denselben Nährböden und unter den gleichen Bedingungen ist im allgemeinen ganz ähnlich dem soeben beschriebenen Wachstumscharakter des *B. acidophilus* No. 1 (bei Züchtungen auf Agar unter den gleichen Bedingungen wie bei *B. acidophilus* No. 1 wird eine Trübung und Braunwerden des Agars beobachtet, und dieselbe Veränderung der Milch bei Züchtung auf der letzteren unter Luftabschluß und bei 37,5° C). Ein kleiner Unterschied

---

Untersuchungen Troussows wurde die Luft ersetzt durch Wasserstoff, auf elektrischem Wege in einem von mir zu diesem Zwecke konstruierten Apparate gewonnen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Abt. II. Bd. XI. 1904. No. 24/25. p. 796.)

besteht darin, daß der *B. acidophilus* No. 2 ein, wenn auch gleichfalls kein üppiges, so doch deutlicheres Wachstum auf Gelatine zeigt, besonders auf saurer Gelatine bei 2-proz. Gehalt an Traubenzucker.

Gasbildung oder Verflüssigung der Gelatine wird, wie auch in den Kulturen des *B. acidophilus* No. 1, nicht beobachtet.

Um zu bestimmen, bei welchem Zuckergehalt im Nährboden das Wachstum dieser Bakterien am besten vor sich geht, stellte Bjeloussow zwei Serien von Kulturen in Probierringläsern mit Agar an, wobei in der einen Serie 1 Proz., 2 Proz., 4 Proz., 6 Proz., 8 Proz. und 10 Proz. Traubenzucker zum Agar zugesetzt waren, die andere dagegen, die eine gleiche Menge Milchzucker enthielt, und stellte sie unter Luftabschluß in den Brutschrank bei 37,5° C.

Die am 9. Tage vorgenommene Untersuchung dieser Kulturen hat gezeigt, daß für das Wachstum des *B. acidophilus* No. 1, sowie auch des *B. acidophilus* No. 2 am günstigsten die Konzentration des Traubenzuckers von 2—10 Proz. ist; bei einer Konzentration von weniger als 2 Proz. wird das Wachstum schwächer. Die günstigste Konzentration des Milchzuckers ist ungefähr 8 Proz.; bei 10-proz. Gehalt wird schon ein weniger üppiges Wachstum beobachtet, aber dennoch ein besseres, als bei Konzentrationen unter 8 Proz.

Unabhängig von der Konzentration wird beim Zusatz von Traubenzucker eine deutlichere Trübung und ein stärkeres Braunwerden des Agars als bei Zusatz von Milchzucker beobachtet.

Bei Züchtungen auf Agar mit 15 Proz., 20 Proz., 25 Proz., 30 Proz., 35 Proz., 40 Proz., 45 Proz., 50 Proz., 55 Proz. und 60 Proz. Traubenzucker- oder Milchzuckergehalt stellt sich heraus, daß auf Agar mit Traubenzucker alle beide Bacillen sich sehr gut bis 35 Proz. inkl. entwickelten. Das beste Wachstum wurde beobachtet auf Agar, welcher von 2—25 Proz. Traubenzucker enthielt. Auf Agar mit 40 Proz. Traubenzuckergehalt schien das Wachstum deutlich herabgesetzt und die Trübung des Agars war weniger intensiv. Bei höherer Konzentration des Zuckers ging das Wachstum noch schwächer von statten; auf Agar mit 60 Proz. Traubenzucker hörte dasselbe ganz auf.

Auf Agar mit Milchzucker bei einer Konzentration von 2—40 Proz. war überall ungefähr die gleiche Intensität des Wachstums zu beobachten, welches von einer Trübung des Agars begleitet wurde, das Braunwerden war dagegen schwach ausgeprägt. Bei Konzentrationen über 40 Proz. ging das Wachstum etwas schwächer von statten, dabei war zwischen 40 und 60 Proz. die Intensität desselben ungefähr die gleiche. Dieses hängt wahrscheinlich mit dem Umstande zusammen, daß in Lösungen mit 45 Proz. Milchzucker dasselbe auszufallen beginnt in Form von Krystallen, die sich am Boden des Probierringlases ansetzen.

Also fördert der Zusatz zum Nährboden von 2—10 Proz. Traubenzucker, oder ungefähr 8 Proz. Milchzucker das Wachstum dieser Bakterien am besten. Bemerkenswert ist jedoch, daß sogar bei 40 Proz. Zucker das Wachstum dieser Bakterien noch nicht sistiert wird.

Aus den Kulturen mit verschiedenem Prozentgehalt an Zucker wurden, wie auch in den übrigen Fällen, Strichpräparate angefertigt, nach Gram gefärbt und mikroskopisch untersucht, in der Hoffnung, eventuelle Involutionsformen — etwa verzweigte oder anders veränderte Stäbchen aufzufinden. Doch gelang es uns niemals, trotz allersorgfältigster Durchmusterung der Präparate, dergleichen Formen zu beobachten. Wenn auch etwaige Abweichungen von dem gewöhnlichen Aussehen der Stäbchen vor-

kamen, so bestanden sie nur in eventuellen Variationen der Länge und Breite derselben, unabhängig von der Konzentration des Zuckers in den Nährmedien.

Ebenso ist es uns nie gelungen, wie bei mikroskopischer Untersuchung junger und alter Kulturen, so auch beim Studium ihrer Widerstandsfähigkeit gegen verschiedene schädliche Einwirkungen irgend welche Andeutung von Sporenbildung bei diesen Bakterien zu bemerken.

Alle diese Tatsachen zusammenstellend, sehen wir also, daß:

1) Der Wachstumscharakter des *B. acidophilus* No. 1 auf den gewöhnlichen Nährböden sich durch nichts Wesentliches vom Wachstumscharakter des *B. acidophilus* No. 2 unterscheidet; nur ihre Kolonien haben ein ganz verschiedenes Aussehen.

2) Beide Bacillen sind färbbar nach Gram, sie vertragen ziemlich gut ein Verweilen in Bouillon mit 0,5—1-proz. Essig- oder Milchsäure und können sich schon bei Zimmertemperatur entwickeln, obgleich sehr schlecht; bei 37,5° C wird ihr Wachstum bedeutend üppiger.

3) Die Entwicklung vollzieht sich wie bei Luftzutritt, so auch bei Sauerstoffabschluß; im letzteren Falle geht sie ein wenig besser von statten.

4) Die Reaktion des Nährmediums wirkt verhältnismäßig nicht stark auf das Wachstum ein; die saure Reaktion fördert das Wachstum jedoch unbedeutend.

5) Der Zuckerzusatz zu den Nährmedien fördert das Wachstum auffallend, dabei wirkt Traubenzucker besser als Milchzucker.

6) Die beste Entwicklung wird beobachtet bei Zusatz von 2—10 Proz. Traubenzucker oder ca. 8 Proz. Milchzucker zum Nährboden; die Entwicklung wird auch bei weiterer Steigerung der Zuckerkonzentration nicht sistiert — für Traubenzucker bis 50 Proz., für Milchzucker bis zur Sättigung (45 Proz.).

7) Die Reaktion des Nährbodens, unabhängig von dem Vorhandensein oder dem Fehlen von Zucker in demselben, verändert sich und wird sauer unter dem Einfluß des Wachstums der Bakterien.

8) In Agarkulturen ruft sowohl der eine wie der andere Bacillus eine Trübung und Bräunung des Mediums hervor.

Diesem entsprechend, richteten wir uns nach folgenden Erkennungsmerkmalen bei der Ausscheidung der acidophilen Bakterien aus dem Darm-inhalte:

Die Bakterien wurden als acidophile betrachtet, wenn sie folgende Eigenschaften besaßen:

- 1) ihre Lebensfähigkeit nach 1—3-tägigem Aufenthalte in Bouillon mit 0,5—1-proz. Essig- oder Milchsäure bewahrten;
- 2) in Plattenkulturen Kolonien der erwähnten 2 Typen bildeten;
- 3) nach Gram färbbar waren;
- 4) in den Kulturen auf Agar dessen Trübung bewirkten.

Nachdem wir auf diese Weise die diagnostischen Merkmale der acidophilen Bakterien klargestellt hatten, gingen wir zur Erforschung ihrer Verbreitung bei den verschiedenen Repräsentanten des Tierreiches über.

Das zu diesen Untersuchungen notwendige Materiel, die Faeces und der Darminhalt, wurden auf folgende Weise beschafft:

Bei Menschen und denjenigen Tieren, bei welchen es möglich war, wurden die Faeces (nach der Rodellaschen Methode) mit Hilfe eines kurzen Glasröhrchens mit glattgeschmolzenen Enden gewonnen. An dem einen Ende wurde das Glasröhrchen mit einem Wartepfropf versehen. Zwecks Sterilisierung wurde das Röhrchen mit seinem offenen Ende in

ein Probierglas durch dessen Watterpfropf hineingeschoben und dann während 15 Minuten im Dampfkessel bei 120° C erhitzt.

Der Prozeß der Faecesgewinnung ging gewöhnlich folgendermaßen vor sich: Der After und die anliegenden Teile wurden mit Hilfe sterilisierter, mittels flambierter Pinzette gefaßter Wattebäuschchen zuerst mit Sublimatlösung (1:2000), dann mit Alkohol und endlich mit sterilisiertem Wasser gewaschen, hiernach mit sterilisierter Watte abgetrocknet. Das Röhrchen, zusammen mit dem Pfropfen, durch welchen es in das Probierglas hineinragte, wurde aus dem letzteren herausgenommen und sein offenes Ende unter leichten rotierenden Bewegungen in den Anus 2—6 cm tief hineingeführt. Gewöhnlich genügte dieses, um eine Entleerung hervorzurufen, und das Glasröhrchen mit dem zur Untersuchung nötigen Material zu füllen, wenn nur nicht gerade unlängst eine natürliche Defäkation stattgefunden hatte. Um das letztere während des Transportes ins Laboratorium vor Verunreinigungen zu bewahren, wurde das Röhrchen sofort nach Aufnahme der Faeces wieder in das Probierglas hineingeschoben, dessen Ränder, sowie auch der Watterpfropfen, welcher sich die ganze Zeit am Glasröhrchen befand, vorher durch die Flamme gezogen.

Bei der Untersuchung der Faeces solcher Tiere, wie Löwe, Bär, Leopard, Elefant etc. mußte man natürlich auf Entnahme der Proben mittels Röhrchen verzichten, und konnte sich nur der bereits defäkierten Exkremente (nicht älter als 1 Stunde nach der Entleerung) bedienen; zu diesem Zwecke wurden die größten Faecesstücke gewählt, mit einem glühenden Messer durchgeschnitten und aus der Mitte des Schnittes mit einer Platinöse das nötige Material entnommen.

Wenn man es mit sehr kleinen Tieren zu tun hatte, so wurden dieselben gewöhnlich getötet und dann gleich nach der Obduktion unter entsprechenden Vorsichtsmaßregeln, um eventuelle Verunreinigung zu vermeiden, der Verdauungskanal ausgeschnitten und mit dem Inhalte zusammen als Untersuchungsmaterial benutzt.

Bei der Untersuchung des Inhaltes verschiedener Abschnitte des Darmkanals bei Menschen- oder größeren Tierleichen wurden die Proben durch Aufsaugen in die oben beschriebenen Glasröhrchen entnommen.

Von jeder auf die eine oder die andere Weise gewonnenen Faecesprobe kam der größere Teil in Bouillon mit Säure, der Rest aber diente zur Anfertigung von Strichpräparaten, welche nach Gram gefärbt und dann mikroskopisch untersucht wurden.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

3<sup>o</sup> Mémoire.

### La variole et son parasite (*Plasmodium variolae*).

Par F. J. Bosc, Professeur à l'Université de Montpellier.

Avec 2 planches et 12 figures.

(Fortsetzung.)

#### A. Formes intraprotoplasmiques (schizogoniques).

Dans une pustule de variole virulente, les cellules de la prolifération renferment longtemps dans leur protoplasma des inclusions de forme variable.

a) Formes minimales (corpuscules chromatiques): elles ressemblent très exactement à celles que nous avons décrites pour la clavelée (103) et pour la vaccine sous le nom de formes bactériennes ou de corpuscules chromatiques. Nous en avons déjà donné une description pour la variole dans notre mémoire de 1901 mais très exactement dans notre note à la Société de Biologie du 17 octobre 1903.

Les plus petites sont à peine décelables avec les plus forts grossissements et c'est la zone claire qui les entoure au centre de laquelle elles apparaissent comme un point imperceptible (*m*, *m* fig. 1 pl. I) qui rend leur recherche possible. Deux points peuvent être accolés en forme de diplocoque minimal. Ces formes augmentent de volume, atteignent  $\frac{1}{4}$  à  $\frac{1}{2}$   $\mu$  et constituent les formes cocciques ou diplococciques à éléments ronds ou étirés, exactement comme pour la vaccine; quand elles atteignent 1  $\mu$  à 1 $\frac{1}{2}$   $\mu$  de diamètre elles sont arrondies en cocci isolés (*t*, *t*, *t* fig. 1 pl. I) ou associées en diplocoque que l'on peut surprendre en voie d'étirement (*h* fig. 1 pl. I).

Ces corpuscules présentent exactement la structure et les réactions colorantes que nous avons indiquées longuement pour la vaccine (Centralbl. f. Bakt. etc. 1904. Octobre): ils sont colorés en rouge vif par la safranine et le rouge de Magenta employés d'après la méthode de Siedlecki ou d'après le Benda modifié (Centralbl. f. Bakt. etc. 1903); ils prennent une coloration d'un noir intense par l'hématoxyline ferrique, bleu violet par l'hématéine, bleu par la thionine, rouge par la fuchsine acide; la méthode de Mann les colore en rouge vif extrêmement brillant. Les formes minimales apparaissent comme un point scintillant, sans différenciation possible; les formes plus volumineuses sont constituées par une petite masse homogène dont la partie centrale est plus réfringente. Ces corps homogènes qui sont colorés fortement par tous les colorants nucléaires, gardent très fortement l'éosine, avec la méthode de Mann. Ils sont donc à la fois acidophiles et basophiles et il est à remarquer qu'ils prennent avec beaucoup plus de force que la chromatine du noyau de la cellule les colorants nucléaires vis-à-vis desquels il se comportent à peu près de la même façon que les nucléoles. On les différencie d'ailleurs nettement de la chromatine du noyau en ce que, par la méthode de Mann les corpuscules parasitaires sont colorés en rouge intense tandis que la chromatine a une coloration d'un bleu foncé, les nucléoles prenant, comme ces parasites, la couleur rouge. Les corps parasitaires intraprotoplasmiques présentent donc des réactions qui les rapprochent beaucoup des nucléoles, mais ils fixent bien plus fortement encore que les nucléoles les colorants basiques et l'éosine du Mann. Ces corps hyperchromatiques ont la structure et les réactions du karyosome des protozoaires qui est également acidophile et basophile, qui fixe les colorants nucléaires bien plus fortement que la chromatine du noyau de la cellule-hôte et qui, par la méthode de Mann, est coloré en rouge vif, ainsi que je l'ai démontré pour l'hématozoaire de la malaria et coccidium oviforme. Il faut donc en conclure que, comme le karyosome des protozoaires, les formes minimales des inclusions claveleuses, vaccinales et varioliques, constituent de petites masses homogènes qui renferment de la plastine à réaction acidophile (de même ordre que celle qui existe dans le nucléole des cellules des métazoaires), ce qui explique la similitude des réactions (quoique d'intensité variable) qui rapproche les corpuscules varioliques, vaccinaux et claveleux des karyosomes des protozoaires et du nucléole des cellules-hôte.

Nous sommes donc en droit d'assimiler les corpuscules de la variole à de petites masses karyosomiques; comme le fait remarquer Calkins, ces corpuscules sont constitués entièrement par un noyau et sont par suite comparables au spermatozoïde tout à fait à son début.

b) Formes corpusculaires volumineuses. Les petites formes hyperchromatiques précédentes peuvent prendre un grand volume et atteindre 2 et 3  $\mu$  de diamètre, avec une forme ronde (*co*, *co* fig. 1 pl. I), ovulaire (*al* fig. 1 pl. I) ou irrégulière (*cor* fig. 1 pl. I), parfois en forme nette de virgule (*s* fig. 1 pl. I), ou étirée en diplocoque volumineux (*di* fig. 1 pl. I, *x* fig. 2). Comme les précédentes, les formes sont constituées par une masse homogène, acidophile et basophile; leur centre réfringent est cependant plus clair et leur périphérie se laisse plus facilement décolorer sans toutefois prendre nettement les colorants protoplasmiques. Ces corps sont intermédiaires aux fins corpuscules précédents et aux formes protoplasmiques nucléées; ils correspondent, en grande partie, aux cytoryctes de Guarnieri.

c) Formes protoplasmiques nucléées de petite taille. Elles ont un diamètre de 2 à 4  $\mu$  et ne diffèrent en rien de celles que nous avons décrites dans la clavelée et la vaccine (103, 106). Elles sont formées d'abord par une granulation à réaction karyosomique dont l'extrême périphérie, colorée en bleu pâle par le picro-indigo-carmin ou par le Mann, forme un anneau très délicat et à peine différencié. Cette zone périphérique devient plus épaisse, plus précise et est formée par une substance homogène, bien colorée, à bords arrondis ou ondulés de façon à avoir un aspect nettement amiboïde (*pro* fig. 1 pl. I). Ce protoplasma se colore par l'éosine, l'orange b,

la fuchsine acide, le micro-indigo-carmin, l'induline; il prend une couleur bleu pâle par la méthode de Mann; le corpuscule central présente les réactions karyosomiques des formes corpusculaires minimales. Par la safranine ou le rouge de Magenta suivi d'éosine ou de van Gieson, le corpuscule central est rouge, le protoplasma bleu; par l'hématoxyline ferrique et l'éosine, le corpuscule central est noir, le protoplasma rouge; par la méthode de Mann, le corpuscule est rouge vif, le protoplasma bleu tendre.

d) Formes protoplasmiques volumineuses: plasmodiales, multi-nucléées. Le protoplasma homogène, délicat, sans membrane d'aspect amiboïde de plus en plus marqué, augmente de volume; l'on observe ainsi des corps qui ont d'abord 5 et 6  $\mu$  de diamètre et renferment un corps karyosomique clair, comme vacuolé et séparé du protoplasma par un halo incolore. Ces masses plasmodiales atteignent 10, 12, 15 et 30  $\mu$  de diamètre, renferment 2, 4, 8 ou un nombre plus considérable de granulations karyosomiques irrégulières (*a, b* fig. 2 pl. I), le protoplasma homogène présentant des bords ondulés, ou digités, ou arrondis (*at, at* fig. 1 et 2 pl. I), ou bien s'étirant en forme de croissant (*ir* fig. 2 pl. I) autour du noyau de la cellule-hôte, ou ayant l'aspect d'un vaste plasmode qui s'étire, s'étrangle par endroits de façon à former des pseudopodes qui entourent le noyau (*y* fig. 1 pl. I). Les masses karyosomiques inégales se divisent encore et à mesure tendent à s'égaliser (*g* fig. 2 pl. I; *at, y* fig. 1 pl. I). Ce processus aboutit à la formation d'un corps muriforme volumineux, susceptible de remplir la cavité cellulaire utriculisée, et qui renferme des granulations chromatiques égales. Peu à peu le protoplasma devient moins apparent, se dissocie, se condense autour des grains karyosomiques régulièrement dispersés. Il se forme ainsi des corps arrondis centrés par un grain karyosomique assez gros et qui ont la valeur de mérozoïtes.

La division des masses karyosomiques peut être poussée très loin et aboutir à la formation d'une grande quantité de corpuscules extrêmement fins (*ast* fig. 1 pl. I) qui apparaissent comme un pointillé chromatique dans le protoplasme devenu très clair, puis qui devient difficile à apercevoir et paraît se dissoudre pour mettre en liberté les granulations karyosomiques corpusculaires. On observe surtout ces dernières formes dans les pustules du début; elles correspondent certainement à un mode de multiplication très actif et constituent des mérozoïtes très fins dont le passage dans les ganglions et dans le sang devient facile.

Toutes les formations plasmodiales présentent les réactions colorantes caractéristiques des protozoaires: le protoplasma avec ses formes amiboïdes ou irrégulièrement étirées, se colore en rouge par l'éosine, en bleu pâle par le micro-indigo-carmin et la méthode de Mann, en jaune par l'orange g; et renferme des granulations à réactions chromatiques intenses avec un espace clair autour de ces granulations, de sorte qu'il reproduit l'aspect, la structure et la coloration de l'hématozoaire du paludisme. Comme chez les protozoaires, la masse karyosomique présente des divisions d'abord inégales, comme on en voit chez l'hématozoaires, et qui s'égalisent ensuite quand la division est terminée.

Calkins (93) qui donne à ce processus le nom de „gemmule formation“ assimile ces gemmules (c'est-à-dire nos grains karyosomiques) aux spores bactériennes; les granulations disséminées des inclusions varioliques correspondraient aux granulations d'aspect nucléaire disséminées dans les bactéries (protogonoplasma) et susceptibles de se collecter à un moment vers une extrémité du bacille pour donner naissance à une spore. Mais contrairement aux spores du bacille, les petites masses sphériques du protogonoplasma collecté pourraient se développer en organismes sexués. À ce titre, les inclusions de la variole en donnant naissance à de nombreux corps reproducteurs se rapprocheraient des bactéries polysporées. Nous pensons qu'il ne s'agit pas là d'un phénomène de formation sporulée, constitué par la réunion de corps chromidiaux dispersés, mais d'un processus inverse qui aboutirait à une division karyosomique avec condensation du protoplasme et constituerait un mode de multiplication de type schizogonique à gros et petits mérozoïtes, ces derniers étant la rapport avec une intensité plus grande de l'infection.

e) Corps en flammèche. Il existe dans certaines pustules de début des formations également intraprotoplasmiques, plasmodiales et volumineuses mais dont la substance karyosomique se dispose en un réticulum fin à points nodaux. Ce réseau exactement limité à la surface de l'inclusion (*res, res* fig. 1 pl. I) est identique à celui que nous avons décrit pour certaines inclusions clavelées (103) et vaccinales (106) et qui pour ces dernières maladies était consécutif à des formations karyokinétiques. Ce réseau se fragmente et est constitué par des corps en flammèche extrêmement fins (*m, n* fig. 1 pl. I). On pourrait assimiler ces corps aux chromidies de Hertwig, la constitution du réseau étant comparable à une sorte de formation chromosomique précédant la division mitotique, comme on le voit chez certains infusoires. Mais il paraît plus vraisemblable d'admettre que, comme je l'ai indiqué pour la clavelée et la

vaccine, ces corps sont le résultat d'une sorte de karyokinèse dont les figures, déjà observées par Guarnieri, se rapprochent beaucoup des mitoses des métazoaires et constituent des karyokinèses primitives. Ces figures mitosiques se développent en un réseau qui se fragmente et dont chaque fragment s'effile et constitue les corps en flammèche qui ont dès lors la valeur de chromosomes et par suite sont assimilables à des chromatozoïtes. On pourrait donc les interpréter comme des microgamètes. Je n'ai observé, pour la variole, ces corps en flammèche, de même que les formes plamodiales criblées de fines granulations karyosomiques (*ast* fig. 1 pl. I) que dans les pustules très virulentes, c'est-à-dire faisant partie des premières poussées éruptives, et le plus souvent dans des cellules ayant subi, après un stade d'hypertrophie, une dégénérescence vitreuse pas ou moins accentuée. On ne peut pas confondre le réticulum et les corps en flammèche qui en dérivent avec un réticulum fibreux intraprotoplasmique, d'autant plus que les cellules peuvent ne présenter aucune vacuolisation et que le réticulum limité à l'inclusion n'a aucune connexion avec un réseau fibreux extracellulaire. Il est possible que les formes volumineuses criblées de très fines granulations (*ast* fig. 1 pl. I) représentent le stade qui précède les corps en flammèche, chaque granulation minimale s'étirant en pointe fine et se portant tout à fait à la surface d'un protoplasma à peine apparent et de plus en plus réduit.

Nature de la capsule hyaline. Les formations intraprotoplasmiques de la variole sont entourées d'une zone claire, réfringente, de coloration très difficile. Cette zone est identique à celle qui entoure l'inclusion vaccinale et je ne puis que renvoyer à ce que j'ai dit, dans mon mémoire sur la maladie vaccinale (106), au sujet de sa structure et de sa signification. Il résulte des considérations développées dans ce mémoire que cette zone claire n'est pas une cavité mais une véritable capsule hyaline ou mieux une masse hyaline dépendant du parasite.

#### Formes à évolution intranucléaire (Sporogonie).

Ces formations intranucléaires sont rares car nous n'avons pu les observer que deux fois; j'en avais publié des figures précises dès le 17 octobre 1903 (Compt. rend. soc. biol.) avant d'avoir aucune connaissance des travaux de Councilman et de Calkins. J'ai déjà dit que dans la pustule qui renferme ces formations intranucléaires on trouve aussi des formations intraprotoplasmiques: les premières sont situées dans la partie centrale, les secondes dans la partie périphérique et l'on trouve une zone intermédiaire avec des formes de transition entre les deux types d'inclusion. En outre les formations intranucléaires peuvent achever leur développement dans le noyau ou bien passer à un moment donné dans le protoplasma.

Cette étude des inclusions intranucléaires est beaucoup plus délicate que celle des inclusions intraprotoplasmiques à cause même de la particularité de leur structure qui ne permet pas de les rattacher d'emblée à des formes appartenant à un parasite connu. Aussi nous bornerons nous à les étudier dans leur forme, leurs réactions colorantes et leur structure, de la façon la plus précise possible.

Nous avons appliqué à l'étude de ces inclusions toutes les méthodes qui ont donné de bons résultats pour l'étude des sporozoaires: hématoxyline ferrique suivie d'éosine ou de van Gieson; hémateïne, éosine; safranine ou rouge de Magenta suivis de picro-indigo-carmin, suivant la méthode de Siedlecki; liqueur triacide d'Ehrlich; méthode de Benda modifiée (rouge de Magenta et vert lumière). Mais ces méthodes sont délicates à appliquer ici à cause de la finesse de certains détails et de la manière de se comporter, devant la décoloration, de certaines inclusions; en outre, elles ne permettent pas d'établir une différenciation précise entre la chromatine du noyau de la cellule-hôte et des parties colorées de même façon qui appartiennent à l'inclusion. C'est ainsi qu'avec la méthode de Siedlecki (safranine ou rouge de Magenta et picro-indigo-carmin), certaines formes d'inclusion intranucléaires prennent en masse ou en divers points la coloration rouge, au même titre que la chromatine du noyau de la cellule-hôte, de telle sorte qu'il est impossible de différencier l'inclusion du reste du noyau, chromatine ou nucléole. Il est impossible, dans ce cas, de pouvoir répondre avec quelque précision à l'objection d'après laquelle les inclusions intranucléaires ne sont pas autre chose que des produits même du noyau et en particulier des produits de dégénérescence ou de sécrétion de la chromatine ou de nucléole.

Calkins a bien vu cette très grosse difficulté; il est obligé de convenir que la coloration par le rouge de Magenta ne permet pas de différencier les corpuscules varioliques de la chromatine du noyau qui les renferme. Ce seul doute suffit pour enlever la plus grande partie de leur valeur aux interprétations que l'on peut donner de ces inclusions.

La méthode de Mann appliquée par Negri à l'étude des inclusions de la rage et que j'ai généralisée à l'étude des maladies varioliques et des protozoaires, constituera



une méthode extrêmement précieuse puisqu'elle différencie avec une précision absolue les inclusions intranucléaires de la chromatine du noyau: celle-ci est d'un bleu pur, les inclusions sont d'un rouge vif (voir pl. I). La comparaison des figures obtenues par la méthode de Mann et les autres méthodes, en particulier l'hématoxyline ferrique suivie d'éosine et le rouge de Magenta suivi de micro-indigo-carmin, nous permettra dès lors de différencier nettement ce qui se rapporte à l'inclusion de ce qui se rapporte à la chromatine du noyau.

Les formes intranucléaires les plus petites sont d'une finesse extrême: elles apparaissent comme un pointillé rouge très réfringent accumulé en un point ou en plusieurs points du noyau devenus clairs. Ces formes très fines augmentent de volume et se présentent comme dans les figures 7 et 8 planche I, avec un diamètre de  $\frac{1}{5}$  de  $\mu$  à 1 et 2  $\mu$ , colorées en rouge très vif, avec un centre réfringent et clair, la décoloration ayant été poussée assez loin pour que le nucléole (*n* fig. 7 pl. I), comme la chromatine, présente une coloration bleue.

Ces formations augmentent encore de volume, atteignent 3  $\mu$  de diamètre, présentent une forme parfaitement ronde ou en virgule (fig. 9 pl. I), à bords très nets, dans aucune relation avec les filaments chromatiques du noyau, à centre clair et renfermant parfois une fine granulation bleue; elles se différencient très nettement du nucléole qui apparaît plus diffus, d'un rose violacé et en rapport évident avec la chromatine (*pl*, fig. 9 pl. I).

Ces corps augmentent encore de volume, prennent une forme ronde (*ro*, fig. 11 pl. I) ou elliptique (*em em* fig. 12 et 13 pl. I), isolées ou réunies en amas, dans un large espace clair résultant d'un processus de plasmolyse du noyau hypertrophié (fig. 11, 12, 13 pl. I). Ces corps arrondis ont un centre clair et parfois renferment dans leur intérieur 2 ou 3 espaces ronds complètement clairs, ressemblant à des vacuoles mais extrêmement réfringents ce qui doit faire éloigner cette idée (*ro* fig. 11); il en est de même pour les corps elliptiques qui peuvent renfermer 2, 4 ou un bien plus grand nombre de ces grains incolores et très réfringents (*em* fig. 12 pl. I). Ces divers corpuscules ne se rencontrent pas seulement dans l'intérieur du noyau mais encore dans le protoplasma de certaines cellules: ils sont très nets dans les figures 3 et 5 de la planche I.

Ces corps globuleux à centre ou à grains réfringents peuvent subir une évolution différente: certains parfaitement ronds, augmentent de volume, atteignent 4, 5 et 6  $\mu$  de diamètre et sont formés par une paroi nette d'un rouge vif enfermant un large espace réfringent très légèrement teinté en violet (fig. 15) et qui bientôt présente au centre une fine granulation fortement colorée (fig. 16 pl. I).

Cette formation typique correspond donc à un corps d'apparence kystiforme à paroi nette renfermant une substance réfringente centrée par une granulation. On peut suivre le développement de ces corps et dans les figures 17, 18, 19, 20 et 22 de la planche I on les voit augmenter de volume, remplir et dilater le noyau en amincissant la chromatine en une sorte de filament bosselé, tandis que leur contenu apparaît toujours réfringent, parfois comme délicatement rayonné (fig. 18) et renfermant parfois deux granulations centrales l'une colorée en rouge vif l'autre en bleu (fig. 18 pl. I).

La figure 3 de la planche II dessinée à un bien plus fort grossissement montre la netteté et la délicatesse du contour de l'inclusion, la réfringence de son contenu et la granulation qui est centrale ou plus ou moins excentrique et qui peut renfermer elle-même un point incolore et très réfringent (*x* fig. 3 pl. II). Le contenu de ce corps kystiforme peut se diviser en deux, en forme de grain de café, chacune des parties renfermant une granulation centrale (*a, c* fig. 21 pl. I) et il semble que cette bipartition répétée puisse aboutir à la formation de figures comme celle qui est représentée figures 23 planche I et constituée par un corps kystiforme renfermant 3 corps plus petits de même structure générale et contenant chacun une fine granulation centrale. On peut trouver tous les intermédiaires entre ces corps kystiformes d'aspect sporulé (fig. 23 pl. I) et les formations constituées par une agglomération de corps sporiformes qui pourraient être interprétés comme la mise en liberté de spores dans la cavité intranucléaire par destruction de la paroi kystique (fig. 24 et 25 pl. I).

Des formations non moins précises sont indiquées dans la planche II: elles sont constituées par une masse considérable homogène colorée en bleu pâle par le Mann, en rose noirâtre par l'hématoxyline ferrique éosine et qui renferme un nombre considérable de grains (fig. 4 et 6 pl. II). Ces grains qui sont égaux, sont colorés en rouge vif par le Mann et en noir intense par l'hématoxyline ferrique, en rouge par le rouge de Magenta et en bleu noir par l'hématéine éosine. Ces corps se distinguent nettement du noyau qu'ils distendent (*no, no* fig. 4 et 6 pl. II) et ils ont une forme parfaitement ronde (fig. 6 pl. II) ou amiboïde (fig. 4 pl. II). Ils apparaissent avec leur plus grande netteté dans la figure 7 planche II, comme une masse ovale à bords

très réguliers parsemée par des corpuscules assez volumineux, entourée par une zone claire réfringente, ayant les réactions chromatiques les plus accusées quoique différenciées nettement de la chromatine par le Mann, et donnant en somme l'impression de ces masses protoplasmiques à divisions karyosomiques multiples qui constituent un des stades essentiels de la multiplication des protozoaires.

Ces formations avoisinent et paraissent abouti aux inclusions intranucléaires des figures 9 et 10 de la planche II, constituées par une série de corps arrondis tassés les uns contre les autres, non enfermés dans une membrane, centrés par une granulation et qui ont l'apparence d'une formation à mérozoïtes à éléments petits ou gros (fig. 9 et 10 pl. II). On peut admettre encore comme aboutissant d'un semblable processus la figure 26 pl. I, la figure 28 pl. I, à éléments petits et les figures 31 et 32 formées par la réunion d'un nombre très grand d'éléments arrondis de très petite taille et qui ressemblent beaucoup aux formations intraprotoplasmiques volumineuses à grains très fins comme celle qui est représentée en *ast* figure 1 planche I. — Nous devons mentionner encore certaines formations volumineuses, non entourées d'une paroi, constituées par de petites vésicules accolées les unes aux autres et par une grosse granulation colorée en noir par l'hématoxyline ferrique et en rouge par le Mann (fig. 5 pl. II).

Mais les formations intranucléaires les plus nombreuses et qui atteignent le volume le plus considérable se présentent avec la structure suivante:

Les plus petits sont formées par une sorte de petite rosace, présentant une vésicule centrale volumineuse entourée d'une rangée de vésicules plus petites disposées en cercle (fig. 10 pl. I) enfermées dans une paroi nette colorée en rouge par le Mann (fig. 14 pl. I): La vésicule centrale s'agrandit et présente un large espace formé par une substance réfringente, presque incolore, centrée par une fine granulation colorée en noir par l'hématoxyline ferrique et en rouge par le Mann (fig. 35 pl. I et fig. 11 pl. II). Ces formations augmentent de volume, atteignent 15, 20, 25  $\mu$  de diamètre et davantage: elles sont formées par une paroi très fine, d'égale épaisseur, très nette et parfaitement ronde et par une rangée de vésicules à paroi nette entourant un espace parfaitement rond ou ovalaire et contenant en situation centrale ou excentrique une grosse granulation à centre clair et réfringent (fig. 12, 13, 13<sup>bis</sup> pl. II); les petites vésicules périphériques sont parfois parfaitement égales, parfois elles sont plus volumineuses à un pôle qu'à l'autre de la formation (fig. 12 et 13<sup>bis</sup>), de sorte que la masse arrondie centrale n'est pas exactement située au centre. Dans la figure 14 de la planche II, la formation intranucléaire a une forme générale elliptique et comme la masse centrale est parfaitement ronde et volumineuse, les vésicules périphériques seront d'autant plus volumineuses qu'on va vers les pôles (*m* fig. 14 pl. II) et d'autant plus petites qu'on arrive à l'équateur (*s* fig. 16 pl. II).

Ces vésicules enfermées dans la paroi kystiforme parfaitement ronde, elliptique ou ovalaire, peuvent, au lieu de ne former qu'une seule couche périphérique, être très nombreuses entourant un corps central plus petit, arrondi, réfringent et renfermant une granulation centrale ou excentrique (fig. 15 et 16 pl. II). Ces formations ont une grande ressemblance avec des formations en évolution kystique de certaines coccidies et en particulier de *Coccidium oviforme*. Dans les figures 17, 18 et 19 on peut suivre le développement d'éléments de même espèce et dans lesquels l'espace compris entre la grosse sphère centrale qui renferme une à 2 granulations et la paroi kystiforme extérieure ronde ou ovalaire, est rempli de vésicules beaucoup plus volumineuses susceptibles de devenir ovalaires par déformation réciproque (fig. 19 pl. II).

Ce sont des formations de cet ordre, mais examinées à un plus faible grossissement, qui sont représentées planche I figures 36 à 41 et après coloration par le Mann: on voit que la paroi générale et la paroi des vésicules sont colorées en rouge par le Mann, que la sphère centrale renferme une substance réfringente colorée en bleu pâle et que les granulations qu'elle contient sont le plus souvent colorées l'une en rouge vif, l'autre en bleu.

Parmi ces formations, certaines, et en assez grand nombre, présentent des modifications dans l'intérieur de la sphère centrale: après avoir constaté une seule granulation, puis deux dont une petite et prenant plus fortement le rouge par la méthode de Mann, et très voisines l'une de l'autre (fig. 38, 40 pl. I; fig. 14 et 18 pl. II), on peut constater dans la sphère centrale des corps volumineux entourés d'un halo clair et susceptibles de présenter au centre une fine granulation plus fortement colorée (fig. 21 pl. II). Ces corps renfermés dans la sphère centrale peuvent prendre un aspect amiboïde ou effilé avec une granulation centrale vivement colorée par l'hématoxyline ferrique et bien représentés en *x*, *x* figure 22 planche II. Dans certaines figures ces petits corps nucléés sont très nombreux, très effilés à une de leurs extrémités, avec une granulation vers leur extrémité la plus volumineuse et d'une taille extrêmement petite (fig. 26 et 28 pl. II). Leur coloration est très difficile, mais ils ont bien l'aspect de sortes de petits corps en flammèche (*f*, *f* fig. 28 pl. II).

A côté de ces formations, il en est d'autres qui au lieu de présenter une seule grande sphère centrale entourée d'une zone de corps vésiculaires ou de plusieurs couches de ces corps, sont formées par une grande sphère renfermant parfois 6 à 8 granulations (*x* fig. 23 et 25 pl. II) et des corps vésiculaires le volume très inégal dont certaines renferment une masse homogène ou une granulation (*g*, *g* fig. 23 et 25 pl. II). On peut avoir ainsi enfermées dans la même paroi kystique deux grandes sphères, renfermant chacune 4 granulations (*x*, *x* fig. 24. pl. II) et des sphères plus petites ne renfermant qu'une granulation excentrique (*m*, *m* fig. 24 pl. II) mais fortement colorée par l'hématoxyline ferrique. Des figures de même ordre et colorées par le Mann sont représentées dans les figures 41 à 47 de la planche I. Une figure nous a frappé très vivement par le détail précis de sa structure bien mis en évidence par le Mann : une fine coque parfaitement ronde, égale et d'un rouge vif (*co* fig. 29 pl. II) enferme dans sa cavité, d'aspect nettement kystique, une grande sphère limitée par une paroi fine très nette, rouge (*pa* fig. 29 pl. II), formée par une substance réfringente légèrement teintée de lilas à la périphérie (*es*); dans cette substance on note une masse triangulaire à bords arrondis, homogène, colorée en bleu foncé (*x* fig. 29 pl. II) et qui contient un gros corps arrondi coloré en rouge (*h* fig. 29 pl. II) vif et séparée de la masse bleue par un halo incolore très réfringent; d'autres sphères de volume variable renferment une petite masse de substance à peine teintée (*t*) parfois centrée par une fine granulation (*gr*. fig. 29 pl. II). D'autres formes d'un très grand intérêt sont constituées par une paroi nettement kystiforme renfermant une série de corps également kystiques, centrés chacun par une granulation: le volume de ces corps sporiformes est variable de sorte que le nombre des corps peut être de 4, de 8 ou de 16 ou d'un plus grand nombre (fig. 33, 32, 31 pl. II). Dans la figure 33, la paroi kystiforme se modèle sur les corps sporiformes qui la distendent. Il est difficile d'avoir une figure qui donne plus nettement l'impression d'un kyste sporulé que la figure 34 de la planche II, avec sa forme si nettement ovale et la paroi délicate et précise des corps sporiformes volumineux.

Dans la figure 35, le noyau en plasmolyse presque totale, est distendu au maximum par un corps en forme de sablier entouré par une paroi kystiforme nette et rempli de corpuscules sporiformes à granulation centrale.

Les figures 36, 37 et surtout 38 sont des plus suggestives, si on les compare à des stades d'évolution de certains protozoaires. Après coloration par l'hématoxyline ferrique elles sont constituées par une série de corps en navette clairs avec une granulation assez volumineuse d'un noir intense à une extrémité; les corps sont situés bout à bout et disposés en une couronne parfaitement ronde qui a dissocié complètement le noyau (fig. 38 pl. II). Dans la figure 39, il existe dans le noyau fortement vacuolisé une série de corps de même ordre mais plus petits (*x*, *x*, *x* fig. 39 pl. II).

Enfin des formations intranucléaires peuvent prendre l'aspect de corps régulièrement elliptiques assez volumineux, entourés par une paroi renfermant un nombre considérable de corpuscules d'apparence vacuolaires, colorés en rouge; on peut en constater jusqu'à 4 et 6 dans un même noyau (fig. 59 pl. I et fig. 40 pl. II).

D'un façon générale chaque noyau ne renferme qu'une de ces formations, mais parfois il en existe deux, quatre ou un plus grand nombre, chacune d'elles pouvant présenter une structure variable (fig. 56, 57, 60 pl. I).

D'autre part les formations du type que nous venons de décrire et nées dans le noyau peuvent exister à la fois dans le noyau et dans le protoplasma d'une même cellule (fig. 60 et 61 pl. I et fig. 41 pl. II) et l'on peut assister au passage des formations intranucléaires dans le protoplasme par destruction de plus en plus complète du noyau. Dans la figure 62, par exemple, tout le protoplasma est rempli par un grand nombre de petites sphères sorties d'un noyau dont il ne reste qu'un débris (*no* fig. 62 pl. I). Des formations minimales (fig. 66 pl. I) et qui ressemblent à ces corpuscules en flammèche que nous avons notés dans les sphères de grandes formations intranucléaires (fig. 26 et 28 pl. II) peuvent se trouver, en quantité considérable, dispersés dans la lymphe variolique, de même que les corps kystiformes résistants existent très nombreux dans les cellules superficielles en désagrégation ou libres dans la lymphe superficielle concrétée qui formera la crôte de la pustule variolique.

Une remarque importante qu'il nous reste à faire c'est que souvent on constate que le corps kystiforme enfermé dans un noyau est déformé et présente un pôle invaginé (*x* fig. 42); or il est facile de voir que la paroi est formée par un double contour très net, l'invagination laissant en outre penser qu'il s'agit bien d'un corps creux et non pas d'une masse homogène d'ne, par exemple, à un processus de dégénérescence.

**Comparaison entre les inclusions varioliques et les protozoaires; objections à la nature parasitaire des inclusions. Les microbes invisibles. Essais de culture.**

L'obtention de cultures des inclusions varioliques en milieu artificiel entraînerait aussitôt la conviction. Malheureusement tous les essais de culture sont demeurés infructueux. Ishigami (83) affirme avoir cultivé un parasite amiboïde et sporulé de la variole qui se rapprocherait beaucoup de *microsporidium bombycis*; mais ses recherches ne sont pas vérifiables car il ne donne pas la composition de son milieu. Funck (78) et Dombrowski ont tenté des cultures et obtenu des résultats que Perkins et Pay (90) n'ont pas vérifiés. Ces derniers auteurs pensent que les corps décrits par Funck comme parasites ne sont que des produits de dégénérescence graisseuse. Brinckerhoff (97) n'a pu obtenir aucune culture dans le liquide frais de l'œil du veau, pas plus que sur du sérum frais stérile de lapin, sur sérum de sang de bœuf ou sur agar glucosé acide, que les cultures fussent aérobies ou anaérobies. Roger (73) en cultivant du virus variolique sur un milieu que j'avais indiqué employé pour la première fois (Le Cancer. Paris. Naud. 1898), le sang rendu incoagulable par l'extrait de sangsue, aurait obtenue des cultures virulentes en série, en partant du lapin infecté, et il aurait observé dans ces cultures la présence des corpuscules décrits par lui dans la lymphe, le sang et certains organes des varioleux. Les 18 cultures successives auraient provoqué la mort du lapin en 8 à 25 jours, par septicémie. Malheureusement le lapin constitue un bien mauvais réactif et d'autre part l'inoculation de ces corpuscules ne produit pas de pustule variolique et il manque en tout cas l'expérience cruciale et indispensable: inoculer les cultures au veau ou à la génisse et voir si les animaux sont réfractaires à la vaccine.

Mais cette impossibilité de cultiver les inclusions de la variole ne prouve pas plus contre leur nature parasitaire que l'impossibilité non moins évidente où nous sommes de cultiver *Coccidium oviforme* en milieu artificiel n'entraîne la négation de sa nature vivante et parasitaire. Le fait que des inclusions intraprotoplasmiques identiques à celles de la variole existent dans toutes les lésions spécifiques de maladies similaires, telles que la vaccine et la clavelée, constitue un argument important en faveur de leur action pathogène. Mais la considération la plus importante à faire valoir en faveur de cette opinion c'est que tout au moins une partie des stades de ces inclusions intraprotoplasmiques présente une ressemblance frappante avec des formes évolutives de protozoaires typiques. Nos recherches sont ainsi dirigées vers un groupe spécial de parasites mais tellement vaste qu'on n'en a exploré encore qu'une bien minime partie de telle sorte qu'il est extrêmement difficile de se prononcer au sujet de formations intracellulaires qui, si elles présentent des ressemblances considérables avec les protozoaires, présentent aussi des particularités qui ne permettent pas de les rattacher à l'un des genres de protozoaires actuellement connus. C'est pour cela que devant les formes si spéciales des inclusions intraprotoplasmiques comme devant les formes encore plus spéciales des inclusions intranucléaires de la variole, on peut se demander si l'on est en présence d'un type de protozoaire pathogène dont on découvrira tôt ou tard le similaire parmi les protozoaires des animaux ou bien s'il s'agit

uniquement de lésions de dégénérescence dues à l'action d'un parasite qu'il reste à trouver.

Cette dernière opinion est celle d'un assez grand nombre de savants, à l'heure actuelle; mais il semble que la vérification successive de nombreux faits avancés par nous et d'abord vivement combattus au point de vue de leur nature protozoaire ne doivent pas permettre de s'endormir complètement dans cette opinion simplement négative. Dès 1898 et 1901 nous mettions en lumière l'identité des réactions histologiques dans la clavelée, la variole, la vaccine, le cancer ...; en 1902 nous montrions la ressemblance générale de ces réactions lésionnelles avec celles de la syphilis, de la fièvre aphteuse ... etc.: or il est certain qu'après qu'on eut considérée cette opinion avec une sorte d'étonnement, elle est devenue à l'heure actuelle une notion acquise. Il en est de même pour la symptomatologie générale de ces maladies: l'examen attentif montrera de plus en plus les analogies symptomatiques profondes, telles que nous les avons indiquées dans notre premier mémoire sur les maladies bryocytiques (Centralbl. f. Bakt. etc. 1904). Enfin un argument qui paraissait devoir renverser notre opinion de la nature pathogène des inclusions que nous avons décrites dans les maladies bryocytiques, se transforme, de par les découvertes qui surgissent chaque jour dans l'étude des protozoaires, en un argument favorable à cette opinion: je veux parler du passage des virus de la plupart des maladies bryocytiques à travers les filtres. On avait conclu de ce fait qu'il ne pouvait pas s'agir de protozoaires mais bien de „microbes invisibles“ impossibles à distinguer avec nos grossissements. Or les recherches de divers auteurs et tout spécialement les admirables recherches de Schaudinn, viennent de nous montrer d'une façon définitive que des protozoaires à formes volumineuses, peuvent se présenter, à certains stades de leur évolution, sous une forme tellement exigüe, qu'ils sont susceptibles de passer à travers les filtres. Cette découverte vérifie donc d'une façon absolue ce que nous soutenions dès 1902 au sujet des virus des maladies bryocytiques, à savoir que à côté des formes volumineuses des inclusions ayant la structure de types évolutifs connus de protozoaires, il existait des formes minimales se rattachant aux précédentes par des transitions insensibles et qui expliquaient le passage du virus à travers les filtres.

Nous sommes les premiers à reconnaître toutefois que tant qu'on n'aura pas trouvé parmi des protozoaires vivant chez les animaux des types nouveaux correspondent exactement aux formations intraprotoplasmiques et intranucléaires telles que nous les avons décrites, il est indispensable non seulement de faire valoir tous les arguments qui militent en faveur de leur nature protozoairienne mais encore de prévoir toutes les objections qui peuvent être opposées à cette opinion.

L'objection la plus sérieuse et on peut dire la seule qui doive être envisagée à l'heure actuelle est celle qui considère les formations intraprotoplasmiques ou intranucléaires comme des produits de dégénérescence dont le facteur demeurerait inconnu et qui pourraient être de même ordre néanmoins dans les diverses maladies bryocytiques parce que ce parasite encore inconnu serait de même nature. Comme nous l'avons montré (106) il ne peut pas être question de globules blancs intracellulaires et dégénérés. On ne peut pas s'arrêter non plus à une dégénérescence partielle du protoplasme; enfin les restes de chromatine dégénérée ne donnent pas les réactions que nous avons minutieusement

décrites pour les inclusions. Ces inclusions sont à la fois acidophiles et basophiles, se rapprochent dès lors beaucoup du nucléole, mais elles ont aussi les réactions caractéristiques des karyosomes des protozoaires.

L'objection qui nous paraît dès lors la plus sérieuse c'est la possibilité de l'origine nucléolaire des inclusions. Pour arriver à une conclusion on ne peut se baser uniquement sur une étude entreprise avec les colorations ordinaires, même les meilleures, car la coloration de la chromatine et du nucléole de la cellule-hôte et de l'inclusion ne permet, par ces moyens, aucune différenciation précise. Nous trouverons, au contraire, des éléments précis d'appréciation dans la comparaison des méthodes ordinaires et de la méthode de Mann qui permet de différencier avec précision la chromatine et le nucléole.

Si l'on suit les lésions du noyau et du nucléole dans les cellules qui renferment des inclusions intraprotoplasmiques volumineuses on constate que, dès le début, le noyau s'hypertrophie, le réseau de chromatine devient plus épais et plus serré et que le plasmosome apparaît bien plus considérable, étalé, réfringent. Avec les progrès de l'hypertrophie claire, le plasmosome s'étale encore davantage, devient moins réfringent, flou et comme s'il avait subi une sorte d'hydratation. Coloré par des réactifs nucléaires, safranine, rouge de Magenta, hématoxyline ferrique . . . il se colore toutefois d'une façon plus intense que la chromatine; d'autre part, avec la méthode de Mann, tandis que la chromatine est bleu foncé, le plasmosome est coloré en rouge. Au fur et à mesure de son hypertrophie et de son étalement, le plasmosome prend moins bien ces divers colorants et, avec le Mann, au lieu de la teinte rouge vif il prend une couleur de plus en plus violacée. Lorsque le noyau a subi une distension vésiculeuse totale avec réunion de la chromatine dissoute en grosses boules, le plasmosome se confond avec cette chromatine dégénérée et finit par disparaître complètement.

Au cours de cette évolution des lésions et surtout pendant la période d'hypertrophie claire, le plasmosome avec sa réfringence et ses réactions à la fois acidophiles et basophiles, présente une grande analogie avec les inclusions intraprotoplasmiques qui sont, elles aussi, acidophiles et basophiles et extrêmement réfringentes. Mais nous savons que les inclusions prennent bien plus fortement les couleurs basiques que le nucléole à tel point, qu'après coloration par le rouge de Magenta, les inclusions demeurent très vivement colorées après une décoloration qui a pu faire disparaître le nucléole. A mesure que la dégénérescence nucléolaire fait des progrès et que la coloration du nucléole tend à devenir effacée avec les colorants nucléaires et de plus en plus violacée avec le Mann, les inclusions gardent toujours fortement leur coloration primitive et sont toujours d'un rouge vif et de haute réfringence avec le Mann. On ne constate pas d'ailleurs, à aucun moment de passage entre le nucléole et l'inclusion située dans le protoplasma parfois à une distance très grande du noyau. Les inclusions minimales peuvent être très nombreuses dans le protoplasma de cellules néoformées jeunes dont le noyau et le nucléole ne présentent encore que des lésions peu appréciables; en outre pour les grandes cellules utriculaires qui contiennent les énormes inclusions plasmodiales à grains karyosomiques nombreux, on constate combien la masse de ces grains est supérieure au volume du plasmosome hypertrophié au maximum et enfermé d'ailleurs dans le noyau. Il faudrait donc considérer les inclusions non comme un nucléole fragmenté mais comme un produit de sécrétion du plasmosome. Pour pouvoir s'arrêter à cette opinion il serait indispensable de constater cette sécrétion nucléolaire et le passage de son produit dans le protoplasme. C'est ce que nous n'avons pu mettre en évidence pour les inclusions intraprotoplasmiques.

Nous arrivons donc pour les inclusions du protoplasme à penser que, comme nous l'avons déjà dit, pour les inclusions similaires de la clavelée et de la vaccine elles représentent les stades d'une évolution schizogonique.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Experimentelle Untersuchungen und Beobachtungen über die Tollwut.

[Hygienisches Institut der Universität Turin (Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

### 3. Bericht.

Von Dr. E. Bertarelli, Assistent und Privatdozent.

In dieser Notiz stelle ich einige Beobachtungen zusammen, welche mir nicht ohne einiges Interesse zu sein scheinen und sich auf verschiedene, teils bestrittene, teils neue Punkte der Pathologie der Tollwut beziehen. Obgleich zum Teil die Beobachtungen die verschiedensten Fragen der Tollwut behandeln, habe ich es dennoch für nützlich erachtet, dieselben zusammenzufassen, weil die meisten derselben mit Fragen und Untersuchungen zusammenhängen, welche in den früheren gemeinsam mit Volpino oder von mir allein verfaßten Berichten bekannt gegeben wurden.

\* \* \*

Ueber die Infizierbarkeit der Speicheldrüsen der tollwütigen Kaninchen und über die Ursachen, welche oft diese Infizierbarkeit unmöglich machen.

Seit geraumer Zeit ist die Tatsache bekannt, daß der Speichel und die Speicheldrüsen des Kaninchens trotz ihrer ausgezeichneten Empfänglichkeit für Tollwut nicht infizierend wirken. Doch ist man wohl auf diesem Wege zu weit gegangen, indem man sogar mit absoluter Gewißheit folgern zu können glaubte, sowohl Speichel als Speicheldrüsen des Kaninchens seien stets frei von Virus.

Neuere Untersuchungen französischer Autoren ergeben jedoch, daß dies nicht immer der Fall ist, sondern daß ein gewisser Prozentsatz von Kaninchen wutkranke Speicheldrüsen aufweisen kann.

Aus den unten beschriebenen Experimenten, welche zwecks Erforschung der Ursachen dieser ungleichmäßigen Resultate angestellt wurden, ging von neuem hervor, daß die Speicheldrüsen der Kaninchen häufig vom Virus infiziert sein können, namentlich in Fällen von langandauernder Tollwut (Tollwut mit Passagevirus oder Straßenvirus).

Man muß nun die Frage aufwerfen, weshalb das Virus nur selten die Speicheldrüsen zu infizieren im stande ist.

Hängt diese Tatsache vielleicht nicht von einer eigenartigen Wirksamkeit des Speichels der Kaninchen selbst ab?

Diese Möglichkeit habe ich in einer meiner früheren Schriften erwähnt, und zwar betreffs des Hundes<sup>1)</sup>, indem ich nachwies, es könne die Speicheldrüse eine Widerstandsfähigkeit gegen das Virus der Tollwut sehr wohl besitzen.

Wenn nun die Speicheldrüsen des Kaninchens dem Virus so häufig widerstehen, könnte die Ursache davon nicht in dem besonderen Verhalten des Speichels der Kaninchen selbst liegen?

1) Bertarelli, E., Ueber die Wege, welche das Wutvirus etc. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII.)

Und könnte man die seltenen Ausnahmen nicht aus den selten vorkommenden individuellen Verschiedenheiten des Speichels erklären?

Zur Entscheidung dieser Frage, welche auch für das Studium des Einflusses, welchen der Speichel der verschiedenen infizierbaren Tiere auf das Tollwutvirus ausübt, von hohem Interesse ist, wollte ich mich vorerst überzeugen, ob das Virus die Speicheldrüsen des Kaninchens tatsächlich erreicht und ob dasselbe dort selbst bis zum Verluste seiner Wirksamkeit verändert wird.

Nun gelangte ich in meinem bereits erwähnten, früheren Bericht zu dem Schlusse, daß der einzige die Praxis interessierende Weg zur Verbreitung des Tollwutvirus von den Nervenzentren zur Speicheldrüse wenigstens für die Hunde die Nervenbahn ist.

Nach logischer Analogie mußte ich daraus vermuten, daß Aehnliches auch bei Kaninchen der Fall sein müsse.

Ich bin daher in folgender Weise vorgegangen: Einer Anzahl Kaninchen, die durch Virus fixe, Straßenvirus oder Passagevirus tollwütig gemacht wurden, habe ich kurz vor dem Tode (selbstverständlich im Zustande der Paralysis) und mittels peinlicher Asepsis die submaxillaren und sublingualen Drüsen entnommen, indem ich die nervösen Fäden der Drüsen mit aller Sorgfalt isolierte.

Die ganz kleinen Nervenfasern, die aber sehr deutlich sind, wenn man die Vorsicht gebraucht, Hämorrhagie zu vermeiden und die Drüsen mit Vorsicht von ihrem Sitze leicht wegzuziehen, wurden abgetrennt, in physiologischer Lösung gewaschen und subdural in kleinen Fragmenten 2 Kaninchen injiziert.

Analog wurde mit den Drüsen verfahren. Die dem Eingang des Nerven entsprechende Partie wurde abgenommen, die Drüsen gewaschen, zerknetet und 2 Kaninchen subdural injiziert.

Die erhaltenen Daten lassen sich, wie folgt, zusammenfassen.

Für Virus fixe: Bei 5 Kaninchen, die mit Tollwut behaftet waren, erschienen weder die Drüsen noch der die Drüsen innervierende Nerv vom Virus affiziert. Bei einem 6. Kaninchen (von 2 injizierten Kaninchen starb nur eines an Tollwut) erschien der Nerv infektiös, die Drüse jedoch nicht.

Für Straßen- und Durchgangsvirus: Bei 3 Kaninchen wurden weder der Nerv noch die Drüse virulent befunden. Von 2 anderen Kaninchen (das eine verendete an Straßenvirus in 40 Tagen, und das andere an Durchgangsvirus in 26 Tagen) erschienen sowohl die Drüsen als der Nerv virulent.

Aus Vorstehendem läßt sich logischerweise schließen:

1) Daß auch die Speicheldrüsen des Kaninchens zuweilen infektiös sein können, wie von anderen bereits beobachtet worden ist;

2) diese Fälle erscheinen weniger selten bei Tollwut von langer Dauer, erzeugt durch Straßen- und Durchgangsvirus, als dies bei Tollwut durch Virus fixe einzutreten pflegt;

3) daß die Speicheldrüsen nicht virulent erscheinen, hängt davon ab, daß das Virus nicht längs des Nerven der Drüsen selbst Verbreitung findet.

Die Erklärung für die fehlende Infektionsfähigkeit des Speichels und der Speicheldrüsen bei Kaninchen liegt demnach in der Tatsache der nicht erfolgten Verbreitung des Virus und nicht in der Annahme einer hemmenden Wirkung der von dem Drüsenparenchym ausgearbeiteten Stoffe.

\* \* \*



### Die Negri-Körperchen in den Nervenzellen von an Virus fixe verendeten Hunden.

Unsere Kenntnis von der Struktur, Verbreitung und Häufigkeit der Negri-Körperchen im Zentralnervensystem von an Tollwut verstorbenen Tieren hat bedeutend an Umfang gewonnen, trotz der nicht genügenden Beachtung, welche die Forscher außerhalb Italiens dem interessanten Befund dieser Körperchen gewidmet haben.

Von den zahlreichen morphologischen und biologischen Untersuchungen über die Körperchen dieser Art sind die wenigsten mit Virus fixe angestellt worden. Schon Negri hat wahrgenommen, daß die nach ihm benannten Körperchen im Virus fixe von Kaninchen sehr klein seien, während in den sonstigen über diesen Gegenstand später erschienenen Schriften nur sehr spärliche Andeutungen darüber gemacht werden.

Hier der Grund, weshalb es mir nützlich schien, diesen Gegenstand zu berühren. In den Fällen von Individuen, welche während oder nach der antirabischen Behandlung verstarben, ist der Zweifel am Platze, ob das Individuum nicht an der ihm zur Therapie eingepfunden Laboratoriumswut verstorben sei. Gegen diesen Zweifel werden auch die neuartigen Versuche von Nitsch<sup>1)</sup> nicht aufkommen, aus denen hervorgeht, daß in einem Falle die subkutane Einimpfung von Virus fixe keine Tollwuterscheinungen zur Folge gehabt hat.

Um nun zu erfahren, ob ein während oder nach der Behandlung an Tollwut verstorbenes Individuum tatsächlich dem zu therapeutischen Zweck empfangenen Virus fixe oder nicht vielmehr dem durch den Biß eingeführten Virus erlegen sei, wird vorgeschlagen (Pasteur hat dieses Verfahren bereits empfohlen), den Bulbus oder einen Teil des Zentralnervensystems des verstorbenen Individuums Kaninchen einzupfunden. Wenn diese in 7 Tagen oder in einem Zeitraum von 6—10 Tagen zu Grunde gehen, ist die Annahme gestattet daß der Tod des Individuums durch Virus fixe erfolgt sei; wenn aber das Kaninchen später als am 16. Tage verendet, dann ist die Einwirkung des Laboratoriumsvirus auszuschließen. Auf alle Fälle wird es sich, um sicher zu gehen, empfehlen, Seriedurchgänge mit Kaninchen vorzunehmen, um den Zeitraum der Inkubation und demgemäß die Natur des Virus feststellen zu können.

In der Praxis aber treten zwei Erscheinungen hinzu, welche die Untersuchung unsicher machen:

- 1) Die Möglichkeit von gesteigertem Straßenvirus.
- 2) Die Möglichkeit, auf Virus fixe zu stoßen, dessen Wirkung darin besteht, das Kaninchen nach einem Zeitraum von mehr als 7—8 Tagen zu töten, nachdem das Gift durch andere dem Kaninchen fremde Tiere bereits hindurchgegangen ist.

Vorstehendes mindert die Beweiskraft erheblich. Die Frage war nun am Platze, ob der morphologische Befund keine Handhabe zur Erleichterung der Diagnose bietet.

Aus diesem Grunde habe ich die Form der Negri-Körperchen in durch Virus fixe tollwütig gemachten Hunden und vor allem deren Dimension studiert.

Ich habe das Kaninchen nicht gewählt, weil dasselbe eine zuverlässige Untersuchung erheblich erschwert.

1) Nitsch, R., Expériences sur la rage de laboratoire. (Bull. de l'Acad. de sciences de Cracovie. 1904. Juli.)

Als Impfstoff verwandte ich Virus fixe in frischem Zustande, oder in Glycerin konserviert oder teilweise getrocknet.

Es gelang mir auf diese Weise, durch subdurale Einimpfung den Tod des Hundes manchmal in 7 Tagen, manchmal in 9, manchmal in 10 und in einem Fall in 12 Tagen zu erzielen.

Im ganzen habe ich 7 Hunde geopfert, denen ich zwecks morphologischer Untersuchung das Ammonshorn entnahm. Die Prüfungen wurden angestellt (Fixation in Alkohol, Sublimat, Schaudinn-Lösung), indem ich verschiedene Färbungen zur Anwendung brachte (Mann, Romanowsky, Pikrokarmine, Methylenblau) und folgende Resultate wurden erzielt: In allen an Virus fixe verendeten Hunden waren die endocellulären Negri-Körperchen reichlich, in einigen Fällen sehr zahlreich vertreten. Sie sind immer klein und zeigen sich meist ohne Struktur und rund. In allen jedoch erzielt man mit der Methode Romanowsky oder mit Pikrokarmine-Methylenblau deutlich einen zentralen basophilen Körper, den Volpino beschrieben hat. In den untersuchten Hunden überstiegen die endocellulären Formen nie  $4,5 \mu$ . Im allgemeinen waren sie erheblich kleiner.

Auch in dem nach 12 Tagen verstorbenen Hunde waren die Formationen sehr klein und gleichförmig.

Ein absolutes Verhältnis zwischen Inkubationsperiode und Volumen der Körperchen existiert nicht; so zeigen die am 7. Tage verendeten Hunde minder kleine Formen als die in 10 Tagen verendeten. Im ganzen jedoch zeigen alle an Virus fixe verendeten Tiere Formationen einfachster Struktur und von kleinem Diameter, wie solche höchst selten oder fast nie bei dem Straßen- oder Durchgangsvirus beobachtet werden. Letzteres auch dann, wenn der Tod in verhältnismäßig langer Zeit nach der Einimpfung eintritt.

Jedoch wäre es weit gefehlt, auf den morphologischen Befund ein Urteil über die Natur des Virus gründen und daraus auf Vorhandensein von Virus fixe oder Straßenvirus schließen zu wollen. Namentlich in Fällen mit langem Verlauf muß es, auch wenn die Infektion durch Virus fixe hervorgerufen worden, möglich sein, voluminösere Körperchen zu erzielen.

Ich bemerke hier, daß sämtliche 7 Hunde unter paralytischen Erscheinungen zu Grunde gegangen sind.

Ohne nun der morphologischen Prüfung bei Diagnostizierung der Natur des Virus einen besonderen Wert beizulegen, wird in den Fällen, wo Verdacht von durch Virus fixe veranlaßtem Tode vorliegt (so oft nämlich der Tod während der antirabischen Kur oder im Endstadium derselben eingetreten ist), außer der biologischen Untersuchung auch eine morphologische Prüfung angezeigt sein. Zu diesem Zweck wird es nützlich sein, einen Teil des Zentralnervensystems des verstorbenen Individuums einem Hunde zu inokulieren. Wenn der Verlauf der Krankheit auch beim Hunde länger andauern sollte, als dies bei Virus fixe gewöhnlich der Fall zu sein pflegt, die Negri-Körperchen aber klein erschienen (und insbesondere weniger als  $3 \mu$  Diameter, runde Form ohne deutlich definierte Struktur nach der Methode Mann aufweisen) sollten, so wird in diesem Falle die Annahme, daß es sich um Tod durch Virus fixe handelt, bedeutend an Boden gewinnen.

Ueber die Beziehungen zwischen dem Auftreten des Tollwutvirus und demjenigen der Negri-Körperchen im Ammonshorn der experimentell tollwütig gemachten Hunde.

Die Diskussion über die Bedeutung der Negri-Körperchen scheint nicht verstummen zu wollen. Unter den Beweisen, welche über die Beziehung der Körperchen selbst mit dem virulenten Erreger Aufklärung verschaffen konnten, war einer der einleuchtendsten das vergleichende Studium der Zeiträume, innerhalb deren sich die Zeichen der Tollwut im Ammonshorn erkennen lassen und in denen das Auftreten der Negri-Körperchen seinen Anfang nimmt.

Amato hat auf diesem Gebiete bereits einiges unternommen, und einige Versuche hatte auch Volpino angestellt, allein die Beweise stießen auf eine Einwendung ernster Natur. Bei diesen Untersuchungen war nämlich der Hund auf subduralem Wege infiziert worden, und man konnte daher einwenden, daß die Virulenz dem Virus zuzuschreiben sei, welches zur Uebertragung desselben ursprünglich angewendet worden war.

Um dieser Einwendung zu begegnen, mußten vorerst die peripherischen Nerven von Hunden infiziert werden, dann mußten dieselben in verschiedenen Zeiträumen geopfert werden, um mittels Einimpfung in andere Tiere zu konstatieren, ob das Virus im Ammonshorn bereits aufgetreten sei und gleichzeitig aus den Präparaten zu erkennen, ob Negri-Körperchen in Bildung begriffen seien<sup>1</sup>).

Sollte die Prüfung ein Resultat ergeben, so mußte zur Uebertragung auf verschiedene Tiere geschritten und dieselben an verschiedenen Tagen geopfert werden. Dieses war um so nötiger in Fällen, wo Durchgangsvirus als Infektionsstoff angewendet worden war, welches mehr oder weniger lange Inkubationsperioden aufweist.

Die Beschaffenheit der Käfige in meinem Laboratorium zwang dazu, nicht mehr als an 4 Hunden gleichzeitig zu operieren.

Hier die Ergebnisse der angestellten Untersuchungen:

#### Erstes Experiment.

25. Januar 1905 wurde 4 Hunden in den Ischiasnerv Straßenvirus injiziert, welchem das Kaninchen in 18 Tagen erlegen war.

Nach 9 Tagen wurde ein Hund geopfert, ein zweiter wurde nach 11, ein dritter nach 12, der vierte nach 14 Tagen geopfert. Keins der Tiere wies Tollwutsymptome auf.

Stückchen von Ammonshorn und Kleinhirn wurden fixiert (Alkohol, Sublimat). Mit einer Nadelspitze, welche mit einer Spur von Ammonshorn, der Mitte des Horns entnommen, infiziert worden war, wurden 2 Kaninchen für jeden der geopferten Hunde subdural injiziert.

In keinem der mit den verschiedenen Stückchen (Färbung nach Mann, Romanowsky, Pikrokarmine, Methylenblau) erzielten Präparate waren Negri-Körperchen oder Anzeichen derselben erkennbar.

Die biologische Untersuchung ergab, daß das Ammonshorn der am 11., 12. und 14. Tag getöteten Hunde infiziert war.

1) Negri meint, daß nach Inness in die Nerven sehr häufig die endocellulären Körperchen im Ammonshorn fehlen, während sie sich in den Ganglien und dem Marke finden. Gelegentlich dieser Proben und auch schon früher habe ich jedoch niemals bei in den Hüftnerve inokulierten Hunden das Fehlen der typischen Körperchen im Ammonshorn beobachtet.

Die mit dem Ammonshorn dieser Hunde infizierten Kaninchen gingen in einem Zeitraume von 18—22 Tagen zu Grunde.

#### Zweites Experiment.

Ein zweites Experiment wurde unter gleichen Bedingungen am 14. Febr. 1905 vorgenommen.

Zur endonervösen Einimpfung von 4 Hunden gelangte ein Straßenvirus, welchem das Kaninchen in 24 Tagen erlegen war. Die Hunde wurden am 12. bzw. 14. und 15. Tage geopfert, nicht einer davon erschien von Tollwut infiziert. Der vierte Hund wurde beim ersten Auftreten der Symptome am 16. Tage getötet.

Das Ammonshorn sämtlicher Hunde erschien rabid, jedoch nur der am 16. Tage geopferte Hund war mit kleinen endocellulären Bildungen behaftet.

#### Drittes Experiment.

In gleicher Weise wurde am 7. April 1905 verfahren und 4 Hunde in den Ischiadicus mit Virus fixe geimpft. Von den 4 Hunden wurde einer am 4., einer am 5. und ein anderer am 6. Tage geopfert. Der letzte wurde am 8. Tage beim ersten Auftreten der Symptome getötet.

Nur bei den zwei Hunden, welche am 6. Tage und bzw. beim ersten Auftreten der Symptome geopfert wurden, fand sich das Ammonshorn infiziert. Jedoch nur bei letzterwähntem Tiere ergab die Sektion sehr kleine Negri-Körperchen.

Aus diesen Versuchen lassen sich ziemlich interessante Folgerungen ableiten. Dieselben besagen nämlich: 1) daß das Ammonshorn bereits 4 Tage vor dem Ausbruch der ersten Symptome ansteckend wirken kann, sobald am Ischiadicus Einimpfung, sei es mit Straßenvirus, sei es mit Virus fixe, wodurch man also jeder Entgegnung aus dem Wege geht, erfolgt; 2) daß auch nach 2—3 Tagen, nachdem das Virus im Ammonshorn zum Vorschein gekommen, keine Negri-Bildungen beobachtet werden.

Andere Schlüsse in Bezug auf die Bedeutung der Negri-Körperchen sind aus Vorstehendem nicht zu ziehen, es erhellt jedoch deutlich daraus, daß das Virus und die Negri-Körperchen unabhängig voneinander auftreten können, sei es an dem bevorzugten Sitz jener Körperchen, sei es in der Form von Tollwut mit nicht sehr raschem Verlauf.

#### Die Experimentalwut im Murmeltier während des Winterschlafes und in wachem Zustand.

Im Winter 1904/1905 ist mir eine ausgiebige Anzahl von Murmeltieren zur Verfügung gestellt worden und bot mir Gelegenheit, das Verhalten dieser Tiere gegenüber verschiedenen Infektionskrankheiten, sei es im wachen Zustande, als auch während des Winterschlafes, zu beobachten.

Neben anderen Infektionserscheinungen wurde auch die Tollwut beobachtet. Die Resultate bieten einiges Interesse, weshalb ich dieselben hier anziehe.

Die Einimpfung mit Tollwutvirus habe ich stets am Ischiadicus vorgenommen, weil ich durch früher angestellte Versuche über die Gefahr belehrt worden war, welche die subdurale Einimpfung infolge eintretender Hämorrhagie mit sich zu bringen pflegt, sobald man sich des Trepanns zur Operation bedient.

Es wurden 7 Murmeltiere inokuliert, teils in wachem Zustande, teils während der Lethargie, eines der Tiere im Stadium gewohnter Ueberwinterung, jedoch unter so gearteten Temperaturverhältnissen, daß das Tier fast immer wach war.

Hier das Resultat. Ich bemerke dazu, daß die Diagnose auf Tollwut jederzeit mit Serierendurchgängen (wenigstens zwei Passagen) durch Kaninchen gestellt wurde. Als Impfstoff wurde der Bulbus des toten Murmeltieres verwendet.

5. Dez. 1904. Ein Murmeltier wird mit Straßenvirus geimpft. Das Tier ist im lethargischen Zustand. Es verendete an Tollwut am 7. Febr. 1905. Das Hirn überträgt in 28 Tagen Tollwut auf die Kaninchen.

29. Dez. 1904. Ein Murmeltier wird mit Virus fixe geimpft. Es befindet sich im lethargischen Zustand. Es stirbt an Tollwut am 28. März 1905. Sein Hirn tötet ein Kaninchen durch Tollwut in 7 Tagen!!

29. Dez. 1904. Ein Murmeltier wird mit Virus fixe in halb lethargischem Zustande geimpft. Es stirbt an Tollwut am 1. Febr. 1905. Sein Gehirn tötet ein Kaninchen durch Tollwut in 7 Tagen!!

11. März 1905. Ein Murmeltier in wachem Zustand wird mit Virus fixe geimpft. Es verendet an Tollwut unter Symptomen von Paralysis am 30. März 1905. Die mit dem Bulbus des Murmeltieres geimpften Kaninchen gehen in 10—12 Tagen zu Grunde.

11. März 1905. Ein Murmeltier in wachem Zustande wird mit Straßenvirus geimpft. Es verendet an Tollwut unter paralytischen Symptomen am 12. April 1905.

Die mit dem Bulbus des Murmeltieres geimpften Kaninchen verenden in 16—18 Tagen.

Zwei weitere Murmeltiere, eines in lethargischem, das andere in wachem Zustande, welche mit Virus fixe geimpft wurden, überleben die Operation.

Von sämtlichen Murmeltieren wurde das Ammonshorn geprüft, bei keinem jedoch gelang das Auffinden von Negri-Körperchen.

Die Tatsache war von so schwerwiegender Bedeutung<sup>1)</sup>, daß es mir nicht möglich war, zuverlässige Schlüsse auf Grund der von mir konstatierten 5 Fälle zu ziehen. Ich behalte mir also weitere Untersuchungen in geeigneter Jahreszeit vor. Immerhin sei auf diesen Umstand schon jetzt hingewiesen. Leider wurden nur in 2 Fällen die Rückenmarksganglien fixiert und ebenfalls nur in 2 Fällen wurde das Kleinhirn behalten.

An den Ganglien waren erhebliche Schädigungen nicht wahrzunehmen. Nur in einem Fall waren Anzeichen von Gehuchterscher Verletzungen zu beobachten.

In keinem der Ganglien waren Negri-Körperchen wahrzunehmen. In einem der beiden Kleinhirne wiesen die Purkinjeschen Zellen in sehr reicher Menge feine eosinophile Granulationen auf, welche an die Granulationen erinnern, deren bereits Negri selbst, Pace, Volpino und ich bereits Erwähnung getan haben<sup>2)</sup>.

1) Nun kann aber selbstverständlich die Einwendung gemacht werden, daß beim Innest in den Ischiadicus die endocellulären Formen im Ammonshorn fehlen konnten. Ich behalte mir vor, das subdurale Innest von neuem zu versuchen, wengleich ich nicht der Ansicht bin, daß der Umstand, daß das Innest in die Nervenbahn das Auftreten der Negrischen Körperchen im Ammonshorn nicht begünstigt (wenigstens bezüglich des Hundes), angezweifelt werden kann.

2) Verschiedene Forscher (Dominici, Pace) haben darauf hingewiesen, daß

Im übrigen wiesen die Nervenzellen sehr deutlich Bildungen auf, welche in teilweise weiten Vakuolen enthalten waren, welche erstere sich nach Mann gelblichrot-orange färbten, grünlich dagegen nach Romanowsky, die, wenn sie vielleicht auch nicht in Verbindung stehen mit Seniumerscheinungen des Murmeltieres, Lipochrome sein könnten. Ihre außerordentliche Menge, ihre Regelmäßigkeit und vor allem die Tatsache, daß sie in deutlich umschriebenen Vakuolen enthalten sind, verdienen es, die Aufmerksamkeit auf ihr Vorhandensein hinzulenken. In einigen Zellen zeigte die ganze protoplasmatische, perinukleäre Zone große Vakuolen mit diesen körnigen Anhäufungen.

Wenn sich diese Erscheinung, nämlich die Abwesenheit von Negri-Körperchen im tollwütigen Murmeltier bestätigen sollte (ich wiederhole, in 5 Fällen, soweit die betreffenden Teile geprüft wurden, hat sich wenigstens in den geprüften Teilen keine Spur davon vorfinden lassen, allein dieses schwerwiegende Faktum legt mir die Notwendigkeit auf, meine Untersuchungen, auch was die schon geprüften Sitze anbetrifft, weiter auszudehnen vor Abgabe eines absoluten Urteils), wird sich uns im Murmeltier ein Tier präsentieren, das bei Empfänglichkeit für Tollwut dieselbe in sich aufzunehmen im stande ist, ohne spezifische Bildungen aufzuweisen.

Einstweilen bleibt festgestellt, daß Murmeltiere auf dem Wege des Nervensystems mit verhältnismäßiger Leichtigkeit von Tollwut infiziert werden können (7 Untersuchungen ergaben 5 positive Fälle) und daß während der Lethargie die Dauer der Inkubationsperiode auch bei Tollwut durch Virus fixe verlängert werden kann.

Auch in wachem Zustande jedoch kann sich im Murmeltier die Wirkung von Virus fixe langsamer als im Kaninchen erweisen. Andererseits scheint es nicht, daß das durch das Murmeltier hindurchgegangene Virus dem Kaninchen gegenüber an Stärke erheblich einbüße; denn das Hirn des zweiten 3 Monate nach Inneßten Murmeltieres erzeugte die Tollwut im Kaninchen innerhalb 7 Tagen.

\* \* \*

#### Versuch von Uebertragung der Tollwut auf kaltblütige Tiere.

Ich bringe hier in wenig Zeilen einige Versuche von Uebertragung der Tollwut auf kaltblütige Tiere. Die Versuche würden, da sie negatives Resultat ergaben, keine Erwähnung verdienen, allein ich setze sie deshalb hierher, weil Remlinger<sup>1)</sup> publizieren zu müssen geglaubt hat, die Schildkröte sei unempfänglich für Tollwut.

Schon 1903 in Bern gemeinsam mit Dr. Heller und mehrmals später in Turin habe ich versucht, kaltblütige Tiere tollwütig zu machen. Ich verwandte verschiedene Arten Fische, Amphibien und Reptilien, diese wurden auf verschiedene Weise mit Straßenvirus und Virus fixe geimpft, auch hielt ich die Tiere in einer Temperatur von 20°, 25°, 30°, 37°. Das Ergebnis war stets negativ.

Noch mehr. Bei einigen Fröschen, welche endocerebral inokuliert worden waren, war schon 5 Tage nach Impfung jede Spur von Virus

diese Granulationen auch mit den kleinen Negrischen Körperchen verwechselt werden können. Im allgemeinen gestattet jedoch die Romanowskysche Methode eine gute Diagnose, da in diesen Granulationen stets der basophile Zentralkörper fehlt.

1) Remlinger, Compt. rend. de la soc. de biol. T. XXIX. 1904.

verschwunden. Dasselbe Resultat hatte Einimpfung in die Lymphsäcke zur Folge.

Auch bei einem großen Tropenreptil (*Varanus varius*) erwies sich die endonervöse Einimpfung erfolglos. 8 Tage nach der Einimpfung war kein Virus in dem behandelten Teile des Nervs, wo dasselbe in großer Menge eingeführt wurde, nachweisbar; auch im Zentralnervensystem war keine Spur davon.

Die histologische Untersuchung ergab keinerlei Verletzungen, auch von endocellularen Bildungen war kein Anzeichen zu gewahren.

Es scheint demnach unmöglich, die Tollwut auf kaltblütige Tiere übertragen zu können, auch wenn sie bei 37° Temperatur gehalten werden und man zu allerlei Kunstmitteln Zuflucht nimmt. Das Virus wird bei ihnen rasch ausgeschieden oder getötet.

#### Die rasche Auffindung der Negri-Körperchen im Zentralnervensystem der Hunde.

Zur raschen Auffindung der Negri-Körperchen im Zentralnervensystem tollwutverdächtiger Hunde sind verschiedene Methoden in Vorschlag gebracht worden. Zweifellos leistet die von Negri ursprünglich empfohlene Methode Mann ausgezeichnete Dienste, wobei die Stücke in gesättigtem Sublimat oder in Zenker fixiert und in Paraffin eingebettet werden. Noch feiner für das Studium der Struktur der Negri-Körperchen sind verschiedene von Volpino vorgeschlagene Methoden (Romanowsky, Borrelblau, Pikrokarmine-Methylenblau).

Für eine rasche Diagnose der Gehirne der tollwutverdächtigen Hunde ist es jedoch nützlich, von den Methoden, welche Einschließung in Paraffin oder Celloidin erfordern, Abstand zu nehmen. Sehr wohl eignet sich die Fixierung in Osmiumsäure, die rasche Erhärtung der Stücke in Alkohol, worauf Schnitte mit der freien Hand vorgenommen werden.

Diese Methode ist praktisch und leicht ausführbar. Sie besitzt nur einen Nachteil außer den Kosten für Fixierung in Osmiumsäure, sie gibt nämlich unregelmäßige und grobe Sektionen, die aber immer noch eine Diagnose erlauben.

Ich wollte mich überzeugen, ob der Gebrauch des Gefriermikrotoms dienlicher erscheine, dessen Anwendung heute allgemein geworden, wenn die moderneren Typen Sartorius' mit Kohlensäure gebraucht werden.

Man kann brauchbare Präparate erzielen, wenn man folgendermaßen verfährt:

Die kleinen Stücke Ammonshorn läßt man 2 Stunden in Formalin zu 10 Proz., dann werden dieselben mit dem Gefriermikrotom sezirt (man erzielt ohne Schwierigkeit Schnitte von 10  $\mu$ ), die Schnitte werden in Wasser gestellt, auf dem Deckglas sorgfältig ausgebreitet (unerlässlich sind die in solchen Fällen üblichen Kunstgriffe, um die Schnitte auf das Deckglas zu bringen), dann wird das Deckglas abgetrocknet und für einige Stunden in den Ofen gesteckt. Sobald die Schnitte aufgeklebt sind, werden sie nach Romanowsky gefärbt und die Schnitte in Alkohol differenziert, bis das Präparat beinahe farblos erscheint. Dann wird ihm das Wasser entzogen, in Xylol gebracht und montiert.

Die Kerne und zum Teil das Zellprotoplasma erscheinen blau, die roten Blutkörperchen erscheinen rot und die Negri-Körperchen in leichtem Rosa.

Diese Präparate lassen sich in 8—10 Stunden hervorbringen und obgleich die partielle Fixierung in Formalin die Elemente alteriert,

so erscheinen die Präparate dennoch hinreichend deutlich, um eine zuverlässige Diagnose zu ermöglichen.

In dergleichen Fällen erweist sich die Färbung nach der Methode Mann unwirksam, nur wenig geeignet erscheint das Pikrokarmín.

Immerhin würde ich von dieser Methode denjenigen abraten, welche in dergleichen Untersuchungen wenig bewandert sind; da die Negri-Körperchen infolge ihrer leicht rosaroten Farbe übersehen werden können.

Für diejenigen, welche in dergleichen Untersuchungen wenig bewandert sind, bringe ich das von Volpino empfohlene Verfahren mit Osmiumsäure in Vorschlag, da man mit diesem viel weniger der Gefahr ausgesetzt ist, in Irrtümer zu verfallen.

Leider erweisen sich als unverwendbar Stücke, welche in Osmiumsäure fixiert wurden, um mittels des Gefriermikrotoms zerlegt zu werden, weil die in Osmiumsäure fixierten Stücke während des Gefrierprozesses mit Leichtigkeit auseinanderfallen.

Um bei diesen Präparaten die Methode Mann anwenden zu können, welche deutliche Präparate erzeugt, empfiehlt sich folgendes Verfahren: Man schneide kleine Stücke vom Ammonshorn, fixiere sie 2 Stunden lang in gesättigtem Sublimat, ziehe sie in Alkohol (50°) mit einem Zusatz von Jod, und lasse sie 3 Stunden in Alkohol. Dann werden sie rasch gewaschen und seziiert.

Man klebt die Sektionen an und färbt sie zu 10—15' mit Mann. Die Fixierung gelingt ziemlich gut, wenn die Stücke sehr klein sind; jedoch wird man nie so wohl nüancierte Präparate erzielen, als dies bei Anwendung der üblichen Fixierungs- und Inklusionsmethoden der Fall ist.

Auch muß daran erinnert werden, daß, wenn Jod nicht in hinreichender Menge dem verdünnten Alkohol zugesetzt wird, man Gefahr läuft, das Messer mit Residualsublimat zu verderben. Zur Vermeidung der Gefahr gebrauche man sehr kleine Stücke.

Bei Anwendung dieser Methode möge man sich auch hüten, die Stücke durch allzustark jodierten Alkohol hindurchgehen zu lassen, weil in diesem Falle sehr leicht die Möglichkeit gegeben ist, daß das Stück während des Gefrierungsprozesses in Stücke zerfällt.

Bei Befolgung dieser Methode kann man gut konservierbare Präparate in 10 Stunden erzielen.

Zum Schlusse glaube ich aber nochmals darauf hinweisen zu müssen, daß diese Schnellmethoden in der Regel nicht zur Anwendung kommen sollen, am allerwenigsten aber sollen sie denjenigen dienen, die nur wenig technische Kenntnisse besitzen.

#### Infektionsvermögen des Speichels des wutkranken Menschen. — Filtrierbarkeit des im Speichel befindlichen Virus.

Während diese Arbeit sich schon im Druck befand, hatte ich Gelegenheit, einige schon begonnene Untersuchungen über die Infektionsfähigkeit des Speichels des wutkranken Menschen fortzusetzen.

Bekannt ist, daß nicht alle der Ansicht sind, daß der Speichel des wutkranken Menschen kein Virus berage. Volpino und ich haben jedoch im Jahre 1903 eines Falles erwähnt, in dem im Speichel absolut kein Virus vorzufinden war.

Nun hat sich mir die Gelegenheit geboten, einen anderen Fall gründlich studieren zu können. Es handelte sich um einen im Antiwut-



institute in Turin aufgenommenen und am 27. Mai 1905 an Wut verstorbenen Knaben. Am 26. konnte ich eine bedeutende Quantität Speichel ansammeln, mit dem unter Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln 6 Kaninchen (und zwar 2 derselben in den Hüftnerve) inokuliert wurden. Zwei Kaninchen starben aus anderen Gründen. Die anderen wurden mit einer geringen Inkubationsdauer (12 Tage für die intracraniell, 16 Tage für die in den Hüftnerve inokulierten).

Bei derselben Gelegenheit wurde ein Teil des Speichels durch ein Berkefeld 5 filtriert (5 l pro 1 Minute mit  $\frac{2}{3}$  Atmosphären Druck). Das Filtrat wurde dann 4 Kaninchen intracraniell innestiert.

Drei derselben verendeten an Wut in 18—20 Tagen.

Ohne weiter darauf einzugehen, besteht also die Tatsache zu Recht, daß in manchen Fällen der Speichel des wutkranken Menschen aktiv und virulent sein kann und das Speichelvirus durch ein Berkefeld No. 5 durchzugehen vermag.

Nachdruck verboten.

## Notizen zur Helminthologie Aegyptens VI. Das Genus *Trichostrongylus* n. g., mit zwei neuen gelegentlichen Parasiten des Menschen.

Von Dr. A. Looss, School of Medicine, Cairo.

(Mit 1 Tafel).

Vor einigen Jahren beschrieb ich unter dem Namen *Strongylus subtilis* einen kleinen Strongyliden aus dem Duodenum des Menschen in Aegypten (1896). Ich habe in der Zwischenzeit diesen Parasiten mehrfach wiedergefunden, aber immer nur in relativ geringer Individuenzahl, bis höchstens etwa 30 oder 40 Stück in demselben Wirte; durch Ogata und Ijima ist anscheinend die gleiche Art auch aus Japan bekannt geworden, wo sie gelegentlich in großer Menge im Menschen auftritt.

Im Anfangsteil des Duodenums der Schafe (*Ovis aries*, *Ovis laticauda*) findet sich in Aegypten in oft kolossaler Menge ein kleiner Strongylus, den ich bisher — allerdings nur auf einen flüchtigen Vergleich hin — für *Strongylus instabilis* Railliet gehalten hatte. Bei einer behufs genauerer Identifikation der Species vorgenommenen vergleichenden Durchsicht des gesammelten Materiales stellte sich heraus, zunächst, daß in diesem Materiale nicht nur eine, sondern 3 einander sehr ähnliche, aber vollkommen distinkte Species enthalten sind, und ferner, daß eine von diesen unzweifelhaft mit *Strongylus subtilis* zusammenfällt. Der Nachweis der letzteren Art im Schafe ließ die Frage entstehen, ob *Strongylus subtilis* nicht vielleicht unter anderem Namen schon aus Wiederkäuern in der Literatur beschrieben vorliege. Soweit ich sehen kann, würden hierfür 2 ältere Species in Betracht kommen, *Strongylus colubriiformis* Giles 1892 aus Schafen Indiens und *Strongylus instabilis* Railliet 1893 aus europäischen Schafen; *Strongylus gracilis* McFadyean 1896 aus dem Rinde und *Strongylus probolurus* Railliet 1896 aus dem Kamel sind später beschrieben als *Strongylus subtilis*. Von allen 4 Arten stehen mir im Momente nur die Beschreibungen und Abbildungen der ersten Autoren zur Verfügung; ein Vergleich der gedruckten Daten mit den mir in natura

vorliegenden Species ergibt nun, daß keine der Beschreibungen positiv auf eine meiner Species bezogen werden kann<sup>1)</sup>. Wohl stimmen alle in ihrer allgemeinen Organisation in hohem Grade überein und dürften demnach Angehörige eines natürlichen Genus sein; die unscheinbaren, aber durchaus konstanten Charaktere, welche die einzelnen Species voneinander trennen, sind dagegen in den vorhandenen Beschreibungen entweder gar nicht oder in so allgemeiner Form erwähnt, daß sie auf mehrere distinkte Arten in gleicher Weise bezogen werden können, zur Wiedererkennung der wirklichen Art also nicht genügen.

Ich habe vor einigen Jahren nachzuweisen versucht, daß im Bereiche der digenetischen Trematoden die wirklichen Species bis in die neueste Zeit hinein vielfach nicht erkannt und auseinandergehalten, sondern miteinander verwechselt oder höchstens als Varietäten einer gewissen Art betrachtet wurden, und daß auf diese Weise natürliche Genera mit mehreren Arten auf dem Niveau isoliert stehender, mehr oder minder variabler Species stehen blieben. Ganz das Gleiche gilt für die Nematoden, wenn auch hier vielleicht nicht in so ausgedehntem Maße. Ich werde nachher zeigen, daß die 3 kleinen Strongyliden aus den Schafen Aegyptens Mitglieder einer natürlichen Gattung sind, die sich voneinander durch ganz konstante Merkmale unterscheiden; wir werden auch finden, daß gerade diese Merkmale in den existierenden Beschreibungen der 4 anderen Arten nicht erwähnt sind, wodurch eine sichere Bestimmung der Species nach diesen Beschreibungen unmöglich wird. Es ist bei diesen Erörterungen nicht meine Absicht, zu kritteln und die Arbeiten meiner Vorgänger und Mitarbeiter herabzusetzen, sondern ich handle im Interesse der Wissenschaft: Es ist meine Ueberzeugung, daß die Beschreibungen von Arten in Zukunft präziser werden müssen, wenn sie nicht zu ständigen Verwechselungen mit zwar nahe verwandten und in denselben oder ähnlichen Wirten wohnenden, aber durchaus selbständigen Arten führen sollen. Wenn wir auf diese Weise eine Uebersicht über die Mannigfaltigkeit der wirklich existierenden Formen gewonnen haben, dann wird sich auch zeigen, daß die gegenwärtige Systematik der Nematoden zum Teil noch ungenügender und veralteter ist, als es die der Trematoden vor 60 Jahren war.

*Strongylus colubriformis*, *instabilis* und *gracilis* sind neuerdings noch Gegenstand der Besprechung gewesen in einer Arbeit von Stödter. Dieser Autor kommt zu dem Schlusse, daß alle 3 Arten nicht nur unter sich, sondern auch mit dem *Strongylus retortaeformis* Zeder 1800 identisch seien, resp. Varietäten desselben darstellen; auf Grund meiner Beschreibung des *Strongylus subtilis* wird auch diese Form als Varietät zu *Strongylus retortaeformis* gezogen. Ich erkenne ohne Zögern an, daß die Arbeit von Stödter eine fleißige und strebsame ist, aber selbst eine fleißige Arbeit kann in wissenschaftlicher Hinsicht nicht nur keinen Fortschritt, sondern einen distinkten Rückschritt bedeuten, wenn sie von irrigen Voraussetzungen ausgeht und zu irrigen Schlüssen gelangt. Das letztere gilt meines Erachtens für die Arbeit von Stödter. Daß der Autor alle die verschiedenen, in verschiedenen Wirten und in verschiedenen Gegenden gefundenen Formen auf Grund der vorhandenen allgemein gehaltenen Beschreibungen nur für Varietäten einer und derselben Art hält, ist wohl unter dem Einflusse der alten Ansicht von der weitgehenden Variationsfähigkeit der Helminthenspecies geschehen und soll

1) Vergl. hierzu die „Nachschrift bei der Korrektur“ am Ende des Artikels.

ihm von mir nicht zum Vorwurf gemacht werden, obwohl ich auf Grund eigener Erfahrungen diese Variabilität auf das entschiedenste bestreite. Ein unzweifelhafter Fehler der Stödterschen Arbeit ist es dagegen, daß er die in den Originalbeschreibungen der ursprünglichen Arten enthaltenen Daten, obwohl sie oft weit voneinander abweichen, in eine einzige Beschreibung des „*Strongylus retortaeformis* Zeder 1800“ zusammenfaßt; dadurch kommt eine Charakteristik heraus, die auf keine der einzelnen Arten völlig mehr paßt, und ihre sichere Bestimmung resp. Wiedererkennung zur Unmöglichkeit macht. So ist „*Strongylus retortaeformis* Zeder 1800“ nach Stödter im Männchen 3—7, im Weibchen 3—9 mm lang; nach dem herrschenden Brauche wird der Leser diese Maße auf geschlechtsreife Exemplare beziehen; sie passen jetzt aber auf keine der einzelnen „Varietäten“ mehr. Der echte *Strongylus retortaeformis* aus Hasen und Kaninchen wird allerdings 7—8 mm lang, ist dagegen bei 3 mm Länge noch weit von der Geschlechtsreife entfernt; soll andererseits die niedrigere Maßangabe für Jugendstadien gelten, dann ist sie völlig willkürlich, denn der junge, eben in seinen definitiven Wirt eingewanderte *Strongylus retortaeformis* dürfte etwa  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  mm messen. Abweichend von dem echten *Strongylus retortaeformis* sind die „Varietäten“ *gracilis* McFadyean aus Rindern bei 3—4 und *instabilis* Railliet aus Schafen bei 4—6,5 mm Länge geschlechtsreif; eine Maximallänge von 7—9 mm paßt demnach auf sie nicht. So wie hier an einem Beispiel gezeigt, behandelt Stödter auch die übrigen Angaben in den Beschreibungen der ursprünglichen Autoren.

Außer der Literatur hat er einige Arten in natura studiert, und kommt dabei zu Schlüssen, mit denen ich mich ebenfalls nicht einverstanden erklären kann. Er findet im Labmagen von Rindern eine Form, „welche mit der von McFadyean gegebenen Beschreibung des *Strongylus gracilis* vollkommen übereinstimmt“; meiner Auffassung nach würde das darauf hinweisen, daß *Strongylus gracilis* eine wohlerkennbare, d. h. selbständige, in Rindern lebende Form ist. Mit dieser Form vergleicht der Autor Exemplare von *Strongylus retortaeformis* (es ist nicht ausdrücklich gesagt, doch ist anzunehmen, daß diese aus *Lepus*-Arten stammten) und Exemplare eines *Strongylus retortaeformis* aus dem Labmagen von *Capra hircus*. Dieser Vergleich kann nun entweder kein sehr intensiver gewesen sein, oder der Autor hat sehr stark unter dem Banne der Variabilitätshypothese gestanden, sonst müßte ihm zum mindesten die verschiedene Gestalt der Spicula bei den Männchen der beiden „Varietäten“ aufgefallen sein. Er gibt eine Abbildung der Spicula von „*Strongylus retortaeformis*“ aus der Ziege; ich glaube in dieser Figur die Gestalt der Spicula wiederzuerkennen, die ich bei einer meiner 3 Formen aus dem Schafe finde, doch bin ich dessen nicht sicher. Ein Autor, der der Ansicht ist, daß die Gestalt der Spicula individuell in weiten Grenzen variieren kann, wird den Einzelheiten dieser Gestalt in der Regel keine genaue Aufmerksamkeit schenken und sie in den Abbildungen auch nicht genau wiedergeben, da sie ihm ja nur als mehr oder minder Zufälligkeiten erscheinen. Ich glaube dies nicht außer acht lassen zu dürfen und kann deshalb Stödters Form aus der Ziege nicht bestimmt, sondern nur als möglicherweise dieselbe in Anspruch nehmen, die ich hier in Aegypten finde. Die Gestalt ihrer Spicula ist aber total verschieden von der Gestalt, die die Spicula bei dem echten *Strongylus retortaeformis* aus *Lepus timidus* und *Lepus cuniculus ferus* aufweisen (s. Fig. 2 und 13). Vergleicht man andererseits die Gestalt, welche die

Spicula innerhalb der „Varietät“ aus dem Hasen und innerhalb der „Varietät“ aus der Ziege besitzen, dann ergibt sich, daß diese Gestalt hier nur in so minimalen Grenzen variiert, daß die typische Form niemals auch nur für einen Moment zu verkennen ist; mit anderen Worten, daß wir zwei zwar ähnliche, aber durchaus selbständige Typen von Spiculis vor uns haben. Die Erkenntnis dieses Faktums ist leicht, wenn ein aus einem gewissen Wirte stammendes Material nur eine Art enthält, wird dagegen mehr oder minder erschwert, wenn in dem Materiale zwei oder mehrere Typen von Spiculis vorkommen; hier kann man den Eindruck der Unbeständigkeit in ihrer Form tatsächlich erhalten. Man mache sich in einem solchen Falle aber nur einmal die Mühe, die Individuen nach den „Varietäten“ ihrer Spicula zu separieren; die Prozedur ist etwas langwierig, aber die Mühe lohnt sich, und wer sich ihr einmal an einem großen Materiale unterzogen hat — nicht oberflächlich, sondern mit Ernst und Aufmerksamkeit — der wird am Ende zum Beweise der so allgemein angenommenen, weitgehenden Variationsfähigkeit der Species nicht mehr viel übrig haben. Hat man die wirklichen Typen der Spicula erkannt, dann wird man weiterhin finden, daß sie von der Species des Wirtes, in welchem die Eigentümer der betreffenden Spicula leben, gänzlich unabhängig sind. Ich verweise hier auf die Figuren 5—7, welche die Spicula des *Strongylus subtilis* aus 3 von seinen 5, weiter unten genannten Wirten darstellen (eine Darstellung aus allen 5 wäre Raumverschwendung gewesen); sie sind unter sich nicht absolut identisch, sondern zeigen leichte Variationen, wie sie auch unter den Individuen aus der gleichen Wirtsspecies allgemein auftreten; niemand wird aber verkennen, daß hier ein und dieselbe Spicularform vorliegt, besonders wenn man die Abbildungen Fig. 2, 10, 13 daneben hält, für die ihrerseits — in Bezug auf Konstanz innerhalb der Species und Variabilität innerhalb der Individuen — genau das Gleiche gilt, was ich oben für die Spicula des *Strongylus subtilis* gesagt habe. Die Form der Spicula ist für die Art charakteristisch, ganz gleichgültig, in welcher Wirtsspecies die Individuen dieser Art leben. Im allgemeinen ist diese Tatsache seit langem bekannt und anerkannt; sie bewahrheitet sich bei genauem Zusehen auch in Fällen, wo eine oberflächliche Beobachtung gegen sie zu sprechen scheint. Sorgfältige Beobachtung wird ferner zeigen, daß mit jeder selbständigen Spicularform noch andere, oft unscheinbare Eigentümlichkeiten der übrigen Organisation bei Männchen und Weibchen verbunden sind; Eigentümlichkeiten, die in der gleichen allgemeinen Organisation der Würmer allerdings leicht verschwinden, resp. übersehen werden, welche die Erkennung der Art aber auf den ersten Blick ermöglichen, sobald man einmal auf sie aufmerksam geworden ist.

So sehe ich mich veranlaßt, der Ansicht Stödters (und aller anderen Autoren, die dieselbe Auffassung haben), nach welcher alle die hier in Rede stehenden Formen nur Varietäten des *Strongylus retortaeformis* Zeder darstellen, entgegenzutreten und die ursprünglichen Arten als selbständig wieder herzustellen. Eine weit schwierigere Frage bleibt die, ob sie sämtlich identifizierbar und voneinander verschieden sind. Ich habe bereits oben darauf hingewiesen, daß aus den von ihnen vorliegenden gedruckten und veröffentlichten Beschreibungen keine meiner 3 ägyptischen Arten positiv wiederzuerkennen ist (die Identifikation des *Strongylus probolurus* beruht, wie wir nachher sehen werden, auf privaten Mitteilungen). Das kann daran liegen, daß ich tatsächlich selbständige

Formen vor mir habe, ist andererseits aber bis zu einem gewissen Grade unwahrscheinlich bei Parasiten von Wirten, die so allgemein verbreitet sind, wie die Haustiere. Bestimmteres wird die Zukunft zeigen müssen.

Die 3 ägyptischen Arten stimmen in ihrem Baue so vollkommen überein, daß sie als anatomische Einheit, d. i. als natürliche Gattung betrachtet werden müssen; derselben gehört weiter auch *Strongylus retortaeformis* Zeder 1880 aus Hasen und Kaninchen an. Die Hauptcharaktere des neuen Genus lassen sich kurz in folgender Diagnose zusammenfassen.

#### Genus *Trichostrongylus* n. g.

Sehr kleine und zarte Strongyliden von im Leben rötlicher Farbe; Körper von der Genitalöffnung an nach vorn ganz allmählich und gleichmäßig verjüngt. Kopf nur ca. 0,01 mm im Durchmesser mit 3 kleinen, nicht immer deutlich erkennbaren Lippen und knötchen- oder punktchenförmigen Papillen, ohne Hautverdickungen. Haut querverringelt, aber ohne Längskanten, Halspapillen fehlen. Mundhöhle nicht besonders differenziert, Oesophagus lang mit stark entwickelter, einfach schlauchförmiger dorsaler Drüse. Nervensystem und Exkretionsporus etwa 0,15 mm hinter der Kopfspitze; Körper der Halsdrüsen hinter dem Oesophagus und vollkommen hintereinander gelegen. Bursa des Männchens ringsum geschlossen, mit großen Seitenlappen, ohne deutlichen Mittellappen. Ventralrippen weit auseinanderweichend und von sehr verschiedener Dicke; die ventrale dünn und ventralwärts gerichtet, die laterale dick und dicht an die 3 Lateralrippen angelagert. Von diesen ist die Posterolateralrippe dünner als die übrigen und der Externodorsalrippe genähert; Dorsalrippe kurz, am Ende gespalten. Spicula kurz, nicht eigentlich gedreht, sondern löffel- oder spatelförmig, an dem verbreiterten Vorderende mit einem seitlichen, knopf- oder scheibenförmigen Ansatz, ihr nach hinten gerichteter Stiel vor der Spitze mit einem mehr oder minder stark hervortretenden winkelförmigen Vorsprung, durch den die Spitze hakenförmig abgesetzt sein kann. Ein Gubernaculum (accessorisches oder Mittelstück) von eigenartiger, im Profil kahn- oder schuhförmiger Gestalt stets vorhanden. Präbursalpapillen klein. Hodenschlauch einfach, nicht gewunden. Eiröhren des Weibchens nur bei älteren Individuen leicht gewellt, die vordere vor ihrem Ende eine oder einige stärkere Längsschlingen beschreibend. Ovejektoren stark entwickelt; an das unpaare, die Verbindung mit der Vagina herstellende Mittelstück setzen sich vorn und hinten erst ein längeres, dann ein kürzeres stark muskulöses Stück an, auf welches letztere noch ein zelliges folgt. Weibliche Genitalöffnung in der hinteren Körperhälfte, spaltförmig, gerade oder halbmondförmig gebogen, von etwas aufgeworfenen Chitinlippen umgeben. Postanaler Körperteil (Schwanz) relativ kurz mit zwei minimalen Kaudalpapillen dicht vor der Spitze. Eier mittelgroß, dünnchalig, farblos, enthalten bei der Ablage meist zwischen 8 und 32 Embryonalzellen. Parasiten im Duodenum, seltener im Magen von Pflanzenfressern.

Typus: *Trichostrongylus retortaeformis* (Zeder) 1800.

Zu dieser Diagnose sind noch einige Erläuterungen nötig. Die kleinen, die Mundöffnung umgebenden Lippen sind im geöffneten Zustande ohne Schwierigkeit zu erkennen, entziehen sich dagegen der Beobachtung sehr leicht, wenn sie geschlossen, resp. eingezogen sind. Von fast allen Autoren werden bei den hierhergehörigen Arten inkonstante

flügelartige Auftreibungen der Haut dicht hinter dem Kopfe beschrieben; ich habe diese ebenfalls oft beobachtet, aber nur bei nicht mehr ganz frischen Würmern; bei lebenden, dem noch warmen Darms des Wirtes entnommenen habe ich sie nie gesehen und halte sie deshalb für postmortale Quellungen der Haut; eine ähnliche Ansicht ist bereits von Yung (1896 p. 307) vertreten worden. Das Vorderende der Tiere scheint besonders hinfällig zu sein und läßt, bei längere Zeit nach dem Tode der Träger konservierten Würmern, oft keine deutliche Struktur mehr erkennen, während der übrige Körper etwa vom Ende des Oesophagus ab histologisch noch völlig intakt erscheint. Als Prodromalerscheinungen dieses Zerfalles fasse ich auffallende Schwankungen in Länge des Oesophagus auf, die man bei nicht mehr ganz frischen Würmern findet. Während bei lebendig konservierten der Oesophagus den Körper in gerader Linie durchzieht, ist er bei nicht mehr frischen merklich kürzer und sein dünnerer Anfangsteil ist, besonders vor dem Nervensystem, in dichte Querwindungen gelegt, anscheinend infolge einer Längenkontraktion des gesamten Tierkörpers. Eine solche Kontraktion tritt in geringerem Grade auch bei Konservierung lebender Würmer in heißem Alkohol ein; wenigstens sind solche Individuen immer etwas kürzer, als andere, die vor der Konservierung längere Zeit in Wasser oder Salzlösung gelegen haben und gequollen sind.

Von einigen neueren Autoren, besonders v. Linstow, wird das Verhältnis zwischen Oesophaguslänge und ganzer Körperlänge zur Charakterisierung der Species benutzt; in Wirklichkeit ist dieses Verhältnis als spezifischer Charakter, soweit ich gesehen, nicht brauchbar, da es sich während der letzten Lebensperiode der Würmer, das ist nach der vierten und letzten Häutung, ziemlich stark ändert. Ich habe eine Anzahl junger, noch keine reifen Geschlechtsprodukte besitzender Exemplare von *Trichostrongylus probolurus* (Raill.) gemessen, und finde bei Individuum von 3—3,3 mm Länge den Oesophagus etwa  $\frac{1}{5,6}$ , bei Individuen von 4—4,2 mm Länge etwa  $\frac{1}{6,7}$  der Körperlänge messend, während er bei reifen Individuen von 5 (♂)—6 (♀) mm Länge nur noch etwa  $\frac{1}{9}$  der Körperlänge hat. Das Verhältnis reduziert sich demnach mit dem Wachstum der Tiere um mehr als ein Drittel seiner ursprünglichen Größe zu Ungunsten des Oesophagus und kann vielleicht zur Charakterisierung eines Altersstadiums, nicht aber zur Charakterisierung einer Species dienen. Das Gleiche gilt in noch höherem Grade von der Länge des Schwanzes, i. e. des postanalen Körperabschnittes. Derselbe variiert schon absolut in gewissen Grenzen, relativ, d. h. im Verhältnis der Länge des übrigen Körpers dagegen so stark, daß man sich die Mühe einer Berechnung ohne Nachteil sparen kann.

Es ist mir, auch bei Anwendung der stärksten Vergrößerungen, nicht gelungen, bei den von mir untersuchten Arten eine Längskanellierung der Haut nachzuweisen. Die quere Ringelung dagegen ist sehr deutlich; die einzelnen Ringel können ohne Unterbrechung rings um den Körper herum verfolgt werden. Bei den Männchen erwecken die sehr scharf hervortretenden Grenzen der Seitenlinien und der (sehr lang gestreckten) Körpermuskeln allerdings oft den Eindruck von Längskanten; doch erkennt man die wahre Natur dieser Streifung leicht bei Anwendung homogener Immersion.

Was die Benennung der Bursalrippen des Männchens anbelangt, so habe ich mich jüngst, auf Grund einer eingehenden Untersuchung des *Ankylostoma duodenale* (cf. 1904 p. 753), genötigt gesehen, die bisher

am meisten adoptierte Schneidersche Bezeichnung etwas abzuändern. Nach ihrem Ursprung aus dem Körper und ihrer Lage müssen sämtliche Rippen in 3 Gruppen geteilt werden, Dorsal-, Lateral- und Ventralrippen; jede Gruppe entspringt mit gesonderter Wurzel aus dem Körper; die Wurzel der Dorsalrippen ist unpaar, die Wurzeln der Lateral- und Ventralrippen sind auf jeder Seite, also paarig vorhanden. Die Zahl der Dorsalrippen beträgt 3; davon liegt die mittlere, eigentliche „Dorsalrippe“ in der dorsalen Mittellinie der Bursa, die beiden seitlichen „Externodorsalrippen“ bereits in den Seitenlappen derselben. Lateralrippen sind jederseits 3 vorhanden; davon schließt sich die „Posterolateralrippe“ an die Externodorsalrippe an; auf sie folgt nach der Bauchseite zu die „Mediolateralrippe“ und auf diese die „Externolateralrippe“. Ventralrippen existieren 2; bei den Sklerostomiden liegen sie dicht aneinander und sind nur bis etwa zur Hälfte ihrer Länge gespalten, unter sich gleich. Bei den Arten des Genus *Trichostrongylus* sind sie bis zur Wurzel hin gespalten und von sehr ungleicher Dicke; die „Ventreventralrippe“ ist dünn und hat ungefähr dieselbe Lage, wie bei den Sklerostomiden, die „Lateroventralrippe“ ist von beträchtlicher Dicke und legt sich der Externolateralrippe gewöhnlich so dicht an, daß sie der Gruppe der Lateralrippen zuzugehören scheint. Die Externodorsal- und Externolateralrippen zeichnen sich allen übrigen Rippen gegenüber dadurch aus, daß die Papillen, in denen sie endigen, auf der Außenseite, nicht auf der Innenseite der Bursa gelegen sind. Um diesen Charakter anzudeuten, habe ich, im Anschluß an Schneider, in der Benennung dieser Rippen das Wort „externo“ beibehalten.

Für die spezifische Trennung der Männchen der *Trichostrongylus*-Arten ist hauptsächlich die relative Länge und Dicke, sowie der Verlauf der paarig vorhandenen Rippen ausschlaggebend; das Verhalten und die Endigung der Dorsalrippe weniger. In bildlichen Darstellungen wird die Bursa seit Schneider sehr allgemein im ausgebreiteten Zustande vorgeführt. Inwieweit sich dabei Schematisierungen notwendig gemacht haben, will ich nicht entscheiden; Tatsache ist, daß bei einer ganzen Anzahl von Arten, und ganz besonders bei konservierten Exemplaren eine völlige Ausbreitung der Bursa in ihrem Zusammenhange mit dem Körper ohne Zerrungen und Zerreißen positiv unausführbar ist. Ich habe deshalb und zur Erleichterung der Identifikation vorgezogen, sie in seitlicher Lage zur Darstellung zu bringen, und es hat sich dabei herausgestellt, daß ihre charakteristischen Eigentümlichkeiten dann noch ebensogut, zum Teil sogar besser, in die Erscheinung treten, als im ausgebreiteten Zustande; außerdem ist sie zur Beobachtung stets leicht und ohne Trennung von dem übrigen Körper in seitliche Lage zu bringen. Die *Trichostrongylus*-Arten rollen bei der Konservierung die Seitenlappen der Bursa stark einwärts, so daß oft nur die Basalteile der Rippen zu sehen sind. Der Erkennung der systematisch wichtigen Charaktere der Bursa tut dies keinen Eintrag.

Die Gestalt der Spicula ist ohne Zuhilfenahme von Querschnitten mit Sicherheit kaum zu eruieren; das Bild, welches ich durch Beobachtung ganzer Tiere von ihrer Form gewonnen habe, ist in der Diagnose gegeben worden; da sie außerdem ziemlich schwer zu beschreiben ist, ersetze ich ihre Beschreibungen hier durch Abbildungen. Für die einzelne Species ist die Gestalt der Spicula, wie ich mich durch Vergleich einer großen Anzahl von Exemplaren zum Teil aus verschiedenen Wirtsarten überzeugt habe, so charakteristisch, daß sie allein zur Erkennung der

Art genügt. Das Gubernaculum (accessorische oder Mittelstück) kann durch die Spicula oft so verdeckt werden, daß es nur bei Seitenlage der Tiere deutlich zu erkennen ist; es ist aber stets vorhanden, wie dies von einem funktionell so wichtigen Organ nicht anders erwartet werden kann. Seine Bewegung wird durch teilweise sehr starke Muskeln vermittelt, die sich an seinem vorderen und hinteren Ende ansetzen. Beim Hervortreten nach außen lagern sich die Spicula in der Weise, daß das rechte mit seiner Spitze nach links, das linke nach rechts zeigt. Die Retraktormuskeln der Spicula setzen sich an deren vordere Enden an und sind nicht viel länger als die Spicula selbst. Zwischen ihnen und der Körperwand findet sich auf jeder Seite des Tieres ein heller, blasenartiger Hohlraum, auf dessen Bedeutung hier nicht eingegangen werden kann. Am Genitalschlauch sind Ductus ejaculatorius mit Zementdrüse, Samenblase und Hoden meist deutlich individualisiert. Ein besonderer Samenleiter ist nicht sicher zu erkennen; die Samenblase erscheint vielmehr als die direkte Fortsetzung des Hodens und ist nur durch eine scharfe Einschnürung der Wand von ihm getrennt. Nicht selten bemerkt man jedoch eine zweite ähnliche Einschnürung, eine kurze Strecke vor dem Beginn der Samenblase; sie stellt anscheinend die Grenze zwischen Hoden und Samenleiter dar. Die Zellen der Zementdrüse sind wenig zahlreich, groß und flach und treten am deutlichsten in die Erscheinung, wenn der von ihnen umhüllte Ductus ejaculatorius nicht stark mit Samenelementen gefüllt ist. Die letzteren sind 0,008 mm lang, 0,002 mm dick, leicht konisch und ähneln in ihrem Aussehen den Epithelzellen des Säugetierdarmes. Am vorderen Ende verdünnt sich der Hodenschlauch ziemlich unvermittelt zu einem Wurmfortsatz-ähnlichen Anhang.

Bei den am Kopfbende mit Strukturen irgend welcher Art ausgestatteten Nematodenarten ist die Bestimmung der zu einem Männchen gehörigen weiblichen Form stets leicht möglich. Da die *Trichostrongylus*-Arten am Kopfe keinerlei charakteristische Ausstattungen tragen, so hat mir die Bestimmung der zusammengehörigen Geschlechter anfangs besonders in einem Falle Schwierigkeiten bereitet, ebenso wie die Trennung der Weibchen der einzelnen Arten voneinander. Um die Frage der Zusammengehörigkeit zu lösen, bin ich so vorgegangen, daß ich die Weibchen zunächst in den Fällen analysierte, wo in dem betreffenden Materiale nur eine Form von Männchen vorhanden war (ich pflege jeden Fund aus jedem Individuum eines Wirtes, auch wenn er anscheinend dieselbe Parasitenart enthält, bis zur genauen mikroskopischen Analyse gesondert aufzuheben). Die gleichzeitig anwesenden Weibchen konnten dann mit Sicherheit als zu den Männchen gehörig betrachtet und spezifisch bestimmt werden. In Fällen von Mischinfektionen (den bei weitem zahlreicheren) wurden erst die bekannten Weibchen ausgesondert, und die übrig bleibenden mit den übrig bleibenden Männchen vereinigt. Es ließ sich auf diese Weise feststellen, daß, wo immer eine männliche Form vorhanden war, auch dieselbe zugehörige weibliche Form in ungefähr entsprechender Individuenzahl zugegen war. Anatomische Charaktere (wie z. B. eine besondere Ausstattung des Kopfbendes), welche Männchen und Weibchen als einander spezifisch zugehörig äußerlich erkennen lassen, habe ich dagegen nicht nachzuweisen vermocht.

Die Charaktere, welche die Weibchen der einzelnen Arten voneinander trennen, liegen in erster Linie in der Gestaltung des Schwanzendes. Diese Tatsache hat mich anfangs etwas überrascht, denn man



war bis jetzt wohl ziemlich allgemein der Ansicht (jedenfalls war ich es), daß das weibliche Schwanzende in seiner Gestalt auch innerhalb der Art ziemlich variabel sei. Für die *Trichostrongylus*-Arten bewahrheitet sich diese Ansicht durchaus nicht; die Gestalt des Leibesendes, obwohl selbstverständlich innerhalb gewisser Grenzen variabel, ist für die einzelne Species doch so charakteristisch, daß sie die Bestimmung meist auf den ersten Blick gestattet. Nur in ganz vereinzelt Fällen können Zweifel auftauchen und hier gibt die Konfiguration der Endteile des Genitalapparates den Ausschlag; sie ist besonders bei den einander am ähnlichsten Weibchen (von *Tr. subtilis* und *Tr. probolurus*) charakteristisch verschieden.

Die Vagina ist ein äußerst kurzer, in der Richtung des Vulvarschlitzes gewöhnlich zusammengefallener Gang, der mit dem muskulösen Endapparat der Genitalröhren in Verbindung tritt. Ich habe diesen Apparat in Anbetracht seiner Funktion als Ovejektor bezeichnet; jeder Uterus hat seinen eigenen Ovejektor; beide Ovejektoren treffen sich in einem kurzen gemeinsamen Gange, in den auch die Vagina eintritt. Jeder Ovejektor besteht, von dem gemeinsamen Stücke abgesehen, aus 3 scharf voneinander gesonderten Abschnitten, einem cylindrischen oder leicht bauchigen (I), welches sich an das gemeinsame Stück anschließt, einem kurzen, mehr kugelförmigen (II) und einem leicht konischen oder keulenförmigen (III), welches mit seinem dünneren Ende an II, mit seinem dickeren an den eigentlichen Uterus sich anschließt. I und besonders II ebenso wie das gemeinsame Stück sind mit einer dicken Lage spiralig verlaufender Muskeln versehen (die sich übrigens erst relativ spät im Verlaufe der individuellen Entwicklung ausbilden), III besitzt keine äußere Auflagerung. Auf den histologischen Bau des Apparates kann hier nicht eingegangen werden. Im Uterus liegen die Eier immer in einfacher Reihe hintereinander, bei jüngeren Weibchen mit ihren langen Achsen aneinanderstoßend, bei älteren schräg aneinander, mit ihren längeren Achsen nicht selten nahezu senkrecht zur Achse des Uterus. Bei jüngeren Weibchen haben ferner die Eier im Uterus ihre Entwicklung noch nicht begonnen, bei älteren enthalten sie zur Zeit der Ablage meist zwischen 8 und 32 Embryonalzellen. Das innere Ende jedes Uterus ist zu einem deutlich individualisierten Receptaculum seminis ausgebildet; der eigentliche Eileiter ist ganz kurz und nicht scharf gegen die Eiröhren abgesetzt. Diese sind ungefähr gleich lang, bei jüngeren Weibchen gestreckt, bei älteren der geringen Dicke des Körpers entsprechend in kurzen  $\sim$ -Windungen verlaufend.

Die dem Genus angehörenden Arten können in folgender Weise charakterisiert werden.

***Trichostrongylus retortaeformis* (Zeder) 1800.**

Fig. 1—3.

**Männchen** im geschlechtsreifen Zustande 5,5—6,5 mm lang; größte Körperdicke etwas vor den Spiculis etwa 0,06 mm. Von den Bursalrippen (in der Seitenlage gesehen) ist die Lateroventralrippe dicker als alle übrigen; die 3 Lateralrippen nehmen vom Bauche nach dem Rücken zu an Dicke ab. Posterolateralrippe relativ weit vom Bursalrande endigend, ihr Ende etwas nach der Dorsalrippe zu gebogen. Ende der Externodorsalrippe etwa halbwegs zwischen Ende der Posterolateralrippe und Dorsalrippe. Letztere erst nahe am Bursalrande in 2 kurze Aeste gespalten, die jeder mit doppelter Spitze endigen. Spicula 0,1—0,11 mm,

Gubernaculum 0,067 mm lang, alle 3 von schmutzig brauner Farbe; betreffs ihrer Gestalt, die sich schwer beschreiben läßt, verweise ich auf Fig. 2; charakteristisch sind die hinteren Hälften der Spicula, die, von der Kante gesehen, glattrandig und schlank erscheinen. Geschlechtsreife Weibchen zwischen 6 und 7,7 mm lang, auf der Höhe der Genitalöffnung 0,08—0,09 mm dick. Diese 1,8—2,0 mm von der Schwanzspitze entfernt. Vulvarschlitz kurz, nicht selten halbmondförmig gebogen; im Ovejektor der Abschnitt II sehr kurz, fast halbkugelförmig. Schwanz (Fig. 3) von der Umbiegungsstelle der hinteren Eiröhre an ganz allmählich zur Schwanzspitze verjüngt. After kaum nach außen vorspringend. Entfernung zwischen After und Schwanzspitze 0,1—0,12 mm. Eier (im Uterus des Weibchens gemessen) 0,076—0,08 mm lang, 0,040—0,042 mm dick.

Im Duodenum und ausnahmsweise Magen von *Lepus timidus* und *Lepus cuniculus ferus*<sup>1)</sup>.

Von Yung wird eine massenhaft in den Luftwegen und der Lunge von Hasen, dagegen nicht im Darne gefundene kleine Strongylienart auf *Tr. retortaeformis* bezogen (1896). Aus der von Yung gegebenen Beschreibung des Parasiten geht hervor, daß dieser in der Tat dem *Tr. retortaeformis* ähnlich und auch ähnlich gebaut ist; trotzdem erscheint es mir mehr als zweifelhaft, ob es sich wirklich um die letztere Species gehandelt hat. Dagegen spricht in erster Linie der Wohnort, da *Tr. retortaeformis* sonst ausschließlich als Bewohner des Verdauungstraktus gefunden wurde. Ferner sind die Yung'schen Würmer besonders im Weibchen merklich größer (8—10 mm) als *Tr. retortaeformis*; auf den Abbildungen erscheint die Bursa des Männchens sehr groß und tief gelappt, die Rippen sehr schlank und sämtlich ungefähr gleich dick und auch die Spicula, die nach Yung 0,12—0,13 mm messen, können infolge ihrer gedreht erscheinenden hinteren Hälften kaum auf diejenigen des *Tr. retortaeformis* bezogen werden. Beim Weibchen liegt die Genitalöffnung relativ viel weiter hinten, das Schwanzende ist viel weniger schlank als bei *Tr. retortaeformis* etc. Da kein Grund vorliegt, die Richtigkeit der Yung'schen Abbildungen anzuzweifeln, so sprechen die angegebenen Unterschiede wohl dafür, daß er nicht *Tr. retortaeformis* vor sich gehabt hat.

### *Trichostrongylus subtilis* Looss 1895.

Fig. 4—8.

Geschlechtsreife Männchen 4—5,5 mm lang, vor der Bursa ca. 0,08 mm dick. Von den Bursalrippen (in der Seitenansicht der Bursa) ist die Externolateralrippe gewöhnlich dicker als alle übrigen; seltener mit der Lateroventralrippe ungefähr gleich dick. Posterolateralrippe beträchtlich schmaler als die beiden anderen Lateralrippen und der Externodorsalrippe mehr genähert als den letzteren; ihr Ende oft auf das der Externodorsalrippe zu gebogen, so daß die Entfernung zwischen Posterolateral- und Externodorsalpapille immer geringer ist als die Ent-

1) Die hier gegebene Charakterisierung der Art ist nach Exemplaren entworfen, welche von mir selbst in den angegebenen Wirten gesammelt wurden. Die Gelegenheit dazu wurde mir durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Baumeister L. Stentzler in Mockau-Leipzig geboten, der mir (im Herbst 1903) seine ausgedehnte, zwischen Eilenburg und Torgau gelegene Jagd für meine Zwecke zur Verfügung stellte. Für diese und anderweite freundliche Unterstützung bei meinen Studien sei ihm auch an dieser Stelle mein herzlichster Dank ausgesprochen.

fernung zwischen der letzteren und der Rückenrippe. Diese relativ etwas tiefer gespalten als bei der vorigen Art, sonst aber ebenso gestaltet. Spicula 0,135–0,145 mm, Gubernaculum ca. 0,07 mm lang, von hell gelbbrauner Farbe, relativ schlank, ihre Form aus Fig. 5–7 ersichtlich; Endhaken lang und scharf abgesetzt, aber nicht hoch. Geschlechtsreife Weibchen 5–6 mm lang, auf der Höhe der Genitalöffnung (1,05–1,2 mm von der Schwanzspitze entfernt) 0,08 mm dick. Körper bis zum After nur relativ wenig verdünnt (Fig. 8), hinter diesem ziemlich schnell zu einer schlanken und sehr scharfen Schwanzspitze sich verjüngend; letztere oft ein wenig nach aufwärts gebogen. Entfernung zwischen After und Schwanzspitze 0,055–0,07 mm. Vulvarspalte longitudinal, relativ kurz (inklusive der sie umgebenden Cuticula 0,05–0,055 mm lang) und kürzer als die vorn und hinten an sie anstoßenden Teile des mittleren unpaaren Verbindungsstückes der beiden Ovejektoren. Eier (im Uterus des Weibchens gemessen) 0,073 bis 0,076 mm, selten bis 0,08 mm lang, 0,04–0,043 mm dick.

Im Duodenum, ausnahmsweise Magen von *Ovis aries* und *Ovis laticauda*, *Antilope dorcas*, *Camelus dromedarius* (Aegypten), *Papio* (*Cynocephalus*) *hamadryas* (Nordafrika) und gelegentlich *Homo sapiens* (Aegypten und Japan).

Es erscheint mir nicht völlig ausgeschlossen, daß der von Giles (1892) aus Schafen Indiens beschriebene *Strongylus colubriformis* mit *Trichostrongylus subtilis* identisch sein kann. Jedenfalls würden die von dem Autor gegebenen Abbildungen der Spicula (l. c. Fig. 4) und des weiblichen Schwanzendes (l. c. Fig. 8) gut auf diese Art passen, wogegen die von Giles gegebene Größe (6 mm für das Männchen, 8 mm für das Weibchen bei 0,13 mm Dicke für beide Geschlechter) für *Tr. subtilis* entschieden zu hoch ist. Ferner müßte Giles in der Abbildung der Bursa die Dorsalrippe ganz übersehen und die Externodorsalrippen für die Aeste der Dorsalrippe gehalten haben. Bis auf weiteres ist demnach die Identität beider Formen nicht erwiesen und die Beibehaltung des Speciesnamens *subtilis* gerechtfertigt.

Auch *Strongylus instabilis* Railliet (1893) könnte der Beschreibung und Abbildung (1895. p. 442) nach mit *Tr. subtilis* in Beziehung gebracht werden. Allerdings schreibt Railliet der Haut des *Str. instabilis* außer der queren Ringelung auch den Besitz von Längskanten zu, die bei den *Trichostrongylus*-Arten (also auch bei *Tr. retortaeformis*, wo sie nach Railliet ebenfalls vorhanden sein sollen) bestimmt fehlen. Die übrige Beschreibung aber enthält nichts, was nicht auch auf *Tr. subtilis* angewandt werden könnte, daneben freilich auch keine Einzelheit, welche bestimmt auf diese Species hinwiese.

### *Trichostrongylus probolurus* (Railliet) 1896.

Fig. 9–11.

Männchen im geschlechtsreifen Zustande 4,5–5,5 mm lang, am Beginne der Bursa ca. 0,08 mm dick. Bei Seitenlage der letzteren erscheint von den Rippen die Lateroventralrippe als die bei weitem dickste; die anschließende Externolateralrippe dicker als die folgende Mediolateralrippe. Posterolateral- und Externodorsalrippe auffallend kurz und ganz dicht beisammen; das Ende der ersteren so weit dorsalwärts zurückgebogen, daß die Posterolateralpapille der Externodorsalpapille auf der Innenseite der Bursa direkt gegenüber oder selbst etwas dorsalwärts von ihr zu liegen kommt. Stamm der Dorsalrippe ganz kurz, die

27\*

Teilung wie bei den anderen Arten. Spicula (Fig. 10) 0,126—0,134 mm, Gubernaculum 0,075—0,08 mm lang, gewöhnlich von glänzend tiefbrauner Farbe; Endhaken der Spicula sehr hoch und scharf abgesetzt; vor ihm auf der ventralen Kante der Spicularstiele noch ein zweiter, winkeltartig zugespitzter Vorsprung, welcher zusammen mit den Endhaken den Spiculis bei Betrachtung mit schwächeren Vergrößerungen ein knorriges, eventuell auch gedrehtes Aussehen verleiht (Fig. 10). Geschlechtsreife Weibchen 4,5—6 mm lang, auf der Höhe der Genitalöffnung (je nach dem Alter 1,08—1,25 mm von der Schwanzspitze entfernt) ca. 0,08 mm dick. Körperende (Fig. 11) auffallend plump; die Verjüngung beginnt erst ganz kurz vor der Afteröffnung und führt schnell zur Bildung einer kurzen, stumpfen Schwanzspitze, die nicht selten mehr oder minder schräg aufwärts, oft aber auch gerade gestellt, oder nach der Bauchseite herabgebogen gefunden wird. Entfernung zwischen Schwanzspitze und der Afteröffnung 0,040—0,05 mm. Vulvarschlitz inklusive seiner Chitinwandung 0,076 mm lang, longitudinal oder leicht gebogen und stets länger als die vorn und hinten anstoßenden Teile des unpaaren Mittelstückes der Ovejektoren. Eier (im Uterus des Weibchens gemessen) 0,076—0,08 mm lang, 0,043—0,046 mm dick.

Im Duodenum von *Ovis aries*, *Ovis laticauda*, *Antilope dorcas* und gelegentlich *Homo sapiens* (Aegypten), *Camelus dromedarius* (? Paris und Aegypten).

Ich beziehe die von mir in Aegypten gefundene und hier kurz charakterisierte Species auf *Strongylus probolurus* Railliet 1896 hauptsächlich auf Grund einer Skizze der Bursa, welche Herr Kollege Railliet mir vor mehreren Jahren brieflich mitzuteilen die Güte hatte. Die auf dieser Skizze sichtbare Größe und Verteilung der Bursalrippen stimmt in allen wesentlichen Punkten mit dem überein, was ich bei den Männchen meiner Art sehe. Um die Identität über jeden Zweifel zu erheben, wäre auch eine Abbildung der Spicula wünschenswert gewesen, die in der Skizze leider nicht gegeben ist. Ich erwähne dies deshalb, weil in Railliets gedruckter Beschreibung des *Str. probolurus* (1896. p. 542) einige Daten enthalten sind, welche ich an meinem Material nicht bestätigen kann. So erwähnt Railliet das Vorkommen von arêtes longitudinales assez écartées der Haut; ich habe mir vergeblich Mühe gegeben, solche zu erkennen; meine Exemplare besitzen sicher nur die Querringelung; dagegen treten, wie schon erwähnt, besonders bei den Männchen die Grenzen der Seitenlinien und der Muskelzellen oft sehr scharf hervor. Die geringe Größe von nur 3—4 mm für das Weibchen, ebenso die Größe der Eier von 0,055—0,06 zu 0,036—0,038 mm stimmen ebenfalls nicht mit meinen Befunden; ob endlich die courte saillie conique relevée vers la face dorsale dem bei meinen Exemplaren auffallend kurzen eigentlichen Schwanzende, d. h. dem postanalen Körperteil, entspricht, ist möglich, aber nicht mit Bestimmtheit zu entscheiden.

Eine Zeitlang glaubte ich sicher zu sein, in meiner Form den *Strongylus instabilis* Railliet 1893 vor mir zu haben; in der Tat passen alle Einzelheiten, die Railliet in seiner Beschreibung gibt (1895. p. 442), recht gut auf die ägyptische Art. Das Einzige, was nicht stimmte, war die Abbildung der Bursa (l. c. Fig. 301); auf der rechten Seite (in der Figur) ist tatsächlich die Lateroventralrippe dicker als alle übrigen, wie bei *Trichostrongylus probolurus*, aber schon auf der linken Seite ist dieser Charakter nicht mehr deutlich ausgesprochen. Die Form der Spicula konnte zur Not auf die bei *Strongylus probolurus* bezogen werden;

das Verhalten der Posterolateral- und Externodorsalrippe dagegen war auf diese Art wiederum nicht anwendbar.

*Trichostrongylus vitrinus* n. sp.

Fig. 12—14.

Geschlechtsreife Männchen meist zwischen 4 und 5,5 mm lang, vor der Bursa ca. 0,085 mm dick. Bursa merklich größer als bei den bisher besprochenen Formen, die beiden Seitenlappen an ihrer Basis (in dorso-ventraler Richtung) 0,14—0,18 mm breit. Rippen relativ schlanker und gestreckter, die Externolateralrippe dicker als alle übrigen. Ventro-ventral- und Posterolateralrippe gleich dick, gerade und bis dicht an den Bursalrand heranreichend. Externodorsalrippe kurz, ihre Endpapille etwa halbwegs zwischen der Papille der Posterolateralrippe und der Mitte der Dorsalrippe gelegen. Unpaarer Teil der letzteren relativ lang, ihre Gabeläste meist mit einfacher Spitze endigend. Spicula (Fig. 13) 0,16—0,17 mm, Gubernaculum 0,085—0,095 mm lang, beide von hellgelbbrauner Farbe. Die Spicula endigen mit sehr scharfer Spitze, der bei den anderen Arten vorhandene hakenartige Absatz der Spitze bei ihnen nicht scharf ausgesprochen. Erwachsene Weibchen meist zwischen 5 und 6,5 mm lang, auf der Höhe der Genitalöffnung (1,15—1,25 mm von der Schwanzspitze entfernt) 0,084—0,092 mm dick. Haut in der Umgebung der Vulva mit unregelmäßigen Verdickungen, die bei jungen eierlosen Weibchen noch ganz fehlen oder erst leicht angedeutet sein können, im Alter aber ausnahmslos vorhanden sind. Vulvarschlitz kurz, mehr oder minder halbmondförmig gekrümmt und meist schief zur Körperachse gelagert, ein wenig über das Niveau der Umgebung erhoben. Schwanzende (Fig. 14) hinter der Umbiegungsstelle der hinteren Eiröhre merklich verjüngt und dann bis zur Afteröffnung ungefähr cylindrisch bleibend, hinter dem After schnell und gleichmäßig zur Schwanzspitze abfallend, so daß der After deutlich winkelförmig nach außen hervortritt. Schwanzende (postanaler Körperteil) meist etwas nach der Rücken- seite zu emporgebogen. Eier (im Uterus der Weibchen gemessen) 0,084 bis 0,090 mm lang, 0,046—0,05 mm dick.

Im Duodenum von *Ovis aries*, *Ovis laticauda*, gelegentlich von *Camelus dromedarius* und *Homo sapiens* (Aegypten); scheint eine der selteneren Species zu sein.

Es erscheint mir nicht völlig ausgeschlossen, daß der von Stödter aus dem Duodenum von *Capra hircus* (Zürich) beschriebene „*Strongylus retortaeformis* Zeder“ mit der hier beschriebenen Form zusammengehört. In der von dem Autor gegebenen Abbildung erinnern die Spicula durch die Abwesenheit der Endhaken an die des *Tr. vitrinus*, doch endigen sie bei letzterem bei weitem nicht in so gestreckter und schlank zugespitzter Form wie bei der Form aus der Ziege; auch fehlen in der Stödterschen Abbildung die ohrförmigen Anhänge am Vorderende, welche die Spicula der *Trichostrongylus*-Arten auszeichnen. Die von Stödter gegebene Abbildung der Bursa ist so schematisch, daß sie keine bindenden Schlüsse zuläßt. Daß aus Stödters Charakteristik der Art nichts zu entnehmen ist, wurde bereits oben erwähnt. Eine andere Species, auf die *Tr. vitrinus* bezogen werden könnte, ist mir aus der verfügbaren Literatur nicht bekannt; deshalb muß ich ihn bis auf weiteres als neue Species betrachten.

#### Verzeichnis der zitierten Literatur.

- Giles, G. M., 1892, A Description of two New Nematode Parasites found in Sheep. (Scient. Mem. by Med. Officers of the Army of India. Vol. VII. p. 45—47. 1 Pl.)
- Ijima, J., —, *Strongylus subtilis* in Japan. (The Zoological Magazine. Vol. VII. No. 86. Tokio. Jahreszahl auf dem S.-A. nicht angegeben.)
- Looss, A., 1895, *Strongylus subtilis*, ein bisher unbekannter Parasit des Menschen in Aegypten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. No. 6. p. 161—169. 1 Taf.)
- , 1904, Zum Bau des erwachsenen *Ancylostomum duodenale*. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. No. 6. p. 752—762.)
- McFadyean, 1896, *Strongylus gracilis*. (Journ. Comp. Pathol. and Therap.) Mir nicht zugänglich; zitiert nach Stödter, der auch einen Abdruck der Originaldiagnose der Art gibt (p. 76—77).
- Railliet, A., 1895, *Traité de zoologie médicale et agricole*. II. édit. Paris (Asselin et Houzeau).
- , 1896, Sur les variations des Strongyles de l'appareil digestif, et sur un nouveau Strongyle du Dromadaire. (Compt. rend. soc. biol. Paris. Sér. X. T. 3. No. 19. p. 540 542. 5 Juin.)
- Stödter, W., 1901, Die Strongyliden in dem Labmagen der gezähmten Wiederkäuer etc. [Diss. Bern.] Hamburg. Kruse und Freiherr.
- Yung, E., 1896, Observations sur le *Strongylus retortaeformis* Zeder. (Rev. suisse de zool. etc. Genève. T. IV. Fasc. 2. p. 301—312. Pl. XI.)

#### Erklärung der Abbildungen.

Es sind von allen 4 Arten dargestellt 1) die Bursa des Männchens von der linken Seite (Vergr. ca. 195); die Seitenlappen sind überall mehr oder minder stark eingerollt, so daß die Enden besonders der Lateralrippen nicht sichtbar sind; 2) die Spicula (Vergr. ca. 315): zur linken beide etwas schräg von der Bauchseite, so daß man das rechte Spiculum von seiner Kante, das linke mehr oder minder von seiner inneren Fläche sieht, zur rechten das rechte Spiculum von seiner Fläche mit dem dorsal von ihm gelegenen Gubernaculum im Profil resp. optischen Längsschnitt; 3) das weibliche Körperende von der rechten Seite (Vergr. ca. 142).

Fig. 1—3. *Trichostrongylus retortaeformis* (Zeder) aus *Lepus timidus* und *L. canis ferus*.

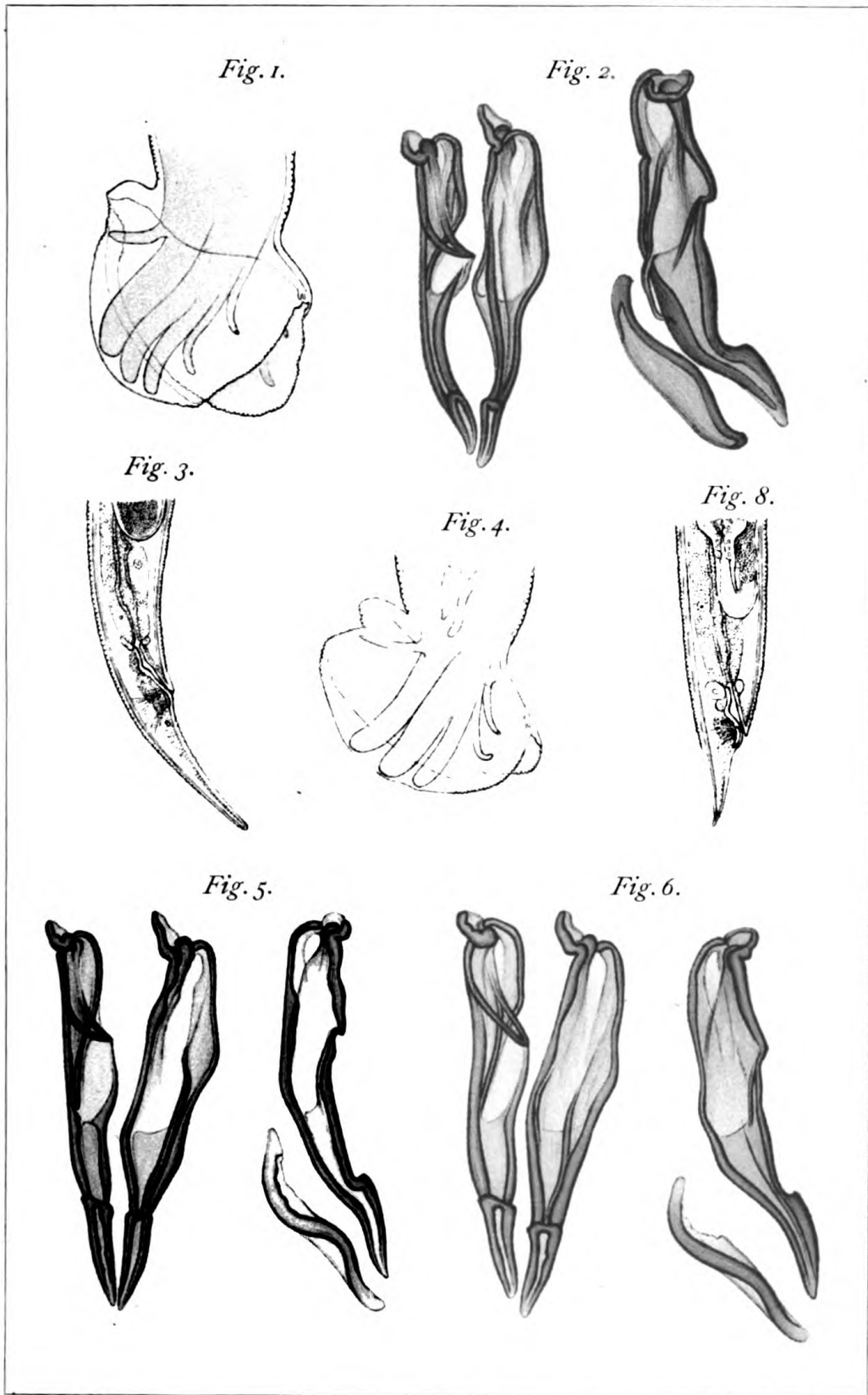
Fig. 4—8. *Trichostrongylus subtilis* Looss aus *Homo sapiens*; Fig. 5 aus *Papio hamadryas*; Fig. 6 aus *Camelus dromedarius*.

Fig. 9—11. *Trichostrongylus probolurus* (Railliet) aus *Ovis aries* und *Oc. laticauda*.

Fig. 12—14. *Trichostrongylus vitrinus* n. sp. aus *Ovis aries* und *Ov. laticauda*.

#### Nachschrift bei der Korrektur.

In dem vorstehenden Artikel wurde, wie im Texte mehrfach hervorgehoben, zum Zwecke der Identifizierung der Arten ausschließlich die Literatur, d. h. die in ihr niedergelegten gedruckten und veröffentlichten Daten zum Vergleiche herangezogen. Die Literatur ist nicht nur das Mittel zur gegenseitigen Verständigung unter den Fachgenossen, sondern die gegenseitige Verständigung ist auch der alleinige Zweck der Literatur. Theoretisch sollten deshalb die Beschreibungen von Arten zur Wiedererkennung derselben genügen. In der Zwischenzeit hat mir Herr Kollege Railliet auf meine Bitte Original Exemplare seiner *Strongylus instabilis* und *Strongylus probolurus* freundlichst zur Verfügung gestellt; eine Untersuchung dieser Exemplare hat ergeben, daß die oben von mir als *Strongylus probolurus* in Anspruch genommene Art richtig bestimmt ist, daß aber *Strongylus subtilis* Lss. identisch ist mit *Strongylus instabilis* Railliet, in Zukunft also *Trichostrongylus instabilis* (Railliet) 1893 heißen muß.



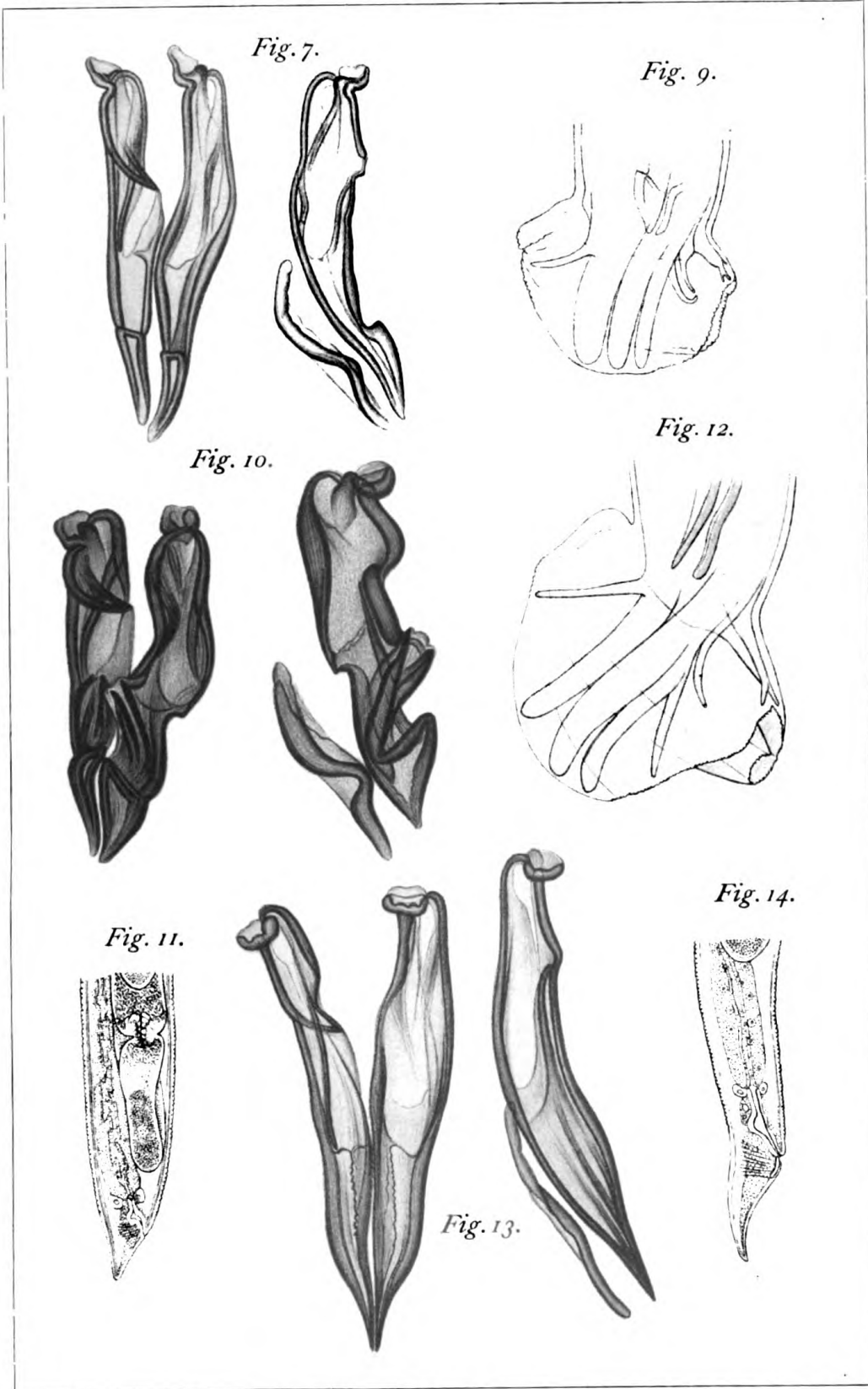
Looss del.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith., Jena.







Looss del.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith., Jena.



*Nachdruck verboten.*

## Ueber die bakteriziden Leukocytenstoffe und ihre Beziehung zur Immunität.

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

Von Dr. Alfred Pettersson.

### I. Untersuchungen über die Immunität gegen *Proteus*.

Wie schon Lubarsch (1) im Jahre 1889 hervorgehoben hat, entspricht nicht immer das Fehlen der bakteriziden Wirkung des Serums einer Empfänglichkeit des Tieres für einen bestimmten Krankheitserreger. So steht z. B. die nicht unbedeutende Resistenz des Hundes gegen Milzbrandinfektion in auffallendem Widerspruch zu der absoluten Wirkungslosigkeit des Hundeserums auf Milzbrandbacillen. In ähnlicher Weise verhalten sich auch einige andere Tiere, z. B. Katze und Huhn. Andererseits liefert das gegen Milzbrand sehr empfängliche Kaninchen ein Serum, das in bakterizider Wirkung auf Anthraxbacillen außerhalb des Tierkörpers von einem anderen Serum kaum übertroffen wird. Ein Versuch einer Erklärung dieser eigentümlichen Verhältnisse ist von Bail und mir (2) gemacht worden. Aus unseren Versuchen ging mit aller Deutlichkeit hervor, daß sowohl der Hund als auch das Huhn über sehr wirksame bakterienvernichtende Mittel verfügen. Von den bei der Bakteriolyse zusammenwirkenden Substanzen enthält aber das Serum nur die eine, den Immunkörper, während die andere, das Komplement, in den Leukocyten steckt und beim Gerinnen des Blutes mit dem Blutkuchen entfernt wird<sup>1)</sup>. In Bezug auf übrige Details verweise ich auf unsere Veröffentlichungen in diesem Centralblatte.

Einen ähnlichen Widerspruch zwischen der Unempfänglichkeit des Tieres und dem Mangel an bakterizider Wirkung des Serums zeigen mehrere Tiere gegen *Proteus*. Unsere Laboratoriumstiere sind gegen diesen Organismus alle mehr oder weniger immun. Mehrere von diesen, wie Meerschweinchen, Hund und Katze geben nun Sera, die fast regelmäßig jeder bakteriziden Wirkung auf gewisse *Proteus* entbehren. Der genannte Organismus zeigt also in Bezug auf die Nichtübereinstimmung zwischen der Unempfänglichkeit des Tieres und der fehlenden Bakterizidie des Serums eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Milzbrandbacillus. Diese Aehnlichkeit erstreckte sich, wie wir später sehen werden, noch etwas weiter. Es schien mir deshalb wünschenswert, auch die Immunität gegen *Proteus* einer Untersuchung zu unterziehen, da vielleicht dadurch neue Gesichtspunkte erhalten werden könnten auch für das Studium des verwickelten Problems der Milzbrandimmunität.

Für die Untersuchung wurden mehrere Stämme der gewöhnlichen *Proteus*-Varietäten, *Pr. vulgaris*, *Pr. mirabilis* und *Pr. Zenkeri*, angeschafft. Im ganzen wurden 10 Stämme, die aus verschiedenen Laboratorien (Stockholm, Upsala, Lund, München und Králs) stammten, in Arbeit genommen<sup>2)</sup>.

1) Durch das Zusammentreten der beiden Substanzen im Tierorganismus glaubten wir die Resistenz der genannten Tiere erklären zu können.

2) Den Herren Prof. Dr. Forssman in Lund und Dr. Trommsdorff in München sage ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank für ihr Entgegenkommen, mir Kulturen zu verschaffen.

Es zeigte sich nun sofort, daß das Meerschweinchenserum nicht gegen alle Stämme versagte, sondern gegen einige von ihnen, wie aus den folgenden Tabellen hervorgeht, sogar sehr wirksam ist.

Tabelle I.  
Meerschweinchenserum.

Einsaat		Sofort	Nach 4 Stunden	Nach 8 Stunden
Pr. vulgaris U.	1 ccm Meerschweinchenserum	10 031	12	0
" " M.	1 " "	924	200	992
" mirabilis St.	1 " "	408	3307	> 10 000
" " Král	1 " "	1 960	2320	11 247
" " M.	1 " "	6 296	1	53
" Zenkeri U.	1 " "	316	368	4 496
" " Král	1 " "	284	392	7 377

Die Stämme, welche vom Serum nicht beeinflußt wurden, wurden zuerst studiert. Selbstverständlich müssen auch diese im Tierkörper vernichtet werden, da sie nicht im stande sind, eine Infektion hervorzurufen. Nun ist freilich das Serum auch nach einer Injektion von *Proteus* gewöhnlich ebenso unwirksam wie vor derselben, das defibrierte Blut besitzt aber in dem ersten Falle eine sehr deutliche bakterizide Wirkung.

Tabelle II.

Ein großes Meerschweinchen wurde abends mit 1 Oese Pr. Zenkeri U. intraperitoneal injiziert und am nächsten Morgen entblutet. Dabei wurde ein Teil des Blutes zum Gerinnen gestellt und Serum in gewöhnlicher Weise daraus gewonnen; das übrige Blut wurde defibriert. Aus diesem wurde durch Zentrifugieren auch eine Portion Serum erhalten.

Einsaat	Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 7 Stunden
Pr. Zenkeri U.	1 ccm gewöhnliches Serum	4388	5914
" " "	1 " defibriertes Blut	4160	109
" " "	1 " Serum aus defibriertem Blute		7441
" " Král	1 " gewöhnliches Serum	1736	4960
" " "	1 " defibriertes Blut	1512	22
" " "	1 " Serum aus defibriertem Blute		4199
" mirabilis St.	1 " gewöhnliches Serum	872	8458
" " "	1 " defibriertes Blut	832	52
" " "	1 " Serum aus defibriertem Blute		6614
" " Král	1 " gewöhnliches Serum	2992	5215
" " "	1 " defibriertes Blut	2688	136
" " "	1 " Serum aus defibriertem Blute		3498

Die Uebereinstimmung mit den Erscheinungen beim Hunde nach einem Infektionsversuch mit Milzbrand ist vollständig. Das Serum allein, in welcher Weise es auch erhalten wird, ist wirkungslos, während das defibrierte Blut starke Bakterizidie entfaltet. Da, wie aus der Tabelle III hervorgeht, die Injektion der Bakterien eine bedeutende Vermehrung der Leukocyten im Blute hervorruft, so war es ja sehr wahrscheinlich, daß eben diese das Auftreten der bakteriziden Wirkung des Blutes veranlaßten. Das defibrierte Blut des normalen Tieres hat keine oder höchstens nur schwach hemmende Wirkung.

Tabelle III.

Zwei Meerschweinchen wurden je 1 Oese Proteus intraperitoneal injiziert. Die Leukocyten des Blutes wurden vor der Injektion und alsdann 12 und 24 Stunden nach derselben gezählt.

Gewicht des Tieres	Injizierte Kultur	Zahl der Leukocyten in ccm		
		vor der Injektion	12 Stunden nach der Injektion	24 Stunden nach der Injektion
Meerschweinchen, 460 g	Pr. vulgaris M.	6 000	19 000	11 300
„ 440 „	„ mirabilis St.	10 600	17 100	12 000

Die weitere Untersuchung galt folglich den Leukocyten und zwar, ob sie allein bakterizide Wirkung entfalten oder erst in Gemeinschaft mit irgend einem Bestandteil des Serums. Die Leukocyten wurden in gewöhnlicher Weise durch intraperitoneale Injektion von Aleuronat er-

Tabelle IV.

Großes Meerschweinchen 14 Stunden nach intraperitonealer Aleuronatinjektion entblutet.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Stunden	Nach 8 Stunden
Einsaat: Proteus mirabilis St.			
1 ccm Meerschweinchenserum	3817 im Mittel	4505	6 179
1 „ Ms erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		9213	710 000
1 „ Ms + Leukocyten		19	0
1 „ (Ms + Leukocyten) erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		39	16
1 „ Serumleukocytenextrakt		18	2
1 „ Serumleukocytenextr. erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		600	815
1 „ Bouillon		5787	10 494
1 „ Bouillon + Leukocyten		30	0
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		1	0
1 „ Bouillonleukocytenextr. erh. 1/2 Stde bei + 58°		3	0
Einsaat: Proteus Zenkeri U.			
1 ccm Meerschweinchenserum	970 im Mittel	1526	3 607
1 „ Ms + Leukocyten		6	1
1 „ (Ms + Leukocyten) erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		11	4
1 „ Serumleukocytenextrakt		4	0
1 „ Serumleukocytenextr. erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		240	1 032
1 „ Bouillon		2607	13 356
1 „ Bouillon + Leukocyten		86	0
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		2	0
1 „ Bouillonleukocytenextr. erh. 1/2 Stde bei + 58°	13	0	

Tabelle V.

Meerschweinchen abends mit Aleuronat intraperitoneal injiziert, am nächsten Morgen entblutet.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Stunden	Nach 8 Stunden
Einsaat: Proteus Zenkeri U.			
1 ccm Meerschweinchenserum	3275 im Mittel	2989	4 261
1 „ Ms erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		8013	710 000
1 „ Ms + Leukocyten		54	1
1 „ (Ms + Leukocyten) erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		3498	8 458
1 „ Serumleukocytenextrakt		2	0
1 „ Serumleukocytenextr. erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		8713	710 000
1 „ Bouillon		8967	710 000
1 „ Bouillon + Leukocyten		7	0
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		3	0

halten. Nach mehrmaligem Waschen wurden sie in zwei Teile geteilt und der eine in Serum, der andere in Bouillon aufgeschwemmt. Von diesen Aufschwemmungen wurde je eine Hälfte wiederholt eingefroren und aufgetaut. Nach jedem Gefrieren wurde bisweilen das Eisklumpchen mit einem Glasstäbchen fein zerrieben. Schließlich wurde die Flüssigkeit klar zentrifugiert und dieses Extrakt für die Untersuchung verwendet.

Die Versuche gaben das ein wenig überraschende Resultat, daß die bakterizide Wirkung der Mischungen und der Extrakte von den Leukocyten allein ausgeht. Das Serum erhöht in keiner Weise ihre Wirkung, eher ist die Aufschwemmung in Bouillon wirksamer als die in Serum. Weiter ist die Keimvernichtung keineswegs an die Lebensfähigkeit der weißen Blutkörper gebunden, sondern geschieht durch die Wirkung irgend einer Substanz, die den Leukocyten entzogen werden kann. Bemerkenswert ist auch, daß diese Substanz eine größere Thermostabilität besitzt als die gewöhnlichen Serumalexine.

Aus dem Nachweis dieser bakteriziden Leukocytenstoffe folgt natürlicherweise nicht, daß diese wirklich die einzigen oder gar hauptsächlichen Schutzkräfte des Tieres gegen die Infektion sind. Es wäre z. B. denkbar, daß die Körperorgane keimvernichtende Stoffe enthalten. Dies scheint nun wirklich nicht zuzutreffen.

Tabelle VI.

Meerschweinchen etwa 18 Stunden nach vorheriger intraperitonealer Injektion von Aleuronat getötet. Das Blut wurde direkt in Zentrifugenröhren aufgesammelt und nach dem Gerinnen sofort zentrifugiert, wodurch in sehr kurzer Zeit Serum erhalten wurde. Nach dem Entbluten wurde die Bauchhöhle mit Kochsalzlösung ausgespült; die Organe wurden entnommen, auf Eis abgekühlt, zerrieben und dem Serum gleichzeitig mit der Einsaat zugesetzt. Die Leukocyten wurden in Kochsalzlösung gewaschen, danach in Bouillon aufgeschwemmt, 3mal eingefroren und wieder aufgetaut. Die zentrifugierte Flüssigkeit wurde in gleicher Weise wie das Serum mit zerriebenem Organbrei versetzt. Einsaat: *Proteus mirabilis* Sthlm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Stunden	Nach 8 Stunden
1 ccm Meerschweinchenserum		220	1 780
1 „ Ms 58		2416	11 066
1 „ Ms + die Hälfte der Milz		204	46
1 „ Ms + $\frac{1}{2}$ g Leber		344	286
1 „ Ms + $\frac{1}{2}$ g Niere		424	872
1 „ Ms + $\frac{1}{2}$ g Muskel		664	3 307
1 „ Bouillon		1971	> 10 000
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		1	2
1 „ desgl. + die Hälfte der Milz	887 im Mittel	0	1
1 „ desgl. + $\frac{1}{2}$ g Leber		3	0
1 „ desgl. + $\frac{1}{2}$ g Niere		2	1
1 „ desgl. + $\frac{1}{2}$ g Muskel		0	3

Bei diesem Versuche entfaltete das Serum allein schwache bakterizide Wirkung. Diese wurde durch Zusatz von Milz in sehr merkbarer Weise erhöht und auch die Leber verbesserte die keimvernichtende Wirkung des Serums. Die Niere hatte keinen deutlichen Einfluß auf die Serum-bakterizidie und der Muskel hatte sie offenbar verschlechtert. Die hier gefundene Eigenschaft der Leber ist aber nicht konstant, bei anderen Versuchen fehlte sie gänzlich, und dürfte vielleicht einer geringen Menge anhaftender Leukocyten zuzuschreiben sein. Mit Ausnahme der Milz dürften die untersuchten Organe also eher eine vorhandene Suermwirkung aufheben als das unwirksame Serum aktiv machen. Auf die Wir-

kung der bakteriziden Leukocytenstoffe üben diese Organe dagegen keinen deutlichen ungünstigen Einfluß aus, auch wenn diese, den Zellen entzogen, sich in Lösung befinden. Faßt man das Vorige zusammen, so ist es wohl nicht zu bezweifeln, daß beim Meerschweinchen die Leukocyten den größten Teil der Schutzkräfte des Tieres gegen die oben genannten Bakterien enthalten.

Etwa in derselben Weise, wie die des Meerschweinchen, verhalten sich die Leukocyten und das Serum des Hundes und der Katze.

Tabelle VII.

Ausgewachsene, mittelgroße Hündin 18 Stunden nach intraperitonealer Aleuronat-injektion entblutet. Die gewaschenen Leukocyten wurden in inaktiviertem Serum und in Bouillon aufgeschwemmt und in derselben Weise wie beim Meerschweinchen behandelt.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 7 Stunden
Einsaat: <i>Proteus mirabilis</i> Sthlm.			
1 ccm	Hundeserum		932
1 "	Hs inaktiviert durch 1/2-stündiges Erhitzen bei + 58°		2 429
1 "	Hs inaktiviert + Leukocyten		98
1 "	(Hs inaktiviert + Leukocyten) erhitzt 1/2 Stde bei + 58°	424 im Mittel	> 10 000
1 "	Serumleukocytenextrakt		204
1 "	Serumleukocytenextrakt erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		7 223
1 "	Bouillon		> 10 000
1 "	Bouillon + Leukocyten		7
1 "	(Bouillon + Leukocyten) erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		0
1 "	Bouillonleukocytenextrakt		0
1 "	Bouillonleukocytenextrakt erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		21
Einsaat: <i>Proteus Zenkeri</i> Ups.			
1 ccm	Hundeserum		1 368
1 "	Hs inaktiviert durch 1/2-stündiges Erhitzen bei + 58°		4 324
1 "	Hs inaktiviert + Leukocyten		2
1 "	(Hs inaktiviert + Leukocyten) erhitzt 1/2 Stde bei + 58°	659 im Mittel	> 20 000
1 "	Serumleukocytenextrakt		0
1 "	Serumleukocytenextrakt erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		1 793
1 "	Bouillon		> 10 000
1 "	Bouillon + Leukocyten		1
1 "	(Bouillon + Leukocyten) erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		0
1 "	Bouillonleukocytenextrakt		1
1 "	Bouillonleukocytenextrakt erhitzt 1/2 Stde bei + 58°		1

Tabelle VIII.

Ausgewachsene Katze. Anordnung wie im vorigen Versuche. Einsaat: *Proteus mirabilis* St.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 8 Stunden
1 ccm	Katzenserum		14 310
1 "	Ks erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		> 15 000
1 "	Ks + Leukocyten		2 608
1 "	(Ks + Leukocyten) erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		2 168
1 "	Serumleukocytenextrakt		216
1 "	Serumleukocytenextrakt erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		ca. 6 000
1 "	Bouillon		18 323
1 "	Bouillon + Leukocyten	984 im Mittel	432
1 "	(Bouillon + Leukocyten) erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		74
1 "	Bouillonleukocytenextrakt		3
1 "	Bouillonleukocytenextrakt erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		31

Auch bei den zwei letzten Tieren enthalten die Leukocyten keimvernichtende Stoffe, während das Serum solcher völlig entbehrt. Beim Aufschwemmen der Leukocyten in Serum ist ihre Wirkung sogar schwächer als in Bouillon.

Beim Betrachten der vorstehenden Tabellen springen gewisse Unregelmäßigkeiten in der Bakterizidie sofort in die Augen. Es ist nötig, ihre Ursachen zu untersuchen, besonders ob sie auf Unzuverlässigkeit der angewendeten Untersuchungsmethode beruhen. In diesem Falle würden nämlich die erhaltenen Resultate eine wesentliche Einschränkung erfahren. Von Moxter (3) ist hervorgehoben, daß bei Cholera eine Häufchenbildung der Vibrionen leicht eintritt, die beim Plattengießen eine Keimverminderung vortäuscht. Durch das Zusammenballen der Leukocyten mit gleichzeitiger Anhäufung der eingesäten Keime könne derselbe Fehler entstehen. In Bezug auf *Proteus* scheint die erste Fehlerquelle ganz wegzufallen. Kleine Ketten von zwei bis vier Stäbchen kamen allerdings vor, diese Anordnung war aber schon in der zur Einsaat verwendeten Bouillon vorhanden und fehlte auch nicht in den Proben, die unbeschränkte Vermehrung gestatteten. Auch dem zweiten Moment möchte ich keine allzugroße Bedeutung beimessen. In meinen Versuchen war die keimvernichtende Wirkung der zellfreien Leukocytenextrakte gewöhnlich viel stärker als die der Leukocytenaufschwemmungen. Eine Erklärung der Unregelmäßigkeit der Bakterizidie der verschiedenen Proben ist nicht in diesen Umständen zu suchen.

Dagegen ist, wie Schattenfroh (4) betont hat, die Behandlung der Leukocyten von großer Bedeutung in Bezug auf das Freimachen der bakteriziden Stoffe. Dies hängt nämlich von der Mazeration der Zellen ab. Auch das Medium, in dem die Mazeration bewerkstelligt wird, würde eine Rolle spielen. Diese Umstände würden nach Schattenfroh genügen, um die Unregelmäßigkeiten in der bakteriziden Wirkung der verschiedenen Proben zu erklären. Daß z. B. die Leukocytenextrakte bisweilen stärkere Bakterizidie entfalten als die Leukocytenaufschwemmungen, findet darin eine ganz natürliche Erklärung. Auch das Erhitzen scheint das Austreten der bakteriziden Stoffe aus den Zellen zu begünstigen. Erwärmte Zellaufschwemmungen, besonders in Bouillon, wirken oft stärker keimvernichtend als die nicht erwärmten. Ganz regelmäßig ruft aber das Erhitzen eine Erhöhung der Wirkung nicht hervor. Bei dem in der Tabelle VII wiedergegebenen Versuche mit Hundeleukocyten ist in den Serum aufschwemmungen davon nichts zu sehen. Im Gegenteil, die erwärmte Leukocytenaufschwemmung ist völlig unwirksam, obwohl die Leukocytenstoffe des Hundes, wie aus derselben Tabelle hervorgeht, bei dieser Temperatur hitzebeständig sind. Meiner Ansicht nach kommt noch ein Punkt in Betracht. Wie ich später zeigen werde, enthalten die Sera des Hundes und der Katze nachweisbare Mengen eines Immunkörpers, der zu den hier untersuchten Bakterien paßt. Wenn dieser für dieselben Rezeptoren eingestellt ist, an den sich die Leukocytenstoffe anlegen, so kann natürlicherweise die Bakteriolyse mehr oder weniger aufgehoben werden, wenn die Serumambozeptoren Gelegenheit finden, diese Rezeptoren zu besetzen. In einer Aufschwemmung von Leukocyten in Serum müssen die Bedingungen für eine solche Verstopfung der Bakterienrezeptoren äußerst günstig sein, da die Leukocytenstoffe erst nach einiger Zeit aus den Zellen austreten.

Nach dem Erhitzen entfaltete das mit Bouillon hergestellte Leukocytenextrakt öfters deutlich stärkere bakterizide Wirkung als das mit



Serum erhaltene, während vor dem Erwärmen ein Unterschied nicht beobachtet wurde. Siehe z. B. Tabelle IV. Dies dürfte vielleicht auch in der Anwesenheit von Serumambozeptoren seine Erklärung finden können. Durch das Erhitzen scheint die bakterizide Wirkung der Leukocytenstoffe nicht selten herabgesetzt zu werden. Möglicherweise wird auch die Affinität zu den Bakterien schwächer, wodurch eine Ablenkung durch die Serumambozeptoren erleichtert wird. Unter solchen Verhältnissen würde das Erhitzen einer Leukocytenaufschwemmung in Serum eine Herabsetzung der bakteriziden Wirkung hervorbringen können statt einer Erhöhung durch das Zerstören der Zellen, wie dies die Tabelle VII in der Tat auch zeigt.

Welches die richtige Erklärung dieser Erscheinungen auch sein mag, so viel steht jedenfalls fest, daß die Leukocyten der obengenannten Tiere bakterizide Stoffe enthalten, die für die Resistenz der Tiere gegen die hier untersuchten Organismen offenbar von großer Bedeutung sind.

Enthalten nun die Leukocyten gegen andere Bakterien wirksame Substanzen? Aus gewissen später näher zu erörternden Gründen interessierte es besonders, wie sie sich gegen den Choleravibrio und den Typhusbacillus verhalten. Schattenfroh (5) und Moxter (6) haben beide, obwohl sie mit verschiedenen Methoden arbeiteten, ganz überein-

Tabelle IX.

Meerschweinchen 18 Stunden vorher mit Aleuronat intraperitoneal injiziert. Anordnung wie früher.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Stunden	Nach 8 Stunden
Einsaat: <i>B. typhi</i> .			
1 ccm Meerschweinchenserum	3274 im Mittel	28	9
1 „ Ms erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		68 000	} unbeschränkte Vermehrung
1 „ Ms inaktiviert + Leukocyten		37 396	
1 „ Ms inaktiviert + Leukocyten gefroren		48 654	
1 „ Bouillon		ca. 50 000	
1 „ Bouillon + Leukocyten		20 034	
1 „ Bouillon + Leukocyten gefroren		43 502	
Einsaat: <i>Proteus Zenkeri</i> U.			
1 ccm Meerschweinchenserum	3028 im Mittel	5 361	11 256
1 „ Ms erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		10 875	> 40 000
1 „ Ms inaktiviert + Leukocyten		1 792	960
1 „ Ms inaktiviert + Leukocyten gefroren		198	62
1 „ Bouillon		> 20 000	∞
1 „ Bouillon + Leukocyten		5	0
1 „ Bouillon + Leukocyten gefroren		0	0

Tabelle X.

Ausgewachsene Katze etwa 18 Stunden nach vorheriger intraperitonealer Aleuronat-injektion entblutet. Anordnung wie vorher. Einsaat: *Bacterium typhi*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Stunden	Nach 8 Stunden
1 ccm Katzenserum	3518 im Mittel	0	0
1 „ Ks erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		15 327	} unbeschränkte Vermehrung
1 „ Ks inaktiviert + Leukocyten		16 044	
1 „ Ks inaktiviert + Leukocyten gefroren		22 705	
1 „ Bouillon		45 000	
1 „ Bouillon + Leukocyten		> 40 000	
1 „ Bouillon + Leukocyten gefroren		> 40 000	

stimmend gefunden, daß beim Meerschweinchen die Anwesenheit von Leukocyten die bakterizide Wirkung des Serums auf den Choleravibrio nicht erhöht. In Bezug auf *Bact. typhi* fand Schattenfroh „einen fast ebenso großen Kontrast zwischen Serum- und Zellenwirkung wie beim Choleravibrio“. Meine Versuche bestätigen diese Befunde vollständig. Nur zwei Versuche mit dem Typhusbacillus werden wiedergegeben.

Schattenfroh scheint die Beweiskraft der Ergebnisse seiner Versuche zu bezweifeln und glaubt an eine Kompensierung der keimvernichtenden Eigenschaft der Leukocytenstoffe durch gleichzeitig extrahierte gute Nährstoffe, dies hauptsächlich wohl deshalb, weil die Versuche beim Kaninchen andersartig ausfielen. Meiner Ansicht nach ist ein Vergleich mit dem Kaninchen nicht statthaft, da es sich, wie wir später sehen werden, in mehreren Beziehungen anders verhält als das Meerschweinchen. In Bezug auf dieses letztere Tier scheint es mir einwandfrei nachgewiesen zu sein, daß die Leukocyten keine nennenswerte Menge auf den Choleravibrio und Typhusbacillus wirkender keimtötender Stoffe enthalten.

Wie schon anfangs hervorgehoben wurde (vergl. Tabelle I), versagte die bakterizide Wirkung des Meerschweinchenserums nicht gegen alle Stämme von *Proteus*. Mehrere von ihnen wurden davon sogar sehr energisch abgetötet. Wie verhalten sich die Leukocyten gegen diese Organismen? Enthalten sie auch gegen diesen wirksame keimvernichtende Stoffe? Nur die Meerschweinchenleukocyten wurden in dieser Hinsicht untersucht und erwiesen sich — ganz analog wie gegen den Typhusbacillus — völlig oder fast völlig unwirksam.

Tabelle XI.

Großes Meerschweinchen etwa 18 Stunden nach intraperitonealer Aleuronatinjektion verblutet.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Stunden
Einsaat: <i>Proteus vulgaris</i> Král.		
1 ccm Meerschweinchenserum	2412 im Mittel	1
1 „ Ms erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde		38 913
1 „ Ms inaktiviert + Leukocyten		29 319
1 „ Ms inaktiviert + Leukocyten gefroren und zentrifugiert		37 778
1 „ Bouillon		42 785
1 „ Bouillon + Leukocyten		40 495
1 „ Bouillon + Leukocyten gefroren und zentrifugiert		50 226
Einsaat: <i>Proteus mirabilis</i> M.		
1 ccm Meerschweinchenserum	1728 im Mittel	0
1 „ Ms erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		11 638
1 „ Ms inaktiviert + Leukocyten		8 776
1 „ Ms inaktiviert + Leukocyten gefroren und zentrifugiert		5 342
1 „ Bouillon		> 25 000
1 „ Bouillon + Leukocyten		> 25 000
1 „ Bouillon + Leukocyten gefroren und zentrifugiert		> 25 000

Die Einwirkung von Serum und Leukocyten des Meerschweinchens auf die verschiedenen *Proteus*-Varietäten oder Arten hat also bisweilen ganz verschiedenen Effekt. Ich bin auch nicht überzeugt, daß diese in so enger Beziehung zu einander stehen wie z. B. Lehmann und Neumann annehmen.

Nun gibt es auch Tiere, z. B. Kaninchen, Ziege und Ochse, die

hochwirksames Serum gegen alle *Proteus*-Arten liefern. Enthalten auch ihre Leukocyten keimvernichtende Stoffe, und wenn ja, ist die Immunität dieser Tiere der Wirkung beider dieser bakteriziden Substanzen oder nur der einen von ihnen zuzuschreiben? Da die Leukocyten von den letztgenannten Tieren schwer zu bekommen sind, wurde die Untersuchung auf das Kaninchen beschränkt. Das Kaninchenserum wirkte in allen untersuchten Fällen stark bakterizid, und so schien nicht ausgeschlossen, daß die bakteriziden Serumstoffe ihre Wirkung auch im Tierkörper würden entfalten können. Die Wirkung des Serums kann allerdings durch Behandlung mit Leber, Niere und Muskel aufgehoben werden, sehr leicht geht aber die Absorption nicht, und die Menge der Organe, die in einer halben Stunde das Kaninchenserum gegen die Milzbrandbacillen gänzlich unwirksam macht, setzt die Wirkung auf *Proteus* nur wenig herab.

Tabelle XII.

Kaninchen. Nach dem Entbluten wurden die Organe sofort entnommen, auf Eis abgekühlt und verarbeitet. Zerriebene Leber, Milz, Niere, Muskel und Knochenmark wurden in der Menge von  $\frac{1}{2}$  g Organbrei mit 1 ccm Serum gemischt,  $\frac{1}{2}$  Stunde bei + 37° belassen und danach zentrifugiert.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 7 Stunden	Nach 24 Stunden
<b>Einsaat: <i>Proteus Zenkeri</i> U.</b>			
1 ccm Kaninchenserum	23	0	0
1 „ „ Ks erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°	3452 im Mittel	1	> 10 000
1 „ „ behandelt mit Leber		1	> 10 000
1 „ „ „ „ Milz		0	0
1 „ „ „ „ Niere		34	3
1 „ „ „ „ Muskel		0	0
1 „ „ „ „ Knochenmark		0	0
<b>Einsaat: Milzbrandbacillus.</b>			
1 ccm Kaninchenserum	182 im Mittel	0	0
1 „ „ Ks erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		1 136	unbeschränktes Wachstum
1 „ „ behandelt mit Leber		2 176	
1 „ „ „ „ Niere		10 366	
1 „ „ „ „ Muskel		> 10 000	
1 „ „ „ „ Knochenmark		1 987	

Trotz der äußerst kleinen Einsaat hat sich der Milzbrandbacillus in allen behandelten Seris rasch vermehrt, die doch bei weit größerer Einsaat nach 24 Stunden mit einer Ausnahme noch keine Zunahme des *Proteus* gestatteten. Der Versuch zeigt außerdem die zwei interessanten Details, daß das Kaninchenserum auch gegen *Proteus* eine fast momentane vernichtende Wirkung entfaltet und daß das halbstündige Erhitzen bei 58° das Serum nicht immer inaktiviert.

Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Organen und Bacillen ruft in vitro nur die Leber eine bemerkbare Herabsetzung der bakteriziden Wirkung des Serums hervor (s. Tabelle XIV). Wenn also nach diesen Ausführungen die Serumalexine für die Immunität des Kaninchens gegen *Proteus* immer noch von Bedeutung zu sein schienen, so war es andererseits von Interesse zu wissen, ob die Leukocyten bakterizide Stoffe enthalten. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie beim Meerschweinchen.

Beim Kaninchen enthalten sowohl die Leukocyten als auch das Serum keimfeindliche Stoffe. Die ersteren entfalten in Bouillon sogar noch kräftigere bakterizide Wirkung als im inaktiven Serum. Die Bakterizidie

Tabelle XIII.

Etwa 18 Stunden nach intraperitonealer Aleuronatinjektion verblutetes Kaninchen. Anordnung wie vorher. Das Serumextrakt wurde mit inaktiviertem Serum hergestellt.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 8 Stunden
Einsaat: <i>Proteus mirabilis</i> Sthlm.		
1 ccm Kaninchenserum		0
1 „ Ks erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		15 454
1 „ Ks inakt. + Leukocyten		204
1 „ (Ks inakt. + Leukoc.) erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		496
1 „ Serumleukocytenextrakt		17
1 „ Serumleukocytenextrakt erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		1 936
1 „ Bouillon		4 197
1 „ Bouillon + Leukocyten		0
1 „ (Bouillon + Leukocyten) erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°	2096 im Mittel	15
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		0
1 „ Bouillonleukocytenextrakt erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		736
Einsaat: <i>Proteus Zenkeri</i> U.		
1 ccm Kaninchenserum		0
1 „ Ks erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		7 377
1 „ Ks inakt. + Leukocyten		424
1 „ (Ks inakt. + Leukoc.) erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		760
1 „ Serumleukocytenextrakt		36
1 „ Serumleukocytenextrakt erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 52°		3 879
1 „ Bouillon		> 19 000
1 „ Bouillon + Leukocyten	2886 im Mittel	0
1 „ (Bouillon + Leukocyten) erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		2
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		0
1 „ Bouillonleukocytenextrakt erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 58°		1 648

der Mischung von Serum und Leukocyten gebührt also wahrscheinlich den letzteren allein. Eine Ergänzung des inaktiven Serums durch Leukocyten dürfte nicht stattfinden, und überhaupt scheint die Anwesenheit von Serumambozeptoren die Bakteriolyse durch die Leukocytenstoffe eher einzuschränken als zu fördern. Auch bei einer Nachahmung der natürlichen Verhältnisse im Tierkörper, d. h. bei Anwesenheit von Kaninchenorganen in den bakteriziden Versuchen, ist die Wirkung der bakteriziden Leukocytenstoffe der der Serumalexine keineswegs unterlegen.

Sehr beweiskräftig kann ein solcher Versuch ohne weiteres allerdings nicht sein, insofern man nicht weiß, in welcher Beziehung die Menge der Leukocyten im infizierten Organismus zu den Körperflüssigkeiten steht. Eine Betrachtung bekannter Tatsachen wird inzwischen klarlegen, daß eine Bedeutung für die Immunität des Kaninchens den bakteriziden Leukocytenstoffen nicht abzusprechen ist. Die Immunität des Kaninchens gegen *Proteus* ist bekanntlich so vollständig, daß man gewöhnlich keine wirkliche Infektion hervorrufen kann, sondern höchstens eine Vergiftung. Werden größere Kulturmengen subkutan injiziert, so entsteht ein Absceß, d. h. eine gewaltige Ansammlung von Leukocyten. In diesem Falle muß die Wirkung der bakteriziden Leukocytenstoffe der der Serumalexine offenbar überlegen sein. Ganz ähnlich wird der Verlauf bei intramuskulärer Injektion. Beim Einführen der Bacillen in die Blutbahn werden sie in kürzester Zeit in den Organen festgehalten, und die Vernichtung verläuft danach in derselben Weise wie in dem Muskel. Nur in den großen Körperhöhlen und den Gefäßen dürften die

Tabelle XIV.

Kaninchen. Eine Aufschwemmung von gewaschenen Leukocyten in Bouillon wurde wie vorher mehrmals gefroren und wieder aufgetaut, danach  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $+ 37^{\circ}$  belassen und sodann zentrifugiert. Der klaren Flüssigkeit ebenso wie dem Serum wurden zerriebene Organe zugesetzt.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 5 Stunden	Nach 10 Stunden	
Einsaat: <i>Proteus Zenkeri</i> U.					
1 ccm	Kaninchenserum		0	0	
1 "	" + die Hälfte der Milz		0	0	
1 "	" + $\frac{1}{2}$ g Leber		6	11 257	
1 "	" + $\frac{1}{2}$ " Niere		0	0	
1 "	" + $\frac{1}{2}$ " Muskel		7	40	
1 "	" + $\frac{1}{2}$ " Knochenmark		0	0	
1 "	Bouillon + Leukoc., gefroren u. zentrifugiert		0	0	
1 "	" + " + die Hälfte der Milz	964 im Mittel	0	0	
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ g Leber		30	2	
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Niere		32	332	
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Muskel		0	0	
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Knochenmark		0	0	
Einsaat: <i>Proteus mirabilis</i> Sthlm.					
1 ccm	Kaninchenserum			0	0
1 "	" + $\frac{1}{2}$ g Leber			23	98
1 "	" + $\frac{1}{2}$ " Niere		0	3	
1 "	" + $\frac{1}{2}$ " Muskel		2	0	
1 "	" + $\frac{1}{2}$ " Knochenmark		5	0	
1 "	Bouillon + Leukoc., gefroren u. zentrifugiert		0	0	
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ g Leber	1544 im Mittel	70	74	
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Niere		0	0	
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Muskel		3	0	
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Knochenmark		0	0	

Bedingungen anfangs günstiger sein für eine Keimvernichtung durch die Alexine als durch die Leukocytenstoffe.

## II. Ueber die Anwesenheit von Immunkörpern in normalen, nicht bakterizid wirkenden Sera.

Wenn es durch die vorigen Versuche als festgestellt angesehen werden darf, daß bei dem Meerschweinchen, dem Hunde und der Katze die Vernichtung der *Proteus*-Bacillen von der Wirkung der Leukocytenstoffe abhängt, so war es doch in mehrfacher Beziehung von Interesse zu untersuchen, ob die Sera dieser Tiere zu den *Proteus*-Bacillen passende Ambozeptoren enthalten. Von Metschnikoff (6) ist mehrmals hervorgehoben worden, daß die Sera normaler Tiere keine Immunkörper enthalten. Als spezielle Grundlage dieser Anschauung dienen eben einige Versuche von Bordet und Gengou (7) mit *Proteus* beim Meerschweinchen. Aus dem Umstand, daß der mit normalem inaktiven Meerschweinchenserum vorbehandelte *Proteus vulgaris* nicht im Stande war, einem Meerschweinchenserum sein Komplement völlig zu entziehen, was dagegen durch die gleiche Menge von mit *Proteus*-Immunserum behandeltem *Proteus vulgaris* hervorgebracht wurde, schließt Metschnikoff, daß das normale Meerschweinchenserum keine oder nur minimale Mengen Immunkörper enthält. Meines Erachtens beweisen die Versuche Bordets nur, daß das normale Serum erheblich weniger Immunkörper enthält als das Immunserum. Die Anordnung meiner Versuche bestand

ganz wie beim Milzbrand in einer Untersuchung auf bakterizide Wirkung nach Ergänzung der inaktivierten Sera mit frischem Kaninchenserum.

Tabelle XV.  
Einsaat: *Proteus Zenkeri* U.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Stunden
1 ccm Meerschweinchenserum	1708 im Mittel	6042
1 „ Ms erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+ 58^{\circ}$		9158
1 „ Ms inaktiviert $+ \frac{1}{10}$ ccm Kaninchenserum aktiviert		7254
1 „ Bouillon $+ \frac{1}{10}$ ccm Kaninchenserum aktiviert		> 15 000
1 „ Kaninchenserum		59

Tabelle XVI.  
Einsaat: *Proteus Zenkeri* U.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Stunden
1 ccm Hundeserum I	1850 im Mittel	> 10 000
1 „ Hundeserum I erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+ 58^{\circ}$		> 10 000
1 „ Hundeserum I inakt. $+ \frac{1}{10}$ ccm Kaninchenserum akt.		23
1 „ Bouillon $+ \frac{1}{10}$ ccm Kaninchenserum akt.		> 20 000
1 „ Hundeserum II	5065 im Mittel	11 320
1 „ Hundeserum II erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+ 58^{\circ}$		10 366
1 „ Hundeserum II inakt. $+ \frac{1}{10}$ ccm Kaninchenserum akt.		264
1 „ Bouillon $+ \frac{1}{10}$ ccm Kaninchenserum akt.		30 909
1 „ Kaninchenserum		0

Tabelle XVII.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Stunden	Nach 8 Stunden
Einsaat: <i>Proteus mirabilis</i> Král			
1 ccm Katzenserum	1285 im Mittel	3879	6 678
1 „ Katzenserum erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+ 58^{\circ}$		2976	5 972
1 „ Katzenserum inakt. $+ \frac{1}{10}$ ccm Kan.-Ser. akt.		816	524
1 „ Bouillon $+ \frac{1}{10}$ ccm Kaninchenserum akt.		1864	37 778
1 „ Kaninchenserum		0	0
Einsaat: <i>Proteus Zenkeri</i> U.			
1 ccm Katzenserum	908 im Mittel	1896	4 515
1 „ Katzenserum erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+ 58^{\circ}$		2688	3 370
1 „ Katzenserum inakt. $+ \frac{1}{10}$ ccm Kan.-Ser. akt.		1152	292
1 „ Bouillon $+ \frac{1}{10}$ ccm Kaninchenserum akt.		3688	> 30 000
1 „ Kaninchenserum		0	0

Wie aus den Tabellen zu ersehen ist, gelang die Ergänzung des Hunde- und des Katzenserums mit Kaninchenserum. Die genannten Sera enthalten folglich zu den *Proteus*-Bacillen passende Ambozeptoren in nicht allzu geringer Menge. So ganz regelmäßig wie bei Milzbrand ruft der Zusatz des Kaninchenserums Bakterizidie bei *Proteus* nicht hervor. Dagegen ist eine Ergänzung des Meerschweinchenserums nie gelungen. Dies beweist natürlich nicht, daß das Meerschweinchenserum keinen zum *Proteus* passenden Immunkörper enthält, macht es aber immerhin recht wahrscheinlich. Wenn die Hemmungserscheinungen, die in den Versuchen mit Hundeleukocyten im Hundeserum auftraten, und

auf einer Verstopfung der Bakterienrezeptoren mit Serumambozeptoren zurückgeführt wurden, richtig gedeutet worden sind, so spricht weiter das Nichtauftreten dieser Erscheinung bei den Versuchen mit Meer-schweinchenleukocyten in Meerschweinchen Serum dafür, daß dieses Serum keinen Immunkörper enthält.

Theoretisch ist der Nachweis von einem zu dem *Proteus* passenden Immunkörper von großem Interesse. Ein auf *Proteus* wirkendes Komplement fehlt bei dem Hunde und der Katze vollständig oder fast vollständig. Das Vorhandensein des Immunkörpers hat deshalb für die Tiere in Bezug auf ihre Immunität gegen diesen Organismus gar keine Bedeutung. Die Ursache der Immunität ist eine ganz andere, nämlich die keimfeindlichen Substanzen, die in den Leukocyten stecken. Der eine von den zwei Komponenten des Serumalexins kann also vorhanden sein, ohne irgend welche Bedeutung für die Immunität. Der Immunkörper dürfte anderen Zwecken dienen bei dem physiologischen Umsatz des Organismus. Dasselbe gilt nun gelegentlich auch für das ganze Alexin. Ein Beispiel dieser Art liefert das Kaninchen, dessen Serum ein gegen Milzbrandbacillen hochwirksames Alexin enthält, das aber im Tierkörper diese Wirkung nicht entfaltet. Allein aus der Anwesenheit eines Immunkörpers oder Bakteriolytins darf man nichts in Bezug auf die Immunität schließen. Ebenso wenig dürfte die Annahme berechtigt sein, daß die bakteriziden Leukocytenstoffe immer in Aktion treten, wenn die Organismen, zu denen sie passen, gelegentlich in den Körper eindringen oder eingeführt werden.

### III. Neue Versuche über die Milzbrandimmunität.

Der überraschende Ausfall der Versuche mit *Proteus* beim Meer-schweinchen, beim Hunde und bei der Katze erheischen selbstverständlich eine Revision der Immunität gegen Milzbrand. Schon bei einer vorigen Untersuchung über die künstliche Immunität des Hundes konnte ich wiederholt beobachten, daß die gewaschenen Hundeleukocyten in Kochsalzlösung deutliche bakterizide Wirkung entfalteten (8). Einige dieser Versuche werden hier verkürzt wiedergegeben.

Tabelle XVIII.

Bezeichnung der Hunde	Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Stunden
Hund C	1 ccm Serum	722 im Mittel	928
" "	1 " Serum + Leukocyten		5
" "	1 " Kochsalzlösung + Leukocyten		174
Hund E	1 " Serum	344 im Mittel	900
" "	1 " Serum + Leukocyten		0
" "	1 " Kochsalzlösung + Leukocyten		25
Hund F	1 " Serum	569 im Mittel	6487
" "	1 " Serum + Leukocyten		56
" "	1 " Kochsalzlösung + Leukocyten		360
Hund I	1 " Serum	1027 im Mittel	7059
" "	1 " Serum + Leukocyten		0
" "	1 " Kochsalzlösung + Leukocyten		346

Der Hund C war nicht immunisiert, die übrigen dagegen längere Zeit mit Injektionen von Milzbrandbacillen vorbehandelt.

Für das genauere Studium der Wirkung der Leukocyten eignen sich nur ziemlich hochimmune Tiere. Um die sehr lästige Bildung von

Schleimklümpchen tunlichst zu vermeiden, die beim Erhitzen der besonders mit Kochsalzlösung hergestellten Leukocytenaufschwemmungen und Extrakte entstehen, kann nur eine verhältnismäßig geringe Menge von Leukocyten verwendet werden. Diese müssen folglich recht reich an bakteriziden Stoffen sein, wenn man einen positiven Ausfall der bakteriziden Versuche erwarten will. Von den natürlich immunen Tieren bietet freilich das Huhn die erwünschte Immunität, zeigt aber statt dessen den Nachteil, daß es nach Aleuronatinjektion nur wenig und nicht regelmäßig Exsudat gibt. Die Versuche wurden deshalb mit immunisierten Hunden und Katzen angestellt.

Tabelle XIX.

Hund I, Foxterrier, 2 Jahre alt. War seit 6 Monaten mit Milzbrandbacillen vorbehandelt und bekam die letzte Injektion vor 12 Tagen. Die größte auf einmal eingespritzte Menge betrug 4 Schrägagarkulturen. Wurde etwa 18 Stunden nach intrapleuraler Aleuronatinjektion verblutet. Die mehrmals gewaschenen Leukocyten wurden zu gleichen Teilen zu Serum und zu Bouillon zugesetzt. Zum Versuche wurden teils die zellenhaltigen Aufschwemmungen, teils Extrakte der Leukocyten verwendet, die wie vorher in der Weise gewonnen wurden, daß die Leukocytenaufschwemmungen nach abermaligem Einfrieren  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $+37^{\circ}$  belassen und schließlich zentrifugiert wurden. Einsaat: *Bacillus anthracis*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Stunden	Nach 7 Stunden
1 ccm Hundeserum	1128 im Mittel	12 692	sehr viele
1 „ Hs erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+58^{\circ}$		10 875	„ 140
1 „ Hs + Leukocyten		168	sehr viele
1 „ Hs + Leukocyten erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+58^{\circ}$		10 748	0
1 „ Leukocytenextrakt mit Hundeserum		3	1347
1 „ Leukocytenextr. mit Hs erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei $+58^{\circ}$		1280	sehr viele
1 „ Bouillon		6169	112
1 „ Bouillon + Leukocyten		232	13 165
1 „ Bouillon + Leukocyten erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei $+58^{\circ}$		3104	456
1 „ Leukocytenextrakt mit Bouillon		1392	3879
1 „ Leukocytenextr. m. Bouillon erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei $58^{\circ}$		1328	

Tabelle XX.

Eine ausgewachsene Katze wurde etwa 3 Wochen mit steigenden Dosen Milzbrandbacillen vorbehandelt. 8 Tage nach der letzten Injektion von 3 Oesen wurde sie mit Aleuronat intraperitoneal injiziert und etwa 24 Stunden danach getötet. Die gewaschenen Leukocyten wurden ganz wie beim vorigen Versuche behandelt. Einsaat: *Bacillus anthracis*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Std.	Nach 8 Std.
1 ccm Katzenserum	1013 im Mittel	5278	> 10 000
1 „ „ erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+58^{\circ}$		4940	> 10 000
1 „ Katzenserum + Leukocyten		128	48
1 „ „ + „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ $+58^{\circ}$		1362	672
1 „ Serumleukocytenextrakt		528	976
1 „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ $+58^{\circ}$		884	604
1 „ Bouillon		6805	22 323
1 „ „ + Leukocyten		864	736
1 „ „ + „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ $+58^{\circ}$		592	384
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		312	103
1 „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ $+58^{\circ}$		1088	904

Es ist nicht zu bestreiten, daß das Serum die Wirkung der Leukocyten öfters erhöht. Dies gilt ganz besonders für die Hundeleukocyten



und beruht offenbar auf der Zufuhr von Immunkörpern zu dem in den Leukocyten befindlichen Komplement. Daß die dadurch im Reagierglase entstehende Bakterizidie für die Immunität des Tieres von irgend welcher Bedeutung ist, läßt sich aber daraus nicht folgern. Die starke Wirkung des Kaninchensersums versagt, wie Bail und ich (9) nachgewiesen haben, vollständig im Tierkörper, und der Immunkörper des Hundeserums wird, wie wir auch nachweisen konnten, von den Organen energisch absorbiert. Es war deshalb von vornherein nicht sehr wahrscheinlich, daß bei Anwesenheit von Hundeorganen die Aufschwemmung der Leukocyten im Serum sich einer solchen in der Bouillon überlegen zeigen würde. Der Versuch bestätigte auch dies.

Tabelle XXI.

Derselbe Hund wie in der Tabelle XIX. Zu den frisch zerriebenen Organen wurde gleichzeitig mit der Einsaat Aufschwemmung von gewaschenen Leukocyten in Serum oder in Bouillon zugesetzt. Einsaat: Bacillus anthracis.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 4 Stunden	Nach 7 Stunden
1 ccm	Hundeserum		12 692	Vermehrung
1 "	Hundeserum + Leukocyten		6	11
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ g Leber	1613 im Mittel	98	124
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Niere		47	12
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Milz		19	27
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Muskel		25	20
1 "	Bouillon		8077	Vermehrung
1 "	Bouillon + Leukocyten		27	29
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ g Leber		432	824
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Niere		64	98
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Milz		272	344
1 "	" + " + $\frac{1}{2}$ " Muskel		32	19

Die Wirkung der Leukocyten ist in den beiden Fällen fast gleich groß. Aehnlich fielen Versuche mit Leukocytenextrakten in Bouillon und Serum aus. Auch bei der Katze erhielt ich dasselbe Resultat. Eine Bedeutung für die Bakterienabtötung im Tierkörper kann folglich dem Serumimmunkörper nicht zuerkannt werden. Zu einer entgegengesetzten Annahme war ich früher allerdings sehr geneigt (8). Die diesbezüglichen Versuche wurden aber ohne Rücksichtnahme auf die bakteriziden Leukocytenstoffe angestellt und können deshalb für diese Anschauung nicht als beweisend betrachtet werden. In gutem Einklang mit der hier dargestellten Ansicht steht eine früher gemachte Beobachtung in Bezug auf das Hundeknochenmark (8). Durch Behandeln mit Knochenmark wird das Hundeserum seines Immunkörpers beraubt in ganz analoger Weise, wie dies beim Kaninchen geschieht. Nichtsdestoweniger entfaltet das zerriebene Hundemark sowohl im Serum als auch in der Kochsalzlösung eine bedeutende Bakterizidie. Diese muß offenbar auf die Wirkung der bakteriziden Zellenstoffe zurückgeführt werden, da in der Kochsalzlösung kein Immunkörper vorhanden ist und in der Serumischung dieser von gewissen Substanzen des Knochenmarkes energisch absorbiert wird. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

## Ueber Erythropräzipitin und andere Immunprodukte einzelner Bestandteile des Blutes.

[Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium des k. k. Krankenhauses „Rudolf-Stiftung“ in Wien (Vorstand: Dr. E. Freund).]

Von Privatdozent Dr. Arthur Klein.

(Schluß.)

### Versuch II.

Kaninchen No. 172 erhält in der Zeit vom 5. Febr. bis 2. April 1904 8 Injektionen von je 10 ccm Pferdeserum intraperitoneal, im ganzen: 80 ccm.

Vorläufige Prüfung des Immunserums nach der 4. Injektion.

#### A. Prüfung auf Erythropräzipitin.

		Nach 3 Stunden:	
172-Serum	+ Pferde-E.-Extrakt	aa: Niederschlag	
„	+ „	0	
„	+ „	0	

#### B. Prüfung auf Serumpräzipitin.

		Nach 3 Stunden:	
172-Serum	+ Pferdeserum	aa: Niederschlag	kräftig
„	+ „	„	„
„	+ „	„	—

#### C. Prüfung auf Erythrocytenagglutinin und Hämolysin.

		Nach 3 Stunden	
10 Tropfen 172-Serum	$\frac{1}{3}$ verdünnt + 3 Tropfen Pferdeerythrocyten (25 %)	aggl. feste	Flocke, keine Lös.
„	„ $\frac{1}{6}$ „ + 3 „	„	„

Prüfung des Immunserums nach der 8. Injektion.

#### A. Prüfung auf Erythropräzipitin.

		Nach 12 Stunden:	
172-Serum	+ Pferde-E.-Extrakt	aa: Niederschlag	kräftig
„	+ „	„	„
„	+ „	„	—
„	+ „	„	—
„	+ „	„	zart
„	+ „	„	zart
„	+ „	„	u. ff.
„	+ „	„	0

		Nach 12 Stunden:	
172-Serum	$\frac{1}{2}$ verdünnt + Pferde-E.-Extrakt	aa: Niederschlag	kräftig
„	„ „ + „	„	„
„	„ „ + „	„	—
„	„ „ + „	„	—
„	„ „ + „	„	zart
„	„ „ + „	„	„
„	„ „ + „	„	u. ff.
„	„ „ + „	„	0
172-Serum	$\frac{1}{6}$ verdünnt + Pferde-E.-Extrakt	aa: Niederschlag	kräftig
„	„ „ + „	„	„
„	„ „ + „	„	—
„	„ „ + „	„	—
„	„ „ + „	„	zart
„	„ „ + „	„	„
„	„ „ + „	„	u. ff.
„	„ „ + „	„	0
172-Serum	$\frac{1}{10}$ verdünnt + Pferde-E.-Extrakt	aa: Niederschlag	kräftig
„	„ „ + „	„	„
„	„ „ + „	„	—
„	„ „ + „	„	—

						Nach 12 Stunden:
172-Serum	$\frac{1}{20}$	verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		āā: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" Niederschlag?
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" "
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" 0
172-Serum	$\frac{1}{30}$	verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		āā: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" Niederschlag?
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" "
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" 0
172-Serum	$\frac{1}{40}$	verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		āā: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" 0
172-Serum	$\frac{1}{50}$	verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		āā: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" 0

**B. Prüfung auf Serumpräzipitin.**

					Nach 12 Stunden:
172-Serum	+	Pferdeserum			āā: Niederschlag
"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	"	" kräftig
"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	"	" "
"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	"	" "
"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	"	" —
"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	"	" —
"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	"	" zart
"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	"	" "
					Nach 12 Stunden:
172-Serum	$\frac{1}{5}$	verdünnt	+	Pferdeserum	āā: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ " " Niederschlag zart
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ " " "
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ " " —
"	"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ " " —
"	"	"	+	"	$\frac{1}{80}$ " " zart
"	"	"	+	"	$\frac{1}{160}$ " " "
172-Serum	$\frac{1}{10}$	verdünnt	+	Pferdeserum	āā: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{80}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{160}$ " " 0
172-Serum	$\frac{1}{20}$	verdünnt	+	Pferdeserum	āā: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{80}$ " " 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{160}$ " " 0

**C. Prüfung auf Erythrocytenagglutinin und Hämolysin.**

					Nach 12 Stunden
<sup>10</sup> Tropfen 172-Serum		+	3 Tropfen	Pferdeerythrocyten (25%) : vollst. Lös.	
"	$\frac{1}{8}$	verdünnt	+	"	" " teilw. " aggl. feste Flocke
"	$\frac{1}{5}$	"	+	"	" " " " " "
"	$\frac{1}{10}$	"	+	"	" " " " " "
"	$\frac{1}{20}$	"	+	"	" " keine " " " "
"	$\frac{1}{40}$	"	+	"	" " " " " "
"	$\frac{1}{80}$	"	+	"	" " " " " agglutiniert
"	$\frac{1}{160}$	"	+	"	" " " " " teilw. agglutiniert

## D. Prüfung auf Stromataagglutinin.

Nach 12 Stunden:  
172-Serum + Stromataaufschwemmung: keine Agglutination.

Aus diesem Versuch ergibt sich als Resultat: Nach Immunisierung mit Pferdeserum traten im Serum des immunisierten Tieres folgende Immunsbstanz auf:

- 1) Erythropräzipitin (172-Serum  $\frac{1}{80}$  verdünnt ergibt noch einen Niederschlag mit Erythrocytenextrakt  $\frac{1}{10}$  verdünnt).
- 2) Serumpräzipitin (172-Serum  $\frac{1}{5}$  verdünnt gibt noch mit Pferdeserum  $\frac{1}{80}$  verdünnt einen zarten Niederschlag).
- 3) Hämolyisin (10 Tropfen 172-Serum  $\frac{1}{10}$  verdünnt geben mit 3 Tropfen einer 25-proz. Blutkörperchenaufschwemmung teilweise Lösung).
- 4) Erythrocytenagglutinin (10 Tropfen 172-Serum  $\frac{1}{160}$  verdünnt geben mit 3 Tropfen einer 25proz. Blutkörperchenaufschwemmung teilweise Agglutination).
- 5) Kein Stromataagglutinin.

## Versuch III.

Kaninchen 111 erhält Injektionen von Stromata in physiologischer Kochsalzlösung (0,85-proz.) intraperitoneal. Bei dem oben angegebenen Verfahren zur Herstellung der Stromata erscheint die hierbei gewonnene Quantität auffallend gering. Es werden deshalb ziemlich große Mengen von zentrifugiertem Blutkörperchenbrei verarbeitet. Das Versuchstier erhält in der Zeit vom 24. Febr. bis 20. März 1904 8 Injektionen: Bei 6 Injektionen wurden je 40 ccm Blutkörperchen, einmal 60 ccm, einmal 70 ccm verarbeitet, im ganzen entsprechend 370 ccm.

Vorläufige Prüfung des Immunserums nach der 4. Injektion.

## A. Prüfung auf Erythropräcipitin.

				Nach 12 Stunden:	
111-Serum	+ Pferde-E.-Extrakt			ää	: Niederschlag zart
"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	"	" —
"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	"	" —
"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	"	" zart
"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" u. ff.	" 0
111-Serum	+ Pferde-E.-Extrakt			ää	: Niederschlag zart
"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	+	"	"	" —
"	$\frac{1}{5}$ "	+	"	"	" —
"	$\frac{1}{10}$ "	+	"	"	" —
"	$\frac{1}{20}$ "	+	"	"	" zart
"	$\frac{1}{40}$ "	+	"	" u. ff.	" 0

## B. Prüfung auf Serumpräzipitin.

				Nach 12 Stunden:	
111-Serum	+ Pferdeserum			ää	: 0
"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	"	" 0
"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	"	" 0
"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	"	" 0
"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	"	" 0
"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	"	" 0
"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	"	" 0
"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	"	" 0
111-Serum	+ Pferdeserum			ää	: 0
"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	+	"	"	" 0
"	$\frac{1}{5}$ "	+	"	"	" 0
"	$\frac{1}{10}$ "	+	"	"	" 0
"	$\frac{1}{20}$ "	+	"	"	" 0
"	$\frac{1}{40}$ "	+	"	"	" 0
"	$\frac{1}{80}$ "	+	"	"	" 0

C. Prüfung auf Erythrocytenagglutinin und Hämolysin.

						Nach 12 Stunden:	
2 Tropfen 111-Serum		+ 3 Tropfen Pferdeerythrocyten (25 %):	vollst. Lös.				
" "	" $\frac{1}{2}$ verdünnt	" "	" "	" "	" "	" "	" "
" "	" $\frac{1}{5}$ "	" "	" "	" "	" "	teilw.	" aggl. feste Flocke
" "	" $\frac{1}{10}$ "	" "	" "	" "	" "	" "	" " " "
" "	" $\frac{1}{20}$ "	" "	" "	" "	" "	" "	" agglutiniert "
" "	" $\frac{1}{40}$ "	" "	" "	" "	" "	" "	" " " "
" "	" $\frac{1}{80}$ "	" "	" "	" "	" "	keine	" teilw. agglutiniert
" "	" $\frac{1}{160}$ "	" "	" "	" "	" "	" "	" keine Agglutinat.

D. Prüfung auf Stromataagglutinin.

Nach 12 Stunden:

111-Serum + Stromataaufschwemmung: 0

Prüfung des Immunserums nach der 8. Injektion.

A. Prüfung auf Erythropräzipitin.

Nach 12 Stunden:

111-Serum + Pferde-E.-Extrakt		$\frac{1}{2}$ verdünnt	aa: Niederschlag
" + " "	" "	" "	" "
" + " "	" "	" "	zart
" + " "	" "	" "	u. ff. 0

Nach 12 Stunden:

111-Serum $\frac{1}{6}$ verdünnt + Pferde-E.-Extrakt		$\frac{1}{2}$ verdünnt	aa: 0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	Niederschlag
" " " + " "	" "	" "	zart
" " " + " "	" "	" "	sehr zart
" " " + " "	" "	" "	u. ff. 0

111-Serum $\frac{1}{10}$ verdünnt + Pferde-E.-Extrakt		$\frac{1}{2}$ verdünnt	aa: 0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	Niederschlag
" " " + " "	" "	" "	sehr zart
" " " + " "	" "	" "	zart
" " " + " "	" "	" "	sehr zart
" " " + " "	" "	" "	u. ff. 0

Nach 12 Stunden:

111-Serum $\frac{1}{20}$ verdünnt + Pferde-E.-Extrakt		$\frac{1}{2}$ verdünnt	aa: 0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	0
" " " + " "	" "	" "	0

B. Prüfung auf Serumpräzipitin.

Nach 12 Stunden:

111-Serum + Pferdeserum		$\frac{1}{2}$ verdünnt	aa: 0
" + " "	" "	" "	0
" + " "	" "	" "	0
" + " "	" "	" "	0
" + " "	" "	" "	0
" + " "	" "	" "	0
" + " "	" "	" "	0
111-Serum $\frac{1}{2}$ verdünnt + Pferdeserum		" "	aa: 0
" $\frac{1}{5}$ " + " "	" "	" "	0
" $\frac{1}{10}$ " + " "	" "	" "	0
" $\frac{1}{20}$ " + " "	" "	" "	0
" $\frac{1}{40}$ " + " "	" "	" "	0
" $\frac{1}{80}$ " + " "	" "	" "	0

## C. Prüfung auf Erythrocytenagglutinin und Hämolysin.

10 Tropfen 111-Serum		+ 3 Tropfen Pferdeerythrocyten (25%)		vollst. Lös.		Nach 12 Stunden :	
"	"	1/2	verdünnt	+	"	"	"
"	"	1/5	"	+	"	"	"
"	"	1/10	"	+	"	"	teilw. aggl. feste Flocke
"	"	1/20	"	+	"	"	"
"	"	1/40	"	+	"	"	"
"	"	1/80	"	+	"	"	keine " " "
"	"	1/160	"	+	"	"	agglutiniert
"	"	1/320	"	+	"	"	"
"	"	1/640	"	+	"	"	"
"	"	1/1280	"	+	"	"	teilw. agglutiniert
"	"	1/2560	"	+	"	"	Spur Agglutinat.
"	"	1/5120	"	+	"	"	keine "

## D. Prüfung auf Stromataagglutinin.

10 Tropfen 111-Serum		+ 3 Tropfen Stromataaufschwemmung:		Nach 12 Stdn.:	
"	"	1/2	verdünnt	+	agglutiniert
"	"	1/5	"	+	"
"	"	1/10	"	+	"

Als Resultat dieses Versuches ergibt sich: Nach Immunisierung mit Stromata traten im Serum des immunisierten Tieres folgende Immunsbstanz auf:

- 1) Erythropräzipitin (111-Serum 1/10 verdünnt gibt noch mit Erythrocytenextrakt 1/40 verdünnt einen zarten Niederschlag).
- 2) Kein Serumpräzipitin.
- 3) Hämolysin (10 Tropfen 111-Serum 1/40 verdünnt geben mit 3 Tropfen einer 25-proz. Erythrocytenaufschwemmung teilweise Lösung).
- 4) Reichlich Erythrocytenagglutinin (10 Tropfen 111-Serum 1/2560 verdünnt geben mit 3 Tropfen einer 25-proz. Erythrocytenaufschwemmung noch Spur Agglutination).
- 5) Stromataagglutinin (111-Serum agglutiniert noch in 1/10-Verdünnung eine Stromataaufschwemmung).

## Versuch IV.

Kaninchen No. 283 erhält in der Zeit vom 24. Febr. bis 20. April 1904 8 Injektionen von je 20 ccm einer 25-proz. Pferdeerythrocytenaufschwemmung intraperitoneal, im ganzen 160 ccm.

## Vorläufige Prüfung nach der 4. Injektion.

## A. Prüfung auf Erythropräzipitin.

283-Serum		+ Pferde-E.-Extrakt		Nach 12 Stunden :	
"	+	"	1/2 verdünnt	ää:	Niederschlag kräftig
"	+	"	1/5	"	"
"	+	"	1/10	"	zart
"	+	"	1/20	"	u. ff. 0
283-Serum		+ Pferde-E.-Extrakt		ää: Niederschlag	
"	1/2	verdünnt	+	"	kräftig
"	1/5	"	+	"	"
"	1/10	"	+	"	"
"	1/20	"	+	"	"
"	1/40	"	+	"	"
"	1/80	"	+	"	zart
"	1/160	"	+	"	u. ff. 0

**B. Prüfung auf Serumpräzipitin.**

				Nach 12 Stunden:	
283-Serum	+	Pferdeserum		āā:	0
"	+	"	1/2 verdünnt	"	Niederschlag zart?
"	+	"	1/5 "	"	" "
"	+	"	1/10 "	"	" "
"	+	"	1/20 "	"	0
283-Serum				+	Pferdeserum āā: 0
"	1/2 verdünnt			+	" "
"	1/5 "			+	" "
"	1/10 "			+	" "
"	1/20 "			+	" "
"	1/40 "			+	" "
"	1/80 "			+	" "
"	1/160 "			+	" "

**C. Prüfung auf Erythrocytenagglutinin und Hämolysin.**

				Nach 12 Stunden:	
10 Tropf. 283-Serum				+	3 Tropf. Pferdeerythrocyten (25 %): vollst. Lös.
"	1/2 verdünnt			+	" "
"	1/5 "			+	" teilw. " aggl. feste Flocke
"	1/10 "			+	" " " " " "
"	1/20 "			+	" " " " " "
"	1/40 "			+	" keine " " " "
"	1/80 "			+	" " " " " "
"	1/160 "			+	" " " " " "
"	1/320 "			+	" " " " agglutiniert

**D. Prüfung auf Stromataagglutinin.**

Nach 12 Stunden:  
283-Serum + Stromataaufschwemmung: keine Agglutination

Prüfung des Immunserums nach der 8. Injektion.

**A. Prüfung auf Erythropräzipitin.**

				Nach 12 Stunden:	
283-Serum	+	Pferde-E.-Extrakt		āā:	Niederschlag kräftig
"	+	"	1/2 verdünnt	"	"
"	+	"	1/5 "	"	"
"	+	"	1/10 "	"	"
"	+	"	1/20 "	"	zart
"	+	"	1/40 "	"	"
"	+	"	1/80 "	"	Trübung?
"	+	"	1/160 "	"	u. ff. 0
				Nach 12 Stunden:	
283-Serum	1/5 verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt	āā:	Niederschlag kräftig
"	"	+	" 1/2 verdünnt	"	"
"	"	+	" 1/5 "	"	"
"	"	+	" 1/10 "	"	"
"	"	+	" 1/20 "	"	zart
"	"	+	" 1/40 "	"	"
"	"	+	" 1/80 "	"	Trübung?
"	"	+	" 1/160 "	"	u. ff. 0
283-Serum	1/10 verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt	āā:	Niederschlag zart
"	"	+	" 1/2 verdünnt	"	"
"	"	+	" 1/5 "	"	"
"	"	+	" 1/10 "	"	kräftig
"	"	+	" 1/20 "	"	"
"	"	+	" 1/40 "	"	zart
"	"	+	" 1/80 "	"	Trübung
"	"	+	" 1/160 "	"	u. ff. 0
283-Serum	1/20 verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt	āā:	Trübung
"	"	+	" 1/2 verdünnt	"	Niederschlag
"	"	+	" 1/5 "	"	"
"	"	+	" 1/10 "	"	zart
"	"	+	" 1/20 "	"	"
"	"	+	" 1/40 "	"	"
"	"	+	" 1/80 "	"	Trübung
"	"	+	" 1/160 "	"	u. ff. 0

						Nach 12 Stunden:
283-Serum	$\frac{1}{80}$	verdünnt	+	Pferde-E.-Extrakt		ää: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" Trübung
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" Niederschlag zart
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" " "
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" " "
"	"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	" Trübung
"	"	"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	" Trübung?
"	"	"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	" u. ff. 0
283-Serum $\frac{1}{40}$ verdünnt + Pferde-E.-Extrakt						ää: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" Trübung?
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" Trübung
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" " "
"	"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	" Trübung?
"	"	"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	" " "
"	"	"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	" u. ff. 0

B. Prüfung auf Serumpräzipitin.

						Nach 12 Stunden:
283-Serum	+	Pferdeserum				ää: Niederschlag zart
"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	"	"	" sehr zart
"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	"	"	" " "
"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	"	"	" Trübung
"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	"	"	" Trübung?
"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	"	"	" " "
"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	"	"	" 0
"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	"	"	" 0

						Nach 12 Stunden:
283-Serum	$\frac{1}{2}$	verdünnt	+	Pferdeserum		ää: Spur Niederschlag
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" " "
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" " "
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" Trübung
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" Trübung?
"	"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	" 0
283-Serum $\frac{1}{5}$ verdünnt + Pferdeserum						ää: 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{5}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{10}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{20}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{40}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{80}$ "	" 0
"	"	"	+	"	$\frac{1}{160}$ "	" 0

C. Prüfung auf Erythrocytenagglutinin und Hämolyisin.

						Nach 12 Stunden:
10 Tropf. 283-Serum			+	3 Tropf. Pferdeerythrocyten (25 %):	vollst. Lös.	
"	"	$\frac{1}{2}$ verdünnt	+	"	"	" " "
"	"	$\frac{1}{5}$ "	+	"	"	" " "
"	"	$\frac{1}{10}$ "	+	"	"	" teilw. " aggl. feste Flocke
"	"	$\frac{1}{20}$ "	+	"	"	" " " " " "
"	"	$\frac{1}{40}$ "	+	"	"	" Spur " " " "
"	"	$\frac{1}{80}$ "	+	"	"	" keine " " " "
"	"	$\frac{1}{160}$ "	+	"	"	" " " " agglutiniert "
"	"	$\frac{1}{320}$ "	+	"	"	" " " " " "
"	"	$\frac{1}{640}$ "	+	"	"	" " " " teilw. agglutiniert "
"	"	$\frac{1}{1280}$ "	+	"	"	" " " " " "
"	"	$\frac{1}{2560}$ "	+	"	"	" " " " schwach " "
"	"	$\frac{1}{5120}$ "	+	"	"	" " " " keine Agglutination "

D. Prüfung auf Stromataagglutinin.

283-Serum + Stromataaufschwemmung: keine Agglutination



Als Resultat dieses Versuches ergibt sich: Nach Immunisierung mit Erythrocyten traten im Serum des immunisierten Tieres folgende Immunsustanzen auf:

- 1) Erythropräzipitin (283-Serum  $\frac{1}{30}$  verdünnt gibt mit Erythrocytenextrakt  $\frac{1}{20}$  verdünnt noch einen zarten Niederschlag).
- 2) Serumpräzipitin in sehr geringen Mengen (283-Serum  $\frac{1}{2}$  verdünnt gibt mit Pferdeserum  $\frac{1}{5}$  verdünnt eine „Spur“ Niederschlag.)
- 3) Hämolyisin (10 Tropfen 283-Serum  $\frac{1}{40}$  verdünnt geben mit 3 Tropfen einer 25-proz. Blutkörperchenaufschwemmung noch Spur Lösung).
- 4) Erythrocytenagglutinin reichlich (10 Tropfen 283-Serum  $\frac{1}{2560}$  verdünnt geben mit 3 Tropfen einer 25-proz. Blutkörperchenaufschwemmung noch schwache Agglutination).
- 5) Kein Stromataagglutinin.

Bei Immunisierungen mit Rinder- und Pferdeserum kann man die Beobachtung machen, daß die Präzipitinreaktion der hierbei gewonnenen Immunsera mit Rinder- resp. Pferdevollserum nicht eintritt, während sie mit Verdünnungen dieser Normalsera prompt in Erscheinung tritt. Obermayer und Pick<sup>1)</sup> haben zuerst auf dieses Phänomen aufmerksam gemacht, welches seither allgemein bestätigt wurde. Es war nun von Interesse, das Verhalten der Erythrocytenextrakte nach dieser Richtung hin zu beobachten.

Beobachtet man das Verhalten eines Erythrocytenextraktes gegenüber einem Immunserum in der Weise, daß man von dem Erythrocytenextrakt (in der oben ausgeführten Weise) eine Serie von Verdünnungen anfertigt und die ganze Serie mit dem Immunserum prüft, so können zwei Typen bezüglich der Menge des Präzipitates (Niederschlages) beobachtet werden. Bei der Type I ist die Niederschlagsmenge in der Probe 1 am größten und nimmt von da an in den weiteren Proben, parallel mit der zunehmenden Verdünnung des Extraktes, gradatim ab, bis sie endlich gleich Null wird und auch in den weiteren Verdünnungen kein Niederschlag mehr entsteht. Wir wollen diese Erscheinung graphisch mit Typus  $\nabla$  (I) bezeichnen.

Demgegenüber gelangt aber in anderen Fällen ein anderer Typus zur Beobachtung. Hierbei tritt bei der ersten Probe (oder den ersten Proben) der Verdünnungsserie kein Niederschlag ein, bei weiterer Zunahme der Verdünnung tritt in zunehmender Mächtigkeit Niederschlag auf, um nach Erreichung eines Maximums mit noch weiterer Zunahme der Verdünnung in den weiteren Proben abzunehmen und schließlich ganz zu verschwinden. Wir wollen diese Erscheinungsform mit Type  $\diamond$  (II) bezeichnen.

Versetzt man nun eine solche Serie von Verdünnungen des Erythrocytenextraktes mit unverdünntem Immunserum, die nächsten Serien mit je einer (zunehmenden) Verdünnung des Immunserums — wie es in den oben angeführten Versuchen geschah — so kommt man zu folgender Beobachtung über das Auftreten der beiden Typen:

Im Versuch I (Immunisierung mit Erythrocytenextrakt) zeigt sich von der Verwendung des unverdünnten Immunserums bis zum  $\frac{1}{100}$  verdünnten in allen Serien der Typus  $\nabla$  (I).

1) Obermayer und Pick, Ueber den Einfluß physikalischer und chemischer Zustandsänderungen präzipitogener Substanzen auf die Bildung von Immunpräzipitinen. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 22.)

Im Versuch II (Immunisierung mit Serum) zeigt sich bis zu  $\frac{1}{10}$  verdünntem Immunserum der Typus  $\nabla$  (I), bei  $\frac{1}{20}$ - und  $\frac{1}{30}$ -Verdünnung der Typus  $\diamond$  (II).

Im Versuch III (Immunisierung mit Stromata) beim unverdünnten Immunserum: Typus  $\nabla$  (I), bei Verdünnung desselben ( $\frac{1}{5}$ ,  $\frac{1}{10}$ ): der Typus  $\diamond$  (II).

Im Versuch IV (Immunisierung mit Erythrocyten) beim unverdünnten Immunserum: Typus  $\nabla$  (I), bei Verdünnung desselben ( $\frac{1}{5}$ ,  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{20}$ ,  $\frac{1}{30}$ ) Typus  $\diamond$  (II).

Es tritt dementsprechend bei der Immunisierung mit Erythrocytenextrakt der Typus  $\nabla$  (I) bis zur höchsten Verdünnung des Immunserums in Erscheinung, während bei den durch andere Bestandteile des Blutes entstehenden Erythropräzipitinen mit Immunvollserum stets Typus  $\nabla$  (I), bei höheren Verdünnungsgraden des Immunserums stets Typus  $\diamond$  (II) beobachtet wird.

Im Gegensatz zu zahlreichen früheren Beobachtungen an Normal- und Immunseris zeigte es sich in den vorangehenden Versuchen, daß nur das Immunserum III (Immunisierung mit Stromata) im stande war, Stromata der mit Aq. dest. zerstörten Erythrocyten zu agglutinieren. Die Immunsera der Versuche I, II und IV enthielten reichlich Agglutinin für Erythrocyten, vermochten aber die Stromata nicht zu agglutinieren. — Diese Erscheinung steht mit der von mir auf Grund zahlreicher Beobachtungen mitgeteilten und von Sick und Batelli seither bestätigten Tatsache in Widerspruch, daß Sera, welche eine Erythrocytenart agglutinieren, auch die aus denselben gewonnenen Stromata zu agglutinieren vermögen. — Es wäre denkbar, daß durch allzu eifriges Waschen der zur Prüfung verwendeten Stromata denselben zu viel agglutinable Substanz entzogen worden war, während bei der Immunisierung im Versuch III doch außergewöhnlich große Mengen von Stromabestandteilen eingeführt wurden und es dadurch vielleicht ganz besonders zur Bildung auf die Stromabestandteile einwirkender Agglutinine kam.

Versuche, mit Stromata einerseits und dem gelösten Inhalt der Erythrocyten andererseits zu immunisieren, liegen bereits von Nolf<sup>1)</sup> vor. Er löste Hühnerblutkörperchen mit destilliertem Wasser. Die Stromata wurden mit Kochsalzlösung gewaschen und dann Kaninchen intraperitoneal injiziert. Die hämoglobinhaltige Flüssigkeit wurde anderen Kaninchen eingespritzt. Er prüfte dann die erhaltenen Immunsera auf ihren Gehalt an Hämolysin und Agglutinin für Erythrocyten des Huhnes und kam zu dem Resultat, daß bei der Immunisierung mit Stromata Agglutinin, bei der Immunisierung mit Erythrocytenlösung Hämolysin erzeugt wird<sup>2)</sup>.

Bordet<sup>3)</sup> injizierte nach Zerstörung der roten Blutkörperchen des Kaninchens mit destilliertem Wasser die hierbei gewonnenen hämoglobinfreien Stromata Meerschweinchen intraperitoneal und erhielt ein Immun-

1) Nolf, Contribution à l'étude des sérums antihématiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIV. 1900. p. 297.)

2) L'injection des stromas globulaires produit l'apparition du pouvoir agglutinant; l'injection du contenu globulaire produit l'apparition du pouvoir globulicide.

3) Bordet, Les sérums hémolytiques, leur antitoxines et les théories des sérums cytolytiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIV. 1900. p. 257.)

serum, welches ein spezifisches Hämolysin für Kaninchenerythrocyten enthielt.

Die Injektion der das Hämoglobin enthaltenden Flüssigkeit ergab ein negatives Resultat.

v. Dungern<sup>1)</sup> war auf Grund seiner schon ein Jahr vorher erschienenen Versuchsergebnisse zu wesentlich anderen Schlüssen gelangt.

v. Dungern löste Vogelblutkörperchen mit Wasser und beschleunigte die Trennung der Schatten von der Flüssigkeit durch Zusatz von etwas Aether. Dann wusch er die Schatten auf einem Filter mit Aether enthaltendem Wasser, bis alles Hämoglobin entfernt war. Die Blutschatten (Stromata) wurden einem Meerschweinchen, die Hämoglobin enthaltende Flüssigkeit einem zweiten Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Nach 10—11 Tagen erhielt jedes der beiden Tiere eine intraperitoneale Injektion von normalen Vogelblutkörperchen. In keinem Falle kam es zur Produktion eines Hämolysins für normale Vogelblutkörperchen.

v. Dungern schloß hieraus, daß jene Substanz in den roten Blutkörperchen, welche die Entstehung von Hämolysin im Serum solcher Meerschweinchen hervorruft, welche mit Vogelblutkörperchen vorbehandelt wurden, weder in den Blutschatten enthalten sei, noch daß das Hämoglobin als diese Substanz angesehen werden könne.

G. N. Stewart<sup>2)</sup> erklärt in seiner denselben Gegenstand behandelnden Arbeit, daß mit Rücksicht auf die Verwendung von Aether, welches selbst ein Blutkörperchen lösendes Mittel sei, und geeignet, Substanzen wie Cholesterin, Lecithin etc. zu lösen, die Resultate v. Dungerns nicht geeignet seien, auf die normale Verteilung der die Hämolyse hervorruhenden Substanz (lysigenic substance) im intakten roten Blutkörperchen viel Licht zu werfen.

Stewart, welcher das destillierte Wasser für ein auf Erythrocyten sehr heftig wirkendes Mittel erklärt, machte seine Versuche zum Teil an mit Formaldehyd fixierten Erythrocyten, ferner ließ er mehrmaliges Frieren und Auftauen, Hitze oder Saponin auf dieselben einwirken.

Er sagt (in wörtlicher Uebersetzung): „Die Agglutinogene scheinen hauptsächlich fest gebunden zu sein an das Stroma und die Lysinogene hauptsächlich mehr locker gebunden oder vielleicht teilweise gelöst zu sein im Zellinhalt. Wenn die Blutkörperchen durch milder wirkende Agentien lackfarbig gemacht werden, treten Lysinogene leicht in beträchtlicher Menge aus denselben aus, Agglutinogene in verhältnismäßig geringer Menge. Wenn die Blutkörperchen durch Wasser lackfarbig gemacht werden, das tiefere Veränderungen im Stroma hervorruft, dann dürfte vermutlich mehr von den Agglutinogenen austreten“ (more of the agglutinogens may be supposed to be liberated).

Auf Grund seiner Versuche kommt er zu dem Schlusse (in wörtlicher Uebersetzung): „Die Stromata und die hämoglobinhaltige Flüssigkeit von durch verschiedene Agentien lackfarbig gemachten Blutkörperchen verursachen bei der Injektion in Tiere verschiedener Species die Produktion von spezifischen agglutinierenden und hämolytischen Substanzen. Im allgemeinen ist das agglutinierende Vermögen am meisten

1) v. Dungern, Globulizide Wirkungen des tierischen Organismus. (Münch. med. Wochenschr. 1899. No. 13 u. 14.)

2) Stewart, The influence of the stromata and liquid of laked corpuscles on the production of haemolysins and agglutinins. (Der Einfluß der Stromata und der Flüssigkeit lackfarbener Blutkörperchen auf die Produktion von Hämolysinen und Agglutininen.) (Amer. Journ. of Physiol. Vol. XI. p. 250.)

ausgesprochen nach Injektion von Stromata und das hämolytische nach der Injektion der Flüssigkeit. Doch verbürgen die Resultate nicht die Schlußfolgerung, daß im intakten Blutkörperchen das Agglutinogen (die Substanz, welche die Produktion von Agglutinin verursacht) ganz im Stroma steckt, und das Hämolsinogen (die Substanz, welche die Produktion von Hämolsin verursacht) ganz im Zellinhalt (im Sinne Nofls).“

Seit dem Erscheinen meiner kurzen Mitteilung (Wiener klin. Rundschau, Juni 1904) ist inzwischen im Septemberheft der *Folia haematologica* ein Referat über eine Arbeit von Ford und Halsey<sup>1)</sup> erschienen, deren Original mir leider nicht zugänglich war. Aus den im Referate mitgeteilten 6 Schlußsätzen seien die einschlägigen hier angeführt:

1) Die Immunisation einer Tierespecies mit den Bestandteilen der roten Blutkörperchen einer anderen Species (lackfarbiges Blut und Stroma der roten Blutkörperchen) führte zur Bildung spezifischer Lysine und Agglutinine.

4) Die Ansichten Bordets, daß das Stroma zur Bildung von Hämolsin führt, sowie die Nofls, daß das Stroma die Agglutinine erzeugt, während Injektion lackfarbigen Blutes Hämolsine produziert, finden ihre Bestätigung insoweit, als gezeigt werden konnte, daß sowohl lackfarbiges Blut als das Stroma der roten Blutkörperchen nicht nur zur Bildung von Agglutininen, sondern auch zu der von Hämolsinen führt.

5) Im Gegensatze zu v. Dungern zerstört die Lösung der roten Blutkörperchen in destilliertem Wasser die Substanzen, die Agglutinine und Lysine produzieren, nicht.

6) Die Phänomene der Agglutination und Lysis können nicht durch Injektion der Bestandteile der roten Blutkörperchen voneinander getrennt werden, sondern sie scheinen untrennbar miteinander verknüpft zu sein.“

Nagelschmidt<sup>2)</sup> erhielt bei Kaninchen, die er mit Menschenblutkörperchen immunisierte, ein Immunserum, welches ein Präzipitin für Blutlösungen enthielt. Er berichtet, daß bei solchen Immunisierungen von Kaninchen manchmal das Serum im Stiche läßt (1 Kaninchen unter 4 so behandelten).

Er beobachtete, daß ein solches nicht präzipitierendes Serum, nachdem es defibriniertes Blut hämolytisch hatte, dann doch Niederschlag mit der Blutlösung gab. Er bemerkt hierzu, „daß ein anscheinend unwirksames, frisch entnommenes Serum doch stark präzipitierende Wirkung entfalten kann, die erst durch gewisse, noch nicht näher bestimmbare Stoffe, die sich im Blute eines anderen Menschen finden, frei gemacht (resp. modifiziert) und zur Wirksamkeit gebracht werden konnte“.

Ich vermute, daß es sich bei dieser Beobachtung vielmehr um die Erscheinung handelt, über die ich vor 2 Jahren berichtete<sup>3)</sup>, daß manchmal auch 2 Erythrocytenextrakte miteinander einen Niederschlag geben können:

„Der Nachweis, daß auch Erythrocytenextrakte „präzipitierende“ Substanz enthalten, muß als erbracht erscheinen, wenn es gelingt, zu zeigen, daß in Erythrocytenextrakten Niederschläge nicht nur durch Sera erzeugt werden können, sondern auch durch Erythrocytenextrakte.

Ich habe dementsprechend verschiedene Erythrocytenextrakte

1) Ford, W. W. and Halsey, J. J., Contribution to the study of hemagglutinins and hemolysins. (Journ. of med. research. Vol. XI. 1904. p. 403. May. — Ref. *Folia haematologica*. Jahrg. I. 1904. No. 9. Ref.-No. 82.)

2) Nagelschmidt, Gibt es latente Präzipitine? (Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXV. 1904.)

3) Klein, A., l. c. 1903.

aufeinander einwirken lassen und konnte dabei in der Tat nachweisen, daß in manchen solchen Gemischen Niederschläge entstehen.“

Man könnte dementsprechend vermuten, daß es sich bei der von Nagelschmidt beobachteten interessanten Erscheinung nicht um eine Aktivierung eines latenten Präzipitins im untersuchten Serum, sondern um die Extraktion eines Erythropräzipitins aus den (durch das Serum) hämolysierten Erythrocyten gehandelt haben dürfte. Nagelschmidt hätte dann dasselbe Resultat erzielt, wenn er die angeführten Erythrocyten mit destilliertem Wasser statt mit dem hämolytischen Serum gelöst hätte. In ähnlicher Weise konnte ich wenigstens für die aus den Erythrocyten extrahierbare „präzipitabile Substanz“ in der angeführten Arbeit den Beweis erbringen, daß dieselbe auch bei Hämolysierung durch ein hämolytisches Serum oder Pankreasextrakt in Lösung geht und es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß bei Anwesenheit von Erythropräzipitinen in roten Blutkörperchen die ersteren gleichfalls auch durch hämolytische Sera in Lösung gebracht werden können.

Nagelschmidt beobachtete ferner, daß auch eine Anzahl menschlicher Sera (Lues etc.) Präzipitate in Lösungen defibrinierten Blutes und Lösungen gewaschener roter Blutkörperchen ergaben.

In einer Arbeit von Centanni<sup>1)</sup> finde ich noch folgenden Satz p. 362: „In den vorhergehenden Mitteilungen<sup>2)</sup> habe ich im Gegensatz zu Nolf (welcher keine Entstehung irgendwelcher präzipitierender Reaktion gesehen hat, wenn er die von ihrem Serum vollkommen ausgewaschenen Hühnerblutkörperchen injizierte) nachgewiesen, daß die Behandlung mit Blutkörperchenextrakt Cytopräzipitine erzeugen kann, wie dies von Klein jetzt bestätigt wird.“

Levene<sup>3)</sup> immunisierte Kaninchen mit Hundeblood. Immunisierung mit einem Natriumbikarbonatextrakt der roten Blutkörperchen führte zu einem kräftigen hämolytischen Serum, das sich jedoch von dem nach Vorbehandlung mit Blut gewonnenen dadurch unterschied, daß es nicht merklich agglutinierte.

Vorbehandlung mit roten Blutkörperchen, die der Trypsinverdauung unterworfen waren, führte zu annähernd denselben Resultaten, wie die Vorbehandlung mit dem Natriumbikarbonatextrakt, während das Serum von mit pepsinverdauten roten Blutkörperchen behandelten Tieren weniger hämolytisch war (Ref. Amberg-Baltimore). Untersuchungen auf das Vorhandensein von Erythropräzipitinen scheint Levene leider nicht gemacht zu haben.

Ueber das Entstehen von Präzipitinen, welche in „Blutlösungen“<sup>4)</sup> Niederschläge geben, nach Immunisierung mit Eidotter- resp. Eiklarlösungen berichten Uhlenhuth sowie Kluck und Inada.

Uhlenhuth<sup>5)</sup> schreibt: „Es muß freilich betont werden, daß das Hühnerdotterantiserum eine Trübung auch in einer Hühnerblutlösung hervorruft.“ „Aehnlich verhalten sich die Blutlösungen dieser Vögel (Enten, Gänse, Tauben), indem auch sie entsprechend der näheren oder entfernteren Verwandtschaft mit dem Huhne stärkere oder schwächere Reaktionen aufweisen.“

1) Centanni, Ueber die Autocytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904.)

2) Leider mangelt eine nähere Angabe.

3) Levene, J. A., On the production of hemolytic serum by injecting animals with different constituents of erythrocytes. (Journ. of med. research. 1904. Aug. Zit. nach Fol. haematol. 1905. No. 2. Ref.-No. 269.)

4) Leider finden sich in den herangezogenen Arbeiten keine näheren Angaben, in welcher Weise diese „Blutlösungen“ hergestellt wurden.

5) Uhlenhuth, Zur Lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweißarten mit Hilfe spezifischer Sera. (Festschr. f. Rob. Koch. 1903.)

Kluck und Inada<sup>1)</sup> fanden bei ihren Versuchen: „Sowohl das Eigelb wie das Eiklarimmunserum geben mit Serum- oder Blutlösung der entsprechenden Tierspecies (homologe Blutlösung) Präzipitinreaktion.“ „Auch in den übrigen untersuchten Serum- resp. Blutlösungen (heterologe Blutlösungen) von Vögeln geben sowohl Eigelb- als Eiklarimmunserum einen Niederschlag, der aber schwächer ist als im homologen Serum.“

Schließlich wäre aus der vorliegenden einschlägigen Literatur noch eine Arbeit Batellis<sup>2)</sup> anzuführen, der über die Toxizität der Erythrocytenextrakte Untersuchungen anstellte. Er fertigte die Erythrocytenextrakte in der früher bei den eigenen Versuchen angegebenen Weise an (nur löst er die Erythrocyten bloß mit dem zweifachen Volum Aq. dest. und bringt die Lösung dann auf einen Kochsalzgehalt von 9:1000) und injizierte dieselben in die Vena jugularis von Kaninchen.

Die Erythrocytenextrakte von Hund, Katze, Rind und Kaninchen erwiesen sich als nicht toxisch. Sie stammen eben von Tieren, deren Erythrocyten von Kaninchenserum nicht gelöst werden.

Im Gegensatze hierzu erwies sich der Inhalt der roten Blutkörper von Schwein, Hammel und Ratte toxisch. Es sind dies gerade Erythrocytengattungen, auf welche Kaninchenserum hämolytisch wirkt.

Bezüglich der übrigen Immunisierungsmaterialien (rote Blutkörperchen, Serum) und der dabei auftretenden Immunkörper (Hämolysine und Hämagglutinine, Serumpräzipitine) genügt es, auf die bekannte ältere Literatur hinzuweisen.

Die ersten Arbeiten über immunisatorische Erzeugung von Hämolysinen durch Injektion roter Blutkörperchen stammen [nach einer vorausgegangenen Beobachtung von Belfanti und Carbone<sup>3)</sup>], von Bordet<sup>4)</sup>, v. Dungern<sup>5)</sup>, Landsteiner<sup>6)</sup>.

Das Auftreten von Hämolysinen nach Serum-Injektionen wurde von v. Dungern, Tchistovitch<sup>7)</sup>, Morgenroth<sup>8)</sup>, P. Müller<sup>9)</sup> u. a. beobachtet.

Die immunisatorische Erzeugung von Serumpräzipitinen durch Injektionen von Blutserum wurde zuerst von Tchistovitch und Bordet (s. oben) ausgeführt.

1) Kluck u. Inada, Ein Beitrag zur Spezifität der Präzipitine. (Dtschs Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI. 1904. p. 411.)

2) Batelli, F., Toxicité des globules rouges de différents espèces animales chez le lapin. (Compt. rend. hebdomadaire des séances de la soc. de biol. 1904. No. 22. Zit. nach Fol. haematol. 1905. Heft 2. Ref.-No. 263.)

3) Belfanti u. Carbone, Produzione di sostanze tossiche nel siero di animali inoculati con sangue eterogeneo. (Giorn. della R. Accad. di med. de Turino. 1898.)

4) Bordet, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. 1899.

5) v. Dungern, Globulizide Wirkungen des tierischen Organismus. (Münch. med. Wochenschr. 1899.)

6) Landsteiner, Zur Kenntnis der spezifisch auf Blutkörperchen wirkenden Sera. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899. No. 15 u. 16.)

7) Tchistovitch, Étude sur les propriétés du sang des animaux injectés de sang ou de sérum d'une autre espèce animale, en rapport avec la théorie d'immunité d'Ehrlich. (Arch. russ. de path. T. VIII. 1899. p. 68.)

8) Morgenroth, Ueber die Erzeugung hämolytischer Ambozeptoren durch Serum-injektionen. Ein Beitrag zur Kenntnis der Rezeptoren. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 25.)

9) Müller, P., Ueber die Erzeugung hämolytischer Ambozeptoren durch Serum-injektionen. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 32.)

Als Resultat der voranstehenden Versuche ergibt sich folgendes:

A. Nach dem immunisierenden Material geordnet:

1) Nach Immunisierung mit **Erythrocytenextrakt** entsteht: Erythropräzipitin (reichlich), Hämolysin und Erythrocytenagglutinin. — Kein Serumpräzipitin, kein Stromataagglutinin.

2) Nach Immunisierung mit (zellfreiem) **Serum** entsteht: Erythropräzipitin, Serumpräzipitin, Hämolysin, Erythrocytenagglutinin. — Kein Stromataagglutinin.

3) Nach Immunisierung mit **Stromata** entsteht: Erythropräzipitin, Hämolysin, Erythrocytenagglutinin (reichlich), Stromataagglutinin. — Kein Serumpräzipitin.

4) Nach Immunisierung mit **Erythrocyten** entsteht: Erythropräzipitin, Hämolysin, Erythrocytenagglutinin. — Kein Serumpräzipitin (oder doch nur in sehr geringer Menge), kein Stromataagglutinin.

B. Nach den entstandenen Immunprodukten geordnet:

1) **Erythropräzipitin** entsteht nach Injektion aller einzelnen Bestandteile des Blutes, am reichlichsten nach Injektion mit Erythrocytenextrakt.

2) **Serumpräzipitin** entsteht nur nach Injektion mit Serum. (In sehr geringer Menge auch nach Injektion von Erythrocyten.)

3) **Hämolysin** entsteht nach Injektion aller einzelnen Bestandteile des Blutes.

4) **Erythrocytenagglutinin** entsteht nach Injektion aller einzelnen Bestandteile des Blutes, am wenigsten nach Seruminjektionen.

5) **Stromataagglutinin** entsteht nur nach Injektion mit Stromata.

In tabellarischer Uebersicht stellen sich diese Resultate folgendermaßen dar:

Nach Immunisierung mit:	Entstandene Immunsustanzen				
	Erythropräzipitin	Serumpräzipitin	Hämolysin	Erythrocytenagglutinin	Stromataagglutinin
Erythrocytenextrakt	reichlich	0	+	reichlich	0
Serum	+	+	+	+	0
Stromata	+	0	+	reichlich	+
Erythrocyten	+	nahezu 0	+	„	0

Die Resultate der obigen Versuche stehen mit denen der angeführten Literatur in ziemlicher Uebereinstimmung.

Die ursprünglich von Nolf aufgestellte Anschauung, daß die Injektion von Stromata Agglutinin, hingegen die Injektion von Blutkörperchenextrakt Hämolysin im Immunserum erzeugen, läßt sich in dieser etwas zu scharfen — übrigens bereits von Nolf selbst modifizierten — Fassung nicht aufrecht erhalten. Die Vorstellung, daß das „Agglutinogen“ ausschließlich in den Stromabestandteilen, das „Lysigen“ ausschließlich in dem löslichen Zellinhalt des roten Blutkörperchens enthalten sei, fand in den obigen Versuchen — in voller Uebereinstimmung mit Stewart sowie Ford und Halsey — keine Bestätigung. Es zeigte sich

vielmehr, daß eine Trennung der beiden Immunprodukte Agglutinin und Hämolysin — wenigstens bei der Verwendung von destilliertem Wasser als Extraktions- resp. Lösungsmittel der Erythrocyten — nicht gelingt. Immerhin scheint es, daß eine Verteilung der beiden Substanzen in dem Sinne, daß das Agglutinogen mehr an den Stromabestandteilen haftet und das Lysin mehr an dem löslichen Zellinhalt, doch nicht unwahrscheinlich ist. Stewart fand dieses Verhalten, wenn die roten Blutkörperchen durch Agentien lackfarbig gemacht werden, welche „milder“ wirken als destilliertes Wasser (s. oben). Auch die Versuche Levenes welcher zeigte, daß bei Immunisierung mit einem Natriumbikarbonat-extrakt der roten Blutkörperchen ein kräftig hämolytisches Serum entstand, das aber nicht merklich agglutinierte, und ein ähnliches Resultat mit der Trypsinverdauung unterworfenen Erythrocyten erhielt, sprechen für die erwähnte relative Verteilung der genannten Substanzen im roten Blutkörperchen.

Unter der wohl noch immer gestatteten Voraussetzung, daß die im Erythrocyten enthaltene „agglutinable Substanz“ bei Immunisierungen die Rolle des „Agglutinogens“ spielt, ließe sich auch noch die von mir, Sick und Batelli gemachte Beobachtung heranziehen, daß nach Extraktion des roten Blutkörperchens noch immer agglutinable Substanz im Stroma erhalten bleibt (Stromataagglutination durch geeignete Sera), ferner die Tatsache, daß in der obigen Versuchsreihe ein Stromata agglutiniërendes Immunserum nur nach Immunisierung mit Stromata erhalten werden konnte. -

Die negativen Resultate Bordets und v. Dungerns fanden in meinen und den Versuchen der oben angeführten Beobachter keine Bestätigung.

Beobachtungen über das Auftreten von Erythropräzipitinen fand ich nur spärlich. Nagelschmidt konnte dieselben durch Immunisierung mit Erythrocyten erzeugen, wie sie auch in meinem Versuch IV und in Versuchen einer früheren Arbeit (1903) erzielt wurden. Auch in einer Reihe menschlicher Sera (Lues etc.) konnte er dieselben nachweisen. — Ueber die Entstehung von Erythropräzipitinen nach Immunisierung mit Erythrocytenextrakt, entsprechend dem Versuch I dieser Arbeit, berichtet auch Centanni. Schließlich fanden noch Uhlenhuth sowie Kluck und Inada bei ihren Immunisierungen mit Eigelb und Eiklar, daß ihre Immunsera auch in homologen und heterologen Blutlösungen Niederschläge hervorzurufen vermochten.

Auf eine Erscheinung in der mitgeteilten Versuchsreihe möchte ich noch hinweisen, weil sie mir von besonderem Interesse zu sein scheint. Es ist das die Beobachtung, daß die mit Pferdeerythrocyten, -erythrocytenextrakt und -stromata erzeugten Immunsera mit dem zugehörigen (Pferde-)Serum keine (oder in ganz geringfügigem Grade) Niederschläge gaben.

Wir sehen nach Immunisierungen mit Blutserum, daß die gewonnenen Immunsera mit jedem Organeweiß (Serum, eiweißhaltigem Harn, Organextrakten, Sperma, Thränenflüssigkeit etc.) derselben Tierart in spezifischer Weise reagieren und betrachten diese Erscheinung als die „biologische Reaktion des Arteiweißes“. Auch im Versuch II zeigt das durch Immunisierung mit Pferdeserum gewonnene Immunserum Präzipitinreaktion mit dem Extrakt aus Pferdeerythrocyten.

Es erscheint daher gewiß von Interesse, zu beobachten, daß bei den Immunisierungen mit Erythrocyten, Erythrocytenextrakt, Stromata, die



ja natürlich auch als Immunisierungen mit Arteriweiß angesehen werden müssen, die biologische Reaktion des Arteriweißes gegenüber dem homologen Serum ausbleibt oder doch unverhältnismäßig gering ist.

Ich verfüge noch über eine Reihe gleichsinniger Beobachtungen bei Immunisierungen mit Erythrocytenextrakten vom Pferd, Rind, Menschen etc., über welche a. a. O. berichtet wird.

Eine Reihe von Untersuchungen, welche diese Erscheinung auch für den forensischen Blutnachweis zu verwerten bestimmt sind, gelangt demnächst zum Abschluß.

Aus den gewonnenen Versuchsergebnissen lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1) Erythropräzipitin und Serumpräzipitin sind nicht identisch.

2) Beim Extrahieren der Erythrocyten mit destilliertem Wasser geht sowohl präzipitinogene als auch agglutinogene Substanz in die Lösung über. (Entstehen von reichlich Erythropräzipitin und reichlich Agglutinin als Immunprodukte.)

3) In den nach Extraktion mit destilliertem Wasser zurückbleibenden Stromata ist noch immer agglutinogene Substanz vorhanden, aber nur wenig Präzipitogen. (Entstehen von reichlich Agglutinin, aber nur wenig Erythropräzipitin als Immunprodukte.)

4) Auch bei getrennter Immunisierung mit Erythrocytenextrakt einerseits und Stromata andererseits treten Agglutinin und Hämolyse gemeinschaftlich als Immunprodukte auf.

Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn k. k. Vorstand Dr. E. Freund für die mir so reichlich zur Verfügung gestellten Hilfsquellen seines Institutes und Herrn Prof. Paltauf für sein meinen Arbeiten zugewendetes freundliches Interesse meinen wärmsten Dank auszusprechen.

*Nachdruck verboten.*

## Vergleichende Untersuchungen über die aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Cholera und Typhus.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Prof. R. Pfeiffer).]

Von

Privatdoz. Dr. E. Friedberger  
1. Assistenten am kgl. hygienischen  
Institute der Universität Königsberg.

Dr. Carlo Moreschi,  
Assistenten am Institute für spezielle  
Pathologie der kgl. Universität Pavia.

Tausendfältige praktische Erfahrungen haben im Verein mit den Ergebnissen des Tierversuches ebenso wie theoretische Erwägungen zu dem unzweideutigen Schlusse geführt, daß die bei der aktiven Immunisierung mit Bakterien auftretenden von R. Pfeiffer<sup>1)</sup> entdeckten und von ihm

1) Pfeiffer, R., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. 1894. p. 1.

zuerst näher studierten spezifischen bakteriolytischen Antikörper tatsächlich die vornehmste Ursache der erzielten Immunität darstellen.

Diese Lehre hat Bail<sup>1)</sup> in jüngster Zeit — nach unserer Meinung ohne genügende Begründung — anzugreifen versucht und den bakteriziden Kräften eine untergeordnetere Bedeutung vindiziert.

Wenn wir aber an der ursprünglichen in jeder Hinsicht wohl fundierten Anschauung festhalten, so müssen wir logischerweise die Menge der durch den bakteriziden Versuch nachweisbaren Immunkörper als einen direkten Maßstab für die erreichte Immunität ansehen.

Und wenn alsdann bei der aktiven Immunisierung „das Hauptgewicht auf das Hervorrufen spezifisch bakterizider Kräfte im Blutserum des geimpften gelegt werden muß“ (Gaffky, Ueber Typhusschutzimpfungen. Bericht des kgl. Institutes für Infektionskrankh., Berlin, Klin. Jahrb. 1905 Heft 2), so wird zweifellos von anderen Momenten zunächst abgesehen dasjenige Verfahren der aktiven Immunisierung den Vorzug verdienen, welches die intensivste Antikörperproduktion im Organismus auslöst. Diejenige Methode, welche seither im Laboratoriumsversuch ebenso wie in der Praxis der Human- und Tiermedizin am häufigsten in Anwendung kam, ist die von Pfeiffer für Cholera, sodann von Pfeiffer und Kolle<sup>2)</sup> für Typhus eingeführte, bei der bekanntlich bei 60° 2 Stunden lang abgetötete Emulsionen von Agarkulturen der Bakterien subkutan oder intravenös injiziert werden.

Durch die Untersuchungen von Mertens<sup>3)</sup> wissen wir, daß, von allem übrigen abgesehen, die Applikationsweise des Impfstoffes keineswegs irrelevant ist, derart, daß bei intravenöser Injektion ein bis zu 20mal höherer Titre erzielt wird als bei subkutaner.

Die Methode von Pfeiffer und Kolle ist erst jüngst wieder von Kolle<sup>4)</sup> und seinen Mitarbeitern<sup>5)</sup> praktisch in größerem Umfang bei den nach Südafrika gesandten Truppen angewandt worden und hat bei der eingehenden Prüfung, die auch mit anderen und auf anderem Prinzip beruhenden Methoden von den genannten Autoren angestellt wurde, sich in jeder Beziehung, vor allem aber, was die Höhe des erzielten bakteriziden Schutzwertes anlangt, als überlegen erwiesen.

Es schien uns nun von Bedeutung festzustellen, wie sich die Bakterien bei einer anderen Form der Abtötung bzw. bei gewisser Nachbehandlung nach erfolgter Abtötung in Bezug auf die Intensität ihrer antigenen Wirkung verhalten würden. War durch entsprechende Modifikationen des ursprünglichen Verfahrens in dieser Richtung eine Steigerung der Antikörperbildung zu erzielen, so wäre das von praktischen Gesichtspunkten aus mit Freuden zu begrüßen gewesen; aber auch theoretisch dürften derartige Versuche, selbst wenn das Resultat ein entgegengesetztes war, nicht ohne Interesse sein, sofern sie geeignet waren, uns über die Natur der Antigene und den Prozeß der Antikörperbildung gewisse Aufschlüsse zu geben.

Die Immunisierungen wurden an Kaninchen angestellt, die alle von gleicher Rasse und in den einzelnen Versuchsreihen auch möglichst von gleichem Gewicht waren.

Zur Bereitung der Impfstoffe diente in allen Fällen ein und der-

1) Bail, O., Arch. f. Hyg. Bd. LII. p. 272.

2) Pfeiffer und Kolle, Deutsche med. Wochenschr. 1896. No. 46.

3) Mertens, Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 24.

4) Kolle, Klin. Jahrbuch. Bd. XIV. Heft 2.

5) Hetsch und Kutscher, Klin. Jahrbuch. Bd. XIV. Heft 2.

selbe Cholera- resp. Typhusstamm von  $\frac{1}{10}$  Oese Virulenz, der auch zur Titration der Sera benutzt wurde. Der Impfstoff, der stets auf Sterilität durch Aussaat mehrerer Oesen auf Agar geprüft war, wurde in allen Versuchsreihen intravenös eingespritzt.

Die Blutentnahme zur Bestimmung des Titres geschah in sämtlichen Versuchen am 8. Tage nach der Injektion.

Die Bestimmung des bakteriziden Titres der Sera erfolgte an Meerschweinchen nach der R. Pfeifferschen Methode. Die angegebenen Zahlen bezeichnen einerseits die kleinste geprüfte Serummenge, die gerade ausreichte, um das Versuchstier vor der Infektion mit dem 10fachen Multiplum der Dosis letalis minima zu schützen, andererseits die kleinste zur Prüfung verwendete Serummenge, die nicht mehr genügte, um diesen Effekt zu erzielen. Die zur Prüfung der Sera benutzten Meerschweinchen hatten für Cholera durchgehend ein Gewicht von 200 g, für Typhus von 280—320 g. Es wurde ferner auch die Höhe der agglutinierenden Fähigkeit der Sera sowohl vor der Behandlung wie am 8. Tage nach der Injektion ermittelt.

Die Bestimmung des Agglutinationstitres geschah in der bekannten, meist angewandten Weise, daß abfallende Serumengen mit physiologischer Kochsalzlösung auf das gleiche Volumen von 1 ccm aufgefüllt mit je 1 Oese einer Agarkultur der betreffenden Bakterienart emulsioniert wurden. Die Wertung wurde nach zweistündigem Aufenthalt der Röhrchen bei 37° ausschließlich makroskopisch vorgenommen, und nur diejenigen Proben noch als positiv bezeichnet, in denen deutliche Klümpchenbildung eingetreten war.

Wir sehen uns veranlaßt, diese Angaben über die von uns benutzte Methode und die Art der Ablesung ausdrücklich hier zu machen, mit Rücksicht auf die außergewöhnlich hohen Werte, die wir als Ausschlag auch auf die kleinsten Bakterien Dosen sowohl bezüglich der Agglutination wie bezüglich der Bakteriolyse erhalten haben.

Um nun verschiedene Methoden vergleichend auf ihren Wert bezüglich der Antikörperproduktion zu prüfen, war es natürlich notwendig, in den einzelnen Reihen immer die gleiche Vaccinmenge und zwar mit Rücksicht auf das nicht absolut gleiche Körpergewicht der Tiere auf 1 g Körpergewicht berechnet zu geben.

Hier brauchbare Vergleichsresultate zu erhalten, wurde uns durch die Methode der Vaccinierung mit kleinsten Dosen ermöglicht, die der eine von uns<sup>1)</sup> (Friedberger) bereits vor längerer Zeit veröffentlicht hatte.

Diese Methode ist zuerst von Friedberger<sup>2)</sup>, dann von P. Th. Müller<sup>3)</sup> sowie C. Fraenkel<sup>4)</sup> benutzt worden, um den Einfluß gewisser Alterationen beim Versuchstier auf die Antikörperproduktion zu prüfen, und Friedberger und Dorner<sup>5)</sup> haben sie dann auch für analoge Versuche über die Intensität der Bildung hämolytischer Antikörper mit Erfolg benutzt.

Es müssen bei dieser Methode der Verwendung von Vaccindosen,

1) Friedberger, Internat. Beiträge z. inn. Med. Festschr. z. 70. Geburtstage E. v. Leydens.

2) Friedberger, Compt. rend. du IX. Congr. internat. d'Hyg. à Bruxelles 1903. T. II und Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 10.

3) Müller, Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 11; Arch. f. Hyg. Bd. LI.

4) Fränkel, Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 3.

5) Friedberger und Dorner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVIII. Heft 5.

die nahe an der Grenze der überhaupt noch wirksamen liegen, Differenzen im Verhalten der Versuchstiere im Vergleich zu dem der Kontrolltiere scharf hervortreten, während sie sich bei Verwendung großer Dosen leicht verwischen können.

War also diese Methode, wie sich aus den voraufgehenden Arbeiten ergibt, wohl geeignet, derartige Differenzen in Bezug auf die Tiere erkennen zu lassen, so mußte sie auch den Einfluß der Behandlung der als Vaccin dienenden Bakterien auf die Intensität der Antikörperbildung wohl am ehesten offenbaren.

Wir gaben deshalb unseren Versuchstieren zunächst stets nur solche Dosen von  $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{500}$  Oese der auf die verschiedenste Weise abgetöteten Kultur pro Kilogramm Körpergewicht, die gerade noch ausreichten, um eine beträchtliche Antikörperproduktion auszulösen. Selten, und zwar in der Regel nur bei Verimpfung von Bakterien, die durch eine relativ eingreifendere Methode abgetötet waren, und dadurch in ihrer Fähigkeit, Antikörper zu bilden, geschwächt erschienen, wurden größere Dosen des Impfstoffes injiziert.

Wir bezeichnen im folgenden die zur Auslösung der Immunstoffe geeigneten Bakteriengruppen mit Deutsch und Feistmantel<sup>1)</sup> als Antigene und zwar die Gruppen, die als Erzeuger der Bakteriolyse zu betrachten sind, als „Lysinogene“ die Gruppen, die die Agglutinine hervorrufen, als „Agglutinogene“.

#### I. Immunisierung mit bei 60° abgetöteten Bakterien nach Pfeiffer-Kolle.

Wir benutzten als Standard- resp. Vergleichungsmethode die Methode der Abtötung des Vaccins bei 60°; die Titrewerte, die wir nach dieser Methode mit kleinen Dosen erhielten, seien hier zunächst in einer Tabelle wiedergegeben.

Tabelle I.

Immunisierung der Kaninchen mit bei 60° 2 Stunden lang abgetöteten Bakterien (nach Pfeiffer-Kolle).

Kaninchen No.	Gewicht in g	Dosis des Bakterien-vaccins intravenös pro Kilogramm Tier	Bakterizider Titre des Serums am 8. Tage nach der Impfung	Agglutinationstitre	
				vor der Impfung	am 8. Tage nach der Impfung
1	1800	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera	0,001 — 0,005	1:10 —	1:10 +
4	1500	$\frac{1}{100}$ „ „	0,0001—0,0005	1:10 —	1:40 +
10	2300	$\frac{1}{100}$ „ „	0,0001—0,00015	1:10 —	1:320 +
40	2200	$\frac{1}{100}$ „ „	0,0001—0,0005	1:10 —	1:320 +
132	2500	$\frac{1}{100}$ „ „	0,0001—0,0005	1:10 —	1:640 +
168	2050	$\frac{1}{100}$ „ „	0,0001—0,0002	1:10 —	1:640 +
140	2800	$\frac{1}{100}$ Oese Typhus	—	1:20 +	1:320 +
143	1600	$\frac{1}{100}$ „ „	0,0001—0,0005	1:20 +	1:640 +

Es ergibt sich also, was übrigens schon aus den Untersuchungen des einen von uns bekannt war, daß  $\frac{1}{100}$  Oese Cholera bei einmaliger intravenöser Injektion beim Kaninchen einen sehr hohen bakteriziden Titre hervorruft, speziell bei diesen Versuchen, bei denen anscheinend ein für die Antikörperbildung außerordentlich geeigneter Stamm zur Verwendung kam. Die bakteriolytischen Titrewerte sind auffallend konstant, nur beim ersten Tier der Tabelle erreichte aus unbekanntem Gründen (Mischinfek-

1) Deutsch und Feistmantel, Die Impfstoffe und Sera. Leipzig 1903.

tion?) der Titre nicht die gewöhnliche Höhe. Die Agglutinationswerte der Immunsera zeigten im Gegensatz dazu nicht unbeträchtliche Schwankungen, und es ergibt sich, was schon zahlreiche Autoren auch mit anderen Immunisierungsmethoden konstatiert hatten, daß die Werte für die Agglutination in keiner quantitativen Beziehung zu den bakteriziden Werten stehen.

In gleicher Weise, wie die verwendete Cholerakultur, zeigte auch die von uns benutzte Typhuskultur eine ganz überraschende Intensität ihrer Antikörper-bildenden Fähigkeit. Es sei jedoch hier bemerkt, daß, während wir bisher bei der Prüfung verschiedener virulenter Cholerastämme stets eine hohe Antikörperproduktion auslösen konnten, die virulenten Typhuskulturen verschiedener Provenienz ein recht differentes Verhalten zeigen, derart, daß einzelne Stämme trotz großer Dosen nur einen sehr schlechten Titre bei der Injektion an Kaninchen liefern.

Es sind das Differenzen im Verhalten der einzelnen Typhusstämmen, auf die Wassermann<sup>1)</sup> zuerst aufmerksam gemacht hat; und auch Pettersson<sup>2)</sup> hat noch jüngst mit einem Stamm unserer Sammlung von hoher Virulenz selbst mit großen Dosen nur schwache Titrewerte erzielt, was auch wir bezüglich dieser Kultur bestätigen können.

## II. Immunisierung mit 60° Bakterien, die nach der Abtötung durch mehrmaliges Gefrierenlassen und Wiederauftauen maceriert waren.

Wir glaubten durch künstliche und dabei doch möglichst schonende, die chemische Struktur der Bakterien nicht verändernde Maceration Impfstoffe zu erhalten, die vielleicht eine höhere Wirksamkeit ihrer antigenen Gruppen besaßen. Zu dem Zwecke wurde eine Emulsion von bei 60° abgetöteten Cholerabakterien an 2 aufeinanderfolgenden Tagen 6mal hintereinander in einer Kältemischung zum Gefrieren gebracht und dann bei Zimmertemperatur wieder aufgetaut.

Kaninchen No. 48, 1650 g schwer, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{100}$  Oese des vorerwähnten Impfstoffes.

Kaninchen No. 59, 1560 g, erhält, auf sein Körpergewicht berechnet, dieselbe Dosis derselben Bakterienemulsion. Am 8. Tage nach der Injektion beträgt der bakteriolytische Titre bei Kaninchen No. 48 0,5 bis 0,1 mg, ein Wert, der genau dem beim Kontrolltiere (60° Bakterien) entspricht; bei dem zweiten Tier war der Titre nur um weniges geringer, er betrug  $1\frac{1}{2}$  mg. Der Agglutinationswert war bei diesem Tier außerordentlich nieder, er betrug (1:10) bei dem anderen Tier dagegen in gleicher Weise wie beim Kontrolltier No. 40 1:320.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß durch die Kältemaceration die Wirksamkeit der Antigene nicht zunimmt.

## III. Immunisierung mittels durch Chloroformdämpfe abgetöteter Bakterien.

Eine weniger eingreifende Art der Abtötung als die durch das zwei-stündige Einwirken einer relativ hohen Temperatur von 60° schien uns die gleichfalls zur Herstellung von Impfstoffen in der Immunisierungstechnik

1) Wassermann, Compt. rend. du IX Congr. internat. d'Hyg. à Bruxelles. 1903. T. II.

2) Pettersson, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVIII. p. 73.

vielfach verwendete Methode der schnellen Abtötung durch Chloroformdämpfe zu sein.

Die Abtötung der Bakterien wurde dabei in der Weise vorgenommen, daß die Bakterienkochsalzemulsion für ca. 20 Minuten in Petri-Schalen gebracht wurde, in deren Deckel sich auf der Innenseite ein mit reinem Chloralchloroform getränktes Stück Filtrierpapier befand, das allseitig den Boden der Schale so weit überragte, daß nach dem Aufstülpen des Deckels ein hermetischer Verschuß erzielt war. Nach 20 Minuten erwiesen sich derartig behandelte Bakterienemulsionen als steril.

Wir hofften a priori mit dieser, wie es uns schien, wenig eingreifenden und kurz dauernden Methode einen wirksameren Impfstoff als nach Pfeiffer und Kollé zu erzielen, eine Erwartung, die jedoch das Experiment in keiner Weise bestätigte.

Zweimal je 1 Oese Cholera auf 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung werden 2 Stunden im Wasserbade von 60° resp. 30 Minuten in der oben beschriebenen Weise in einer Petri-Schale unter Chloroformdämpfen gehalten; beide Emulsionen sind nach der angegebenen Zeit steril.

Kaninchen No. 40, 2200 g, erhält pro kg seines Körpergewichtes  $\frac{1}{100}$  Oese der bei 60° abgetöteten Kultur.

Kaninchen No. 46 (1600 g) und 47 (1700 g) erhalten die gleiche Menge der mit Chloroformdämpfen behandelten Bakterienemulsion.

Am 8. Tage nach der Impfung liegt der Titre bei dem mit 60°-Bakterien geimpften Tier zwischen 0,5—0,1 mg bei beiden mit Chloroformbakterien behandelten Tieren dagegen nur zwischen 1—5 mg, d. h. durch den Abtötungsmodus mit Chloroform sind die Cholera-bakterien ca. um das etwa 10fache in ihrer lysinogenen Qualität geschwächt.

Noch deutlicher ist der Effekt bezüglich der Agglutination; diese war für das Serum aller 3 Tiere vor der Behandlung bei 1:10 negativ.

Am 8. Tage nach der Impfung betrug der Agglutinationswert des Serums des mit 60°-Bakterien geimpften Tieres 1:320. Das Serum der mit Chloroformbakterien behandelten Tiere agglutinierte auch nach der Vorbehandlung nicht in der Verdünnung 1:10.

Ein ganz gleiches Resultat ergab eine weitere Versuchsreihe:

Kaninchen No. 132, 2500 g, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{100}$  Oese 60°-Bakterien, und No. 138, 1800 g und No. 139, 1900 g, erhalten von einer anderen Quote der gleichen Emulsion, die mit Chloroform abgetötet war, dieselbe Dosis. Am 8. Tage beträgt der bakterizide Titre des Serums beim Kontrolltier 0,5—0,1 mg, bei beiden mit Chloroformvaccins behandelten Tieren 4—5 mg. Wiederum also eine Abnahme um das ca. 10fache des Wertes beim Kontrolltier. Die Agglutination beim Kontrolltier erfolgte noch in Verdünnung von 1:640, bei den Versuchstieren ist das Serum in der Verdünnung von 1:10 bereits wirkungslos. Durch die Chloroformbehandlung sind also die agglutinogenen Eigenschaften der Bakterien um das ca. 64fache geschädigt worden, ja, wir können sagen, daß überhaupt so gut wie keine nachweisbaren Mengen von Agglutinin gebildet worden sind. Mit diesem Modus der Abtötung der Bakterien durch Chloroform haben wir zum erstenmal eine Methode gefunden, bei der es innerhalb der von uns gewählten Versuchsbedingungen gelingt, eine Trennung der Agglutinogene von den Lysinogenen der Cholera-

vibrionen herbeizuführen, bei der die Lysinogene erhalten bleiben<sup>1)</sup>.

Bei den seither zum Zweck einer Trennung dieser beiden Arten von Bakterienantigenen angewandten Methoden (Methode einer Trennung auf chemischem Wege nach Brieger und Schütze<sup>2)</sup> und Trennung mittels der Erhitzung der Bakterien unter hohem Druck im Autoklaven nach Defalle<sup>3)</sup> erwiesen sich stets die Agglutinantigene resistenter, so daß die mit derartigen Vaccins geimpften Tiere wohl noch ein agglutinierendes, aber kein bakteriolytisches Serum mehr lieferten.

Die Resultate der Versuche mit den Chloroformbakterien sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle II.  
Immunisierung der Kaninchen mit durch Chloroformdämpfe abgetöteten Bakterien.

Kanin- chen No.	Ge- wicht	Dosis des Bak- terienvaccins intravenös pro Kilogramm Tier	Bakterizider Titre des Serums am 8. Tage nach der Impfung	Agglutinationstitre		Bemerkungen
				vor der Impfung	am 8. Tag nach der Impfung	
46	1600	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera	0,001—0,005	1:10 —	1:10 —	Kontrollen siehe Tabelle I No. 40, 132
47	1700	$\frac{1}{100}$ " "	0,001—0,005	1:10 —	1:10 —	
138	1800	$\frac{1}{100}$ " "	0,001—0,005	1:10 —	1:10 —	
139	1700	$\frac{1}{100}$ " "	0,005	1:10 —	1:10 —	

Wir werden weiter unten noch in anderem Zusammenhang Versuche über mit Chloroform behandelte Bakterien mitteilen, die geeignet sein dürften, bis zu einem gewissen Grad die Ursache dieser Herabsetzung der Antikörperbildung durch derartige Bakterien zu erklären.

Immerhin kann nach den ungünstigen Resultaten der vorausgehenden Versuche die Chloroformmethode nicht für die Praxis ernstlich in Betracht gezogen werden.

#### IV. Immunisierung mit getrockneten, bei hoher Temperatur abgetöteten Bakterien (nach Loeffler).

Eine auf einem ganz anderen neuen Prinzip beruhende Methode der Impfstoffbereitung ist in letzter Zeit von Loeffler<sup>4)</sup> nicht nur für Bakterien, sondern überhaupt für Antigene jeder Art empfohlen worden.

Loeffler ging von der seit lange bekannten Tatsache aus, daß echte Fermente, die in wässriger Lösung gegenüber höheren Temperaturen relativ labil sind, in absolut trockenem Zustand diese Temperaturen unbeschadet ihrer Wirksamkeit vertragen. Da die Bakterien und andere Antigene in vielen Punkten ein mit den Fermenten analoges Verhalten zeigen, so versuchte er, ob auch die Fähigkeit der Antikörperbildung bei Erhitzung in trockenem Zustand erhalten bleibt.

Er trocknete das zur Erzeugung von Antikörpern bestimmte Material bei niederen Temperaturen im Exsiccator bis zur Gewichtskonstanz und erhitzte dann im Trockenschrank  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 150 resp. 2—3 Stunden

1) Bei Typhusbakterien ist es uns bis jetzt noch nicht gelungen, die agglutinogenen Gruppen durch die Behandlung der Keime mit Chloroform in gleicher Weise unwirksam zu machen; es scheint, daß hier die in Frage kommenden Gruppen resistenter sind. Wir behalten uns weitere Versuche in dieser Richtung vor.

2) Brieger und Schütze, Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 27.

3) Defalle, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1902.

4) Loeffler, Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 52.

bei 120°, eine Einwirkung, die ausreichte, um bei Verwendung von Mikroorganismen diese mit Sicherheit abzutöten.

Das derartig behandelte Material wurde zu einem feinen Pulver verrieben. Abgewogene Mengen davon in physiologischer Kochsalzlösung gleichmäßig verteilt, dienten als Impfstoff und wurden an Versuchstieren bezüglich ihrer Fähigkeit eine künstliche aktive Immunität auszulösen geprüft.

Was speziell die auf diese Weise gewonnenen Bakterienimpfstoffe anlangt, so erwiesen sie sich bei allen daraufhin geprüften Mikroorganismenarten (Schweinepest, Typhus, Cholera, Coli, Tuberkulose) zur Erzeugung von Agglutininen im Körper des Versuchstieres geeignet.

Auch die Fähigkeit, bakterizide Substanzen zu erzeugen, blieb bei dem trockenen Erhitzen der Bakterien erhalten.

„Die trockenen erhitzten Cholera-Bakterien lieferten ein sehr gutes bakterizides und bakteriolytisches Serum.“

Diese von Loeffler gefundenen Tatsachen sind theoretisch von hohem Interesse.

Für ihre praktische Verwertbarkeit als Grundlage einer Immunisierungsmethode schien es erforderlich, sie zunächst im Vergleich mit den seither üblichen Verfahren bezüglich der quantitativen Ausbeute an Antikörpern bei der künstlichen aktiven Immunisierung des Versuchstieres zu prüfen.

Diese Versuche haben wir im Anschluß an die voraufbesprochenen Experimente gleichfalls mit der Methode der Verimpfung von Minimaldosen vorgenommen.

Zur Gewinnung des Impfstoffes verfahren wir im Anschluß an die Methode von Loeffler, wie folgt:

Mehrere Oesen Cholera-Vibrionen von 18 Stunden alten Schrägagarkulturen wurden in sterilen Uhrschildchen gleichmäßig ausgebreitet und in einem Exsiccator über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur im Dunkeln bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Das Material kam alsdann in einen Trockenschrank, dessen Temperatur auf 150 resp. in anderen Versuchen auf 110—120° eingestellt war. Während es bei 150° leicht gelang, für die ganze Zeit der Abtötung die Temperatur konstant zu erhalten, zeigte bei dem Versuch einer Einstellung auf niederere Temperaturgrade unser Trockenschrank geringe Schwankungen; doch war dafür Sorge getragen, daß für die in Betracht kommende Zeit die Temperatur nicht über 120° stieg und nie unter 110° fiel, meist ca. 118—120° betrug. — Natürlich befand sich die Quecksilberkugel des Thermometers im Schrank in gleicher Höhe mit den abzutötenden Bakterien.

Der Temperatur von 150° blieben die getrockneten Bakterien 1/2—1 Stunde, der von 120° 2 Stunden ausgesetzt.

Das Material wurde alsdann nach dem Erkalten quantitativ in eine möglichst geringe Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und im Achatmörser zu einer völlig homogenen Masse verrieben.

Von derartigen Emulsionen wurden Kaninchen verschiedene Mengen die in den einzelnen Versuchsreihen zwischen 2 Agarkulturen und 1/500 Oese pro kg Tier schwankten, intravenös injiziert und am 8. Tage der Titre des Serums dieser Tiere ermittelt. Natürlich war durch reichliche Aussaat stets die Abtötung der Cholera- resp. Typhuskeime in den Emulsionen festgestellt. In jeder Versuchsreihe wurde ein oder mehrere Kontrollkaninchen mit gleichen Dosen derselben Kultur, die nach Pfeiffer-



Kolle abgetötet waren, intravenös behandelt, und das Serum dieser Tiere ebenfalls am 8. Tage nach der Injektion zur Gewinnung von Vergleichswerten austitriert.

Wir begannen zunächst die Versuche mit kleinen Dosen trockener Choleravibrionen, die  $\frac{1}{2}$  resp. 1 Stunde im Trockenschrank bei  $150^{\circ}$  abgetötet waren.

Kaninchen No. 3, 1700 g, und No. 12, 2350 g, erhielten je pro kg Körpergewicht intravenös  $\frac{1}{100}$  Oese einer bei  $150^{\circ}$  1 Stunde lang im Trockenschrank abgetöteten Cholerakultur.

Kaninchen No. 11, 2290 g, erhält die gleiche Menge einer in derselben Weise, jedoch nur  $\frac{1}{2}$  Stunde lang abgetöteten Cholerakultur.

Die am 8. Tage nach der Injektion vorgenommene Bestimmung des bakteriziden Titres ergab, daß die einstündige Einwirkung einer Temperatur von  $150^{\circ}$  auf getrocknete Choleravibrionen diese so gut wie vollständig ihrer antigenen Wirkung wenigstens in den zur Verimpfung gelangten Dosen zu berauben geeignet ist.

Bei den Tieren No. 3 und 12 vermochte selbst 0,1 des Immunserums ein Meerschweinchen nicht vor der Infektion mit 1 Oese Cholera zu schützen.

Auch das Auftreten einer spezifischen Agglutinationsfähigkeit der Sera war nicht nachweisbar. Choleravibrionen wurden vor und nach erfolgter Impfung selbst in einer Verdünnung 1:10 nicht agglutiniert. Etwas günstiger sind die Resultate, wenn man die Temperatur von  $150^{\circ}$  nur  $\frac{1}{2}$  Stunde auf die getrockneten Bakterien einwirken läßt. Auf diese Weise wurde bei Kaninchen No. 11 immerhin ein geringer bakterizider Wert der zwischen 0,01 und 0,03 ccm lag, erzielt; das Auftreten nachweisbarer Mengen von Agglutininen blieb aber auch hier aus.

Die Werte sind um so minimaler, wenn man in Betracht zieht, daß bei den hierher gehörigen Kontrollkaninchen (No. 1, 4, 10 der Tabelle I) bakteriolytische Titrewerte bis unter  $\frac{1}{10}$  mg und Agglutination bis zur Verdünnung 1:320 erzielt wurde.

Wir versuchten nun, ob bei Verwendung größerer Kulturmengen die Methode der Abtötung der trockenen Bakterien bei  $150^{\circ}$  bessere Resultate liefere.

Kaninchen No. 2, 1750 g, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{10}$  Oese Cholera 1 Stunde nach Loeffler bei  $150^{\circ}$  abgetötet.

Kaninchen No. 14, 2100 g, erhält 4 Oesen, die 1 Stunde lang der Temperatur von  $150^{\circ}$  ausgesetzt waren, und No. 56, 1580 g, gar 2 Agarkulturen des in gleicher Weise nur  $\frac{1}{2}$  Stunde lang behandelten Impfstoffes.

Diese Versuche ergaben in der Tat, daß mit zunehmender Vaccinmenge ein höherer bakterizider Titre innerhalb gewisser Grenzen erzielt wird. Während  $\frac{1}{100}$  Oese trockener Kulturmasse einer 1 Stunde lang bei  $150^{\circ}$  erhitzten Cholera überhaupt keinen nachweisbaren bakteriziden Titre liefert, ist die 10fache Menge Vaccins schon geeignet, beim Kaninchen No. 2 einen Schutzwert des Serums zu erzeugen, der zwischen 0,05 und 0,1 liegt und bei Verimpfung von 4 Oesen (Kaninchen No. 14) steigt der Titre auf 0,01—0,006. — Bei einem gleichzeitig mit 4 Oesen  $60^{\circ}$ -Bakterien geimpften Kontrolltier betrug der bakterizide Titre 0,1—0,15 mg.

Auffallend ist zunächst, daß aber selbst die kolossale Bakterienmenge von 2 Agarkulturen dem Serum keine entsprechend höhere Wirksamkeit verleiht, ja, daß der Titre geringer ist als selbst bei Verimpfung von

nur 4 Oesen Kultur, trotzdem die Abtötung bei 150° im ersteren Fall  $\frac{1}{2}$  Stunde, im letzteren doppelt so lange vorgenommen wurde. Wir kommen weiter unten noch ausführlich auf dieses paradoxe Verhalten zurück, für das, wie wir hier gleich vorweg vermerken wollen, nicht individuelle Differenzen im Verhalten der Versuchstiere verantwortlich zu machen sind. Bemerkenswert ist, daß auch durch die vorerwähnte Behandlung die Antigruppen, welchen die Bildung der Agglutinine im Tierkörper obliegt, in ganz erheblich höherem Grade geschädigt zu sein scheinen als die Lysinogene.

Wenn wir den normalen bakteriziden Titre des Kaninchenserums mit 0,3 annehmen — eine Zahl, die sicher nicht zu niedrig gegriffen ist — so haben wir bei einem Tier, Kaninchen No. 14, immerhin eine Steigerung um das mindestens 100fache des Normalwertes, während das Serum in einer 10mal stärkeren Konzentration keine Agglutinine besitzt. Dieses Resultat ist um so auffallender, als 4 Oesen 60°-Bakterien beim Kontrollkaninchen einen Agglutinationswert von 1 : 640 hervorriefen.

Bei den minimalen Titrewerten, die die Methode von Loeffler bei auf 150° erhitzten Cholera-vibrionen geliefert hatte, erwarteten wir zunächst auch mit den getrockneten und bei 120° abgetöteten Bakterien keine wesentlich stärkeren Ausschläge, zumal hier, um eine sichere Abtötung zu erzielen, bedeutend längere Einwirkung der immerhin noch recht hohen Temperatur erforderlich war (2 Stunden). Diese Erwartung traf jedoch in keiner Weise zu, vielmehr erwies sich die von Loeffler empfohlene Methode, sofern die Erhitzung der Bakterien bei 120° vorgenommen wurde, was die Intensität der Antikörperbildung anlangt, der Methode von Pfeiffer-Kolle völlig gleichwertig. Unsere Versuche wurden in dieser Richtung mit Cholera- und mit Typhusbakterien vorgenommen.

Kaninchen 131, 2600 g, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{100}$  Oese trockener und 2 Stunden nach Loeffler bei 120° abgetöteter Cholera-vibrionen intravenös.

Kaninchen 132, 2800 g, erhält 4 Oesen gleich behandelter Cholera intravenös. Bei beiden Tieren besteht am 8. Tage nach der Impfung ein bakteriolytischer Titre von 0,1—0,05 mg, ein Agglutinationswert des Serums von 1 : 640; Werte, wie sie den Befunden bei mit 60°-Bakterien geimpften Kontrolltieren entsprechen. Diese Resultate zeigen, daß für die Cholera die nach der Methode von Loeffler bei Einhaltung nicht zu hoher Temperatur gewonnenen Impfstoffe quantitativ den nach der Methode von Pfeiffer-Kolle hergestellten gleichwertig sind.

In Anbetracht der praktischen Wichtigkeit, die für uns derzeit die aktive Typhusschutzimpfung besitzt, haben wir auch mit nach Loefflers Methode bereiteten Typhusimpfstoffen am Kaninchen Versuche angestellt.

Kaninchen 135, 1450 g, erhält 1 Oese getrockneter, bei 120° abgetöteter Typhusbakterien. Kaninchen 136, 1200 g, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{100}$  Oese des gleichen Impfstoffes. Leider konnte mangels einer genügend großen Zahl der für die Titration eines Typhusserums nötigen schweren Meerschweinchen von ca. 300 g Körpergewicht die Titration der Sera am 8. Tage nach der Impfung nicht bis zur unteren Grenze fortgeführt werden; doch zeigen die minimalsten der zur Verwendung gelangten wirksamen Dosen, daß auch für Typhus die Loefflersche Methode sehr hohe Werte liefert.

Bei dem mit 1 Oese Kultur vorbehandelten Tier schützte 0,1 mg

noch prompt gegenüber einer Oese einer Kultur von  $\frac{1}{10}$  Oese Virulenz, bei dem mit  $\frac{1}{100}$  Oese geimpften Tier bewirkte 0,5 mg des Serums gleichfalls noch glatte Bakteriolyse; niederere Dosen konnten aus den vorerwähnten Gründen nicht gegeben werden, doch dürften die angegebenen Grenzdosen der wirksamen Minimalmenge des Serums ziemlich nahe kommen.

Was die agglutinogene Fähigkeit der nach Loeffler behandelten 120°-Bakterien anlangt, so agglutinierte das Serum des ersten Tieres (1 Oese) noch in der enormen Verdünnung von 1:2560 (normal 1:10 negativ), das Serum des zweiten Tieres ( $\frac{1}{100}$  Oese) agglutinierte bis zu einem Grenzwert von 1:320 (normal 1:10 negativ). Auch in dieser Versuchsreihe ergab das mit  $\frac{1}{100}$  Oese 60°-Bakterien geimpfte Kontrollkaninchen keine höheren Werte, wie nachstehendes Protokoll ergibt.

Kaninchen No. 143, 1600 g schwer, erhält pro kg seines Körpergewichts  $\frac{1}{100}$  Oese 2 Stunden bei 60° abgetöteter Typhusbakterien intravenös.

Titre des Serums nach 8 Tagen: 0,1—0,5 mg.

Agglutination 1:320 +, 1:640 ±.

Die Resultate der Immunisierung nach Loeffler sind in den folgenden 2 Tabellen zusammengestellt.

Tabelle III.

Immunisierung von Kaninchen mit nach Loeffler bei 150° abgetöteten Bakterien.

Kaninchen No.	Gewicht in g	Dosis des Bakterienvaccins intravenös pro Kilogramm Tier	Dauer der Abtötung	Bakterizider Titre des Serums am 8. Tage nach der Impfung	Agglutinationstitre		Bemerkungen
					vor der Impfung	am 8. Tag nach der Impfung	
2	1750	$\frac{1}{10}$ Oese Cholera	1 Std.	0,05 — 0,1	1:10 —	1:10 —	Kontrollen s. No. 1, 4, 10 Tab. I
3	1700	$\frac{1}{100}$ „ „	1 „	> 0,1	1:10 —	1:10 —	
11	2290	$\frac{1}{100}$ „ „	$\frac{1}{2}$ „	0,01 — 0,03	1:10 —	1:10 —	
12	2350	$\frac{1}{100}$ „ „	1 „	> 0,1	1:10 —	1:10 —	
14	2100	4 Oesen „	1 „	0,006 — 0,01	1:10 —	1:10 —	
56	1586	2 Agarkulturen	$\frac{1}{2}$ „	0,01 — 0,05	1:10 —	1:10 —	

Tabelle IV.

Immunisierung von Kaninchen mit nach Loeffler bei 120° abgetöteten Bakterien.

Kaninchen No.	Gewicht in g	Dosis des Bakterienvaccins intravenös pro Kilogramm Tier	Bakterizider Titre des Serums am 8. Tage nach der Impfung	Agglutinationstitre	
				vor der Impfung	am 8. Tage nach der Impfung
131	2600	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera	0,00005—0,0001	1:10 —	1: 640 +
132	2800	2 Oesen „	0,0001 — 0,0005	1:10 —	1: 640 +
135	1450	1 Oese Typhus	< 0,0001	1:10 +	1:2560 +
136	1200	$\frac{1}{100}$ „ „	< 0,0005	1:10 —	1: 640 +

V. Immunisierung mit Bakterien, die im feuchten Zustand bei höherer Temperatur abgetötet waren.

Es dürfte von Interesse sein, die Resultate der Loefflerschen Methode mit denen von solchen Methoden zu vergleichen, bei denen die Bakterien feucht — d. h. also in physiologischer Kochsalzlösung emulsiert — ähnlichen hohen Temperaturen ausgesetzt wurden.

Es war bereits lange durch die Untersuchungen von R. Pfeiffer bekannt, daß in Kochsalzlösung emulsierte und auf 100° erhitzte Cholera-vibrionen sich noch sehr gut zu Antikörperproduktion eignen, und wir wissen aus späteren Untersuchungen, daß derartige Bakterien dementsprechend auch noch ein hohes Bindungsvermögen in vitro zeigen.

Doch waren bisher vergleichende und genaue quantitative Versuche über die Intensität der Antikörperbildung durch gekochte Bakterien noch nicht angestellt worden.

Kaninchen No. 42, 2150 g schwer, erhält pro kg seines Gewichtes  $\frac{1}{100}$  Oese einer  $\frac{1}{2}$  Stunde im siedenden Wasser abgetöteten Emulsion von Cholera-vibrionen in physiologischer Kochsalzlösung intravenös.

Am 8. Tage nach der Injektion beträgt der bakterizide Titre des Serums 0,5—1 mg. Agglutinationswert 1:10 (normal 1:10 negativ).

Bei dem mit 60°-Bakterien geimpften Kontrolltier No. 40 (Gewicht 2050 g) betrug der bakterizide Titre 0,1—0,5 mg. Agglutination bis 1:320 positiv (normal 1:10 negativ).

Wir finden also hier sowohl bezüglich des bakteriolytischen Titres wie der Agglutination niederere Werte, als sie die Methode Pfeiffer-Kolle oder Loeffler liefert.

Noch ungünstiger müssen natürlich die Resultate werden, wenn die Bakterien im feuchten Zustand Temperaturen über 100° ausgesetzt werden.

Derartige noch nicht publizierte Versuche, die der eine von uns (Friedberger) vor längerer Zeit angestellt hat, seien hier kurz mitgeteilt. Die Tiere wurden allerdings damals mit einem anderen Cholera-stamm (Stamm „ch“) geimpft, der jedoch bezüglich seiner Antikörperbildenden Fähigkeit kaum hinter der zu unseren jetzigen Versuchen verwendeten Kultur zurückstand. Die Menge der in diesen Versuchen eingespritzten Bakterien betrug 1 Oese.

Die Kultur „ch“, die zugleich zur Prüfung des bakteriziden Titres diente, hatte die Normalvirulenz von  $\frac{1}{10}$  Oese gegenüber Meerschweinchen von 200 g; dagegen war sie so sehr hypagglutinabel, daß zur Prüfung der Agglutination stets noch eine zweite gänzlich avirulente sehr gut agglutinable Kultur „R.G.A.“ herangezogen wurde.

Die zur Injektion bestimmten Emulsionen, die in physiologischer Kochsalzlösung von 45° hergestellt waren, wurden in unten geschlossene Glasröhrchen gebracht, die nachher möglichst nahe dem oberen Flüssigkeitsniveau abgeschmolzen wurden. Die Röhrchen wurden alsdann im Autoklaven höheren Temperaturgraden ausgesetzt und der Inhalt der Röhrchen Kaninchen intravenös injiziert. Die Zeit des Verweilens im Autoklaven ist von dem Moment an gerechnet, in dem der Druck gerade die im nachstehenden angegebene Höhe erreicht hatte.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte es sich, daß bei den im Autoklaven unter hohem Druck gehaltenen Emulsionen die Bakterien fast vollständig zu Detritus zerfallen waren.

Kaninchen No. 62, Gewicht 1800 g, erhält 1 Oese Cholera-kultur, die vorher  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 1 Atmosphäre Ueberdruck im Autoklaven abgetötet war.

Bakterizider Titre des Serums am 8. Tage nach der Injektion: 0,05 schützt nicht:

Agglutinationswert des Normalserums mit Ch	1:3	±
„ „ „ „ RGA	1:20	+
„ „ „ „ „	1:50	±
„ „ Immunserums am 8. Tage mit Ch	1:20	+
„ „ „ „ „	1:30	±
„ „ „ „ 8. „ „ RGA	1:500	+
	1:1000	—

Kaninchen No. 63, 2100 g, erhält 1 Oese der gleichen Emulsion wie das vorige Tier; nur war diese außer  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 1 Atmosphäre noch 2 Stunden bei 2 Atmosphären Ueberdruck im Autoklaven abgetötet.

Bakterizider Titre (8 Tage nach der Injektion): 0,05 schützt nicht.

Agglutinationswert des Normalserums mit Ch	1:3	—
„ „ „ RGA	1:50	±
„ „ Immunserums am 8. Tage mit Ch	1:10	+
„ „ „ „ 8. „ „ RGA	1:200	+

Im Gegensatz zu der Loefflerschen 1<sup>o</sup>-Methode bewirkt also die Methode der Abtötung im feuchten Zustand bei höheren Temperaturen offenbar eine weitgehende Zerstörung der Bakteriolysoantigene und der Agglutininantigene, allerdings, wie es scheint, eine weitgehendere der Lysinogene.

## VI. Einfluß der Autolyse auf die Antigene.

Neisser und Shiga<sup>1)</sup> haben durch Autolyse von Bakterienemulsionen im Sinne von Conradi<sup>2)</sup> den Uebergang wirksamer Antigene — von ihnen als „freie Rezeptoren“ bezeichnet — in die Suspensionsflüssigkeit beobachtet und darauf ein Verfahren der aktiven Immunisierung begründet, das später von Wassermann<sup>3)</sup> weiter ausgearbeitet worden ist.

Wir suchten den Einfluß der Autolyse im allgemeinen auf die nach der verschiedensten Weise hergestellten Bakterienimpfstoffe zu erforschen. Eine Zunahme der Wirksamkeit wäre praktisch von Bedeutung gewesen, nicht minder aber eine Abnahme, die die Verwertbarkeit der betreffenden Methode überhaupt hätte in Frage stellen können. Denn da in praxi der Impfstoff in der Regel nicht unmittelbar nach der Herstellung eingespritzt werden kann, so ist die Haltbarkeit seiner antikörperbildenden Qualität, wenigstens für eine gewisse Zeit lang, unerlässlich notwendig, Bassenge und Meyer<sup>4)</sup> haben auch Bedenken in dieser Richtung gegenüber dem von Kolle und seinen Mitarbeitern bei den nach Südafrika gesandten Truppen angewandten Impfstoff geltend gemacht.

Diesen Autoren war wohl die Arbeit von Pfeiffer und Marx<sup>5)</sup> unbekannt, die bereits vor längerer Zeit gefunden hatten, daß bei 60° abgetötete „Cholera- und Typhusimpfstoffe durch einen Zusatz von 0,5 Proz. Phenol auf die Dauer von mindestens 4—10 Wochen konserviert werden können und daß auch die Einwirkung hoher Temperaturen bis zu 37° den Wert des Impfstoffes nicht beeinträchtigt“.

Wir unterzogen zur Prüfung der vorliegenden Frage die auf die verschiedenen Weisen abgetöteten Bakterienemulsionen (Cholera) noch einer kürzeren oder längeren Autolyse bei 37° und verglichen die so behandelten Vaccins mit frischen, die nach der gleichen Methode hergetellt wurden.

### 1. Einfluß der Autolyse auf die Antigenenbildung durch bei 60° abgetötete Bakterien.

No. 50. Kaninchen, 1550 g, erhält pro kg seines Körpergewichts  $\frac{1}{1,00}$  Oese Choleravibrionen, die vorher bei 60° 2 Stunden lang abgetötet und dann noch 3 Tage im Brutschrank von 37° verblieben waren.

1) Neisser und Shiga, Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 4.

2) Conradi, Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 2.

3) Wassermann, Festschr. z. 60. Geburtstage R. Kochs. Jena 1904.

4) Bassenge und Meyer, Deutsche med. Wochenschr. 1905.

5) Pfeiffer und Marx, Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 31.

No. 51. Kaninchen, 1600 g, erhält pro kg seines Körpergewichtes  $\frac{1}{500}$  Oese der gleichen Choleraemulsion, wie das vorige Tier. Bakteriolytischer Titre des Serums von Kaninchen 50 am 8. Tage nach der Injektion: 0,5—1 mg, von Kaninchen 51 ( $\frac{1}{500}$  Oese) 0,1—0,5 mg. Bei dem mit dem gleichen Vaccin (ohne Autolyse) behandelten Kontrolltier No. 40 beträgt der bakteriolytische Titre 0,1—0,5 mg.

Es haben also durch die dreitägige Autolyse die bei 60° abgetöteten Choleravibrionen keine nachweisbare Einbuße ihrer Wirksamkeit für die bakteriolytische Antikörperbildung erfahren.

Bei dem einen Tier ist allerdings der Titer etwas geringer als beim Kontrolltier, doch dürfte das mit Recht auf Differenzen in dem individuellen Verhalten der Tiere zurückgeführt werden, zumal das andere Kaninchen (No. 51) mit der geringeren Menge an Impfstoff einen gleich hohen Titre wie das Kontrolltier aufweist.

Dagegen scheint die Autolyse wiederum die Antigene für die Agglutininbildung zu schädigen.

Bei beiden Versuchstieren agglutiniert das Immunsrum nur bis 1:80, beim Kontrolltier dagegen bis 1:320.

Daß diese Differenzen nicht aus Verschiedenheiten des individuellen Verhaltens der Tiere erklärt werden können, ergibt sich auch aus weiteren Versuchen, welche zeigen, daß bei länger dauernder Autolyse der Unterschied noch evidenter wird.

Der Rest der vorher benutzten bei 60° abgetöteten Choleraemulsion wurde noch weitere 8 Tage der Autolyse ausgesetzt, und dann gleichfalls zur intravenösen Injektion von Kaninchen verwendet.

No. 80, Kaninchen, 2030 g, erhält pro kg seines Körpergewichtes  $\frac{1}{100}$  Oese der oben erwähnten 11 Tage alten Emulsion intravenös.

No. 81, Kaninchen, 1820 g, erhält pro kg seines Körpergewichtes  $\frac{1}{500}$  Oese des gleichen Impfstoffes.

Bei beiden Tieren beträgt der bakteriolytische Titre 1—0,5 mg. Wenn also hier der Titre auch hinter dem des Kontrolltieres etwas zurückbleibt, so ist doch andererseits die Differenz zu gering und liegt, wie sich aus Tabelle I ergibt, noch so sehr innerhalb der Breite der individuellen Schwankungen, daß von einer Abnahme der Wirksamkeit des Impfstoffes nicht eigentlich gesprochen werden kann.

Bemerkenswert ist dagegen die weitere unzweideutige starke Abnahme der Agglutinogene in den digerierten Emulsionen. Während der Agglutinationstitre beim Kontrolltier 1:320 bei den mit dreitägigen Emulsionen behandelten Tieren noch 1:80 betrug, ist bei den mit 11 Tage lang digerierten Bacillen geimpften Tieren trotz des hohen bakteriolytischen Titers so gut wie kein Agglutinin im Serum nachweisbar.

Das Serum des Kaninchens 80 agglutiniert noch nicht in einer Verdünnung  $\frac{1}{10}$ , bei No. 81 stellt die gleiche Verdünnung den Grenzwert dar (Normalserum 1:10 bei beiden Tieren negativ).

Nach diesen Versuchen liefert die längere Zeit fortgeführte Autolyse der bei 60° abgetöteten Choleravibrionen einen Impfstoff, der so gut wie vollständig seine Wirksamkeit für die Erzeugung von Bakteriolytinen bewahrt hat, während die agglutinogenen Gruppen in hohem Grad unwirksam geworden sind.

2. Einfluß der Autolyse auf die Antigene der bei 100° abgetöteten Bakterienkochsalzemulsionen.

Bei der Autolyse der bei 100° abgetöteten Bakterien ergab sich eine mit der Dauer der Digestion fortschreitende Abschwächung der bei Erzeugung der bakteriolytischen Antikörper wirksamen Bakteriengruppen.

Bei dem Kontrollkaninchen No. 22, 2150 g, das pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{100}$  Oese bei 100° abgetöteter Cholera direkt intravenös erhalten hatte, betrug der bakteriolytische Titre am 8. Tage 0,5—1 mg.

No. 52, Kaninchen, 1400 g, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{100}$  Oese derselben Emulsion, nachdem dieselbe noch 3 Tage bei 37° digeriert war und No. 53, 1710 g,  $\frac{1}{500}$  Oese des gleichen Impfstoffes pro kg Körpergewicht.

Nach 8-tägiger weiterer Digestion der Emulsion erhält Kaninchen No. 82, 1730 g,  $\frac{1}{100}$  Oese pro kg und No. 83  $\frac{1}{500}$  pro kg Körpergewicht.

Der Titre bei Kaninchen No. 52 beträgt am 8. Tage	5—10 mg
bei No. 53	0,01—0,05 „
bei No. 82	5—10 „
bei No. 83	weniger als 0,05 „
bei Kontrolltier No. 22	0,5—1 „

Die Agglutinationsfähigkeit ist von 1:10 beim Kontrolltier auf unter 1:10 bei allen Versuchstieren gefallen.

3. Einfluß der Autolyse auf die Antigene der mit Chloroformdämpfen abgetöteten Bakterien.

Ein gänzlich abweichendes und sehr merkwürdiges Resultat lieferten in völliger Uebereinstimmung die Autolyseversuche bei den mit Chloroform abgetöteten Bakterien. Es wurden hier 3 Versuchsreihen mit je 6 resp. 4 resp. 2 Kaninchen angestellt. Die mit Chloroformbakterien — wie wir der Einfachheit halber die durch Chloroformdämpfe abgetöteten Cholerabakterien nennen wollen — behandelten Kaninchen No. 46, 47, 138, 139 (je  $\frac{1}{100}$  Oese pro kg) hatten, wie oben bereits protokolliert, bakteriolytische Titrewerte von 1—5 mg, dagegen enthielt das Serum keine einigermäßen erheblichen Mengen von Agglutinin.

Der Rest der zu diesen Impfungen benutzten Emulsion blieb dann 3 Tage im Brutschrank bei 37° stehen und wurde weiter an Kaninchen intravenös geimpft.

No. 57, Kaninchen, 1780 g, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{100}$  Oese dieser Emulsion.

No. 58, Kaninchen, 1900 g, erhält  $\frac{1}{500}$  Oese desselben Impfstoffes.

Bei beiden Tieren ist am 8. Tage nach der Impfung im Vergleich zu den Kontrolltieren eine wesentliche Steigerung des bakteriolytischen Titres zu verzeichnen.

Er beträgt bei No. 57 1—0,5 mg, bei No. 58 0,5—0,1 mg.

Bei den Kontrolltieren (No. 46, 47, 138, 139) war in Verdünnung des Immunserums von 1:10 keine Agglutination nachweisbar; die mit gleichen Dosen der autolysierten Chloroformbakterien behandelten Tiere zeigten Agglutinationswerte des Serums von 1:20 resp. 1:160.

Eine weitere Versuchsreihe mit autolysierten Chloroformbakterien lieferte ganz analoge Resultate.

No. 141, Kaninchen, 1900 g, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{100}$  Oese einer anderen mit Chloroform abgetöteten und 3 Tage bei 37° autolysierten Cholerakultur.

No. 142, Kaninchen, 1800 g, erhält die gleiche Menge desselben Impfstoffes.

Der bakteriolytische Titre beträgt am 8. Tage nach der Impfung bei No. 141 0,5—1 mg, bei No. 142 genau 0,5 mg.

Agglutinationswert des Immunserrums bei beiden Tieren:  $\frac{1}{40}$  (normal 1:10 negativ).

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die an und für sich geringe antigenoplastische Funktion mit Chloroform abgetöteter Choleravibrionen durch die dreitägige Autolyse eine beträchtliche Steigerung erfährt.

Mit dem Rest der Bakterienemulsion, mit der No. 46 und 47 sowie No. 57 und 58 geimpft waren, wurden nach weiterem 8-tägigen Verweilen derselben im Brutschrank weitere Kaninchen behandelt. Es ergab sich keine Zunahme der Wirksamkeit derartiger Impfstoffe, die Werte blieben vielmehr im wesentlichen konstant.

No. 84, Kaninchen, 1800 g, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{100}$  Oese der 11 Tage lang autolysierten Chloroformvibrionen.

No. 85, Kaninchen, 1850 g, erhält pro kg Körpergewicht  $\frac{1}{500}$  Oese der gleichen Emulsion.

Der bakterizide Titre beträgt am 8. Tage nach der Impfung bei beiden Tieren 0,5—1 mg.

Agglutination bei No. 84 1:80 +; bei No. 85 1:20 + (normal 1:10 —).

Worauf beruht diese merkwürdige Zunahme der Wirksamkeit von Chloroformbakterienimpfstoffen durch die Autolyse? Offenbar sind unter der direkten Einwirkung des Chloroforms die Gruppen, die die Bildung der Antikörper auslösen, besonders aber die agglutinogenen Gruppen durch die Absorption des Chloroforms geschädigt resp. verstopft. Mit der Autolyse bei 37° tritt ein Verdunsten des Chloroforms und damit ein Wiederwirksamwerden dieser Gruppen ein.

Tabelle V.  
Einfluß der Autolyse auf Antigene.

Kaninchen No.	Gewicht in g	Dosis des Bakterienvaccins intravenös pro Kilogramm Tier	Dauer der Autolyse	Bakterizider Titer des Serums am 8. Tage nach der Impfung	Agglutinationstitre	
					vor der Impfung	am 8. Tage nach der Impfung
A. bei 60°-Bakterien.						
50	1550	$\frac{1}{500}$ Oese Cholera	3 Tage	0,0005—0,001	1:10 —	1:80 +
51	1600	$\frac{1}{100}$ " "	3 "	0,0001—0,0005	1:10 —	1:80 +
80	2030	$\frac{1}{100}$ " "	11 "	0,0005—0,001	1:10 —	1:10 +
81	1820	$\frac{1}{500}$ " "	11 "	0,0005—0,001	1:10 —	1:20 ±
B. bei 100°-Bakterien.						
52	1400	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera	3 Tage	0,005 —0,01	1:10 —	1:10 —
53	1710	$\frac{1}{500}$ " "	3 "	0,01 —0,05	1:10 —	1:10 —
82	1850	$\frac{1}{100}$ " "	11 "	0,005 —0,01	1:10 —	1:10 —
83	1730	$\frac{1}{500}$ " "	11 "	> 0,05	1:10 —	1:10 —
C. bei Chloroformbakterien.						
57	1780	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera	3 Tage	0,0005—0,001	1:10 —	1:20 ±
58	1900	$\frac{1}{500}$ " "	3 "	0,0001—0,0005	1:10 —	1:160 +
141	1900	$\frac{1}{100}$ " "	3 "	0,0005—0,001	1:10 —	1:40 +
142	1800	$\frac{1}{100}$ " "	3 "	0,0005	1:10 —	1:40 +
84	1850	$\frac{1}{100}$ " "	11 "	0,0005—0,001	1:10 —	1:80 +
85	1850	$\frac{1}{500}$ " "	11 "	0,0005—0,001	1:10 —	1:20 +



Für diese Auffassung spricht die Tatsache, daß die Wirksamkeit der autolysierten Bakterien vom 3. Tage — wo alles Chloroform bereits wieder ausgetreten sein dürfte — bis 11. Tag keine weitere Zunahme erfährt

In Anbetracht der geringen Mengen von Chloroform, die zur Abtötung benutzt wurden (nur wenige Tropfen auf das Filtrierpapier im Deckel der Petri-Schale geträufelt) und in Anbetracht der minimalen Mengen, die von diesen Emulsionen injiziert wurden, dürfte kaum eine ungünstige Wirkung der Spuren von Chloroform, die möglicherweise in den eingespritzten Dosen enthalten waren, auf den Organismus des Kaninchens für die geringe Wirkung des Vaccins im Kontrollversuch verantwortlich gemacht werden.

Weitere Versuche in dieser Richtung, vor allem mit Typhusbakterien, behalten wir uns vor.

Die Versuche mit autolysierten Impfstoffen sind in der vorstehenden Tabelle V zusammengestellt.

#### VII. Einfluß der Bakteriendosis auf die Intensität der Antikörperbildung.

Wenn wir in den voraufgehenden Versuchen ganz allgemein die Beziehung zwischen Impfstoffmenge und Höhe der durch sie im Tier erzeugten Antikörperwerte betrachten, so ergeben sich eine Reihe zunächst unerwarteter und sehr bemerkenswerter Tatsachen, die im nachstehenden besprochen werden mögen.

Eine Proportionalität zwischen Antigenmenge und Antikörperproduktion besteht nur bei den Methoden, bei denen durch den Modus der Bakterienbehandlung die wirksamen Gruppen so vermindert resp. geschädigt waren, daß überhaupt nur relativ niedere Antikörperproduktion hervorgerufen wurde.

Diese Proportionalität tritt z. B. unzweideutig bei der Verimpfung von 100°-Bakterien und Impfstoffen, die nach der Loeffler-Methode bei 150° abgetötet waren, hervor (s. unten Tab. VI A).

Ganz anders liegen die Verhältnisse, wie es scheint, wenn ein wenig eingreifender Abtötungsmodus des Impfstoffes gewählt wird.

Hier ergibt sich in bei weitem der Mehrzahl der Versuche keine sichtliche Abhängigkeit der Antikörperproduktion von der Antigenmenge innerhalb weitester Grenzen (s. unten Tab. VI B).

Wir sehen, daß von nach Pfeiffer-Kolle oder Loeffler bei 120° bereiteten Impfstoffen  $\frac{1}{500}$  Oese eine gleich starke Antikörperproduktion auslöst, nicht nur wie  $\frac{1}{100}$  oder  $\frac{1}{10}$  Oese, sondern selbst wie eine 2000mal größere Menge von 4 Oesen.

Ja noch mehr, in den meisten Fällen erwies sich die jeweilige kleinere Dosis von stärkerer Wirkung, sei es bezüglich der Bildung bakteriolytischer Immunkörper, sei es bezüglich der Bildung von Agglutininen oder auch für beide Arten von Immunstoffen zusammen. Dies Verhalten zeigte sich mit solcher Konstanz in der größeren Zahl unserer Versuche, daß nicht gut Zufälligkeiten, bedingt durch das verschiedene individuelle Verhalten der Tiere, hier das Resultat vortäuschen können.

In der folgenden Tabelle sind eine Reihe von bereits früher protokollierten Versuchen nach dieser Richtung hin zusammengestellt.

Wie sind diese paradoxen Resultate in dem quantitativen Verhältnis der Impfstoffmenge zur Intensität der Antikörperbildung zu erklären?

Um hier einen Aufschluß zu gewinnen, müssen wir zunächst die Theorien über die Antikörperproduktion überhaupt einer Diskussion unter-

Tabelle VIA.

Einfluß der Impfstoffdosis auf die Antikörperproduktion bei Verwendung wenig wirksamer Impfstoffe.

Kaninchen No.	Gewicht in g	Behandlung des Impfstoffes	Dosis des Impfstoffes	Bakterizider Titre am 8. Tage nach der Impfung
3	1700	1 Stunde 150° nach Loeffler	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	> 0,1
12	2350	do.	do.	> 0,1
2	1750	do.	$\frac{1}{10}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,05—0,1
14	2100	do.	4 Oesen Cholera	0,006—0,01
11	2290	$\frac{1}{2}$ Stunde 150° nach Loeffler	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,01—0,03
56	1580	do.	2 Agarkulturen Cholera	0,01—0,05
52	1400	1 Stunde 100° (Wasserbad-)Autolyse 3 Tage	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,005—0,01
53	1710	do.	$\frac{1}{500}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,01—0,05
82	1850	1 Stunde 100° (Wasserbad-)Autolyse 11 Tage	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,005—0,01
83	1730	do.	$\frac{1}{500}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	> 0,05

Tabelle VIB.

Einfluß der Impfdosis auf die Antikörperproduktion bei Verwendung sehr wirksamer Impfstoffe.

Kaninchen No.	Gewicht in g	Behandlung des Impfstoffes	Dosis des Impfstoffes	Bakterizider Titre am 8. Tage nach der Impfung
168	2050	60° 2 Stunden nach Pfeiffer und Kolle	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,0001—0,0002
170	1900	do.	4 Oesen Cholera	0,0001—0,0005
171	1620	do.	do.	0,0001—0,0002
51	1600	60° 2 Stunden nach Pfeiffer und Kolle. Autolyse 3 Tage	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,0005—0,001
50	1550	do.	$\frac{1}{500}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,0001—0,0005
54	1600	do.	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,001—0,002
55	1650	do.	$\frac{1}{500}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,0005
57	1780	Mit Chloroform abgetötet. Autolyse 3 Tage	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,0005—0,001
58	1900	do.	$\frac{1}{500}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,0001—0,0005
131	2600	120° 2 Stunden nach Loeffler	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera pro Kilogramm Tier	0,0001—0,00005
130	2800	do.	2 Oesen Cholera	0,0001—0,00005

werfen. Pfeiffer hat von jeher und erst jüngst wieder<sup>1)</sup> die Antikörperproduktion als eine „spezifische Reaktion auf einen spezifischen Reiz“ aufgefaßt, da der Reizbegriff am ehesten „das Mißverhältnis zwischen

1) Compt. rend. du XIII. Congr. internat. d'Hyg. à Bruxelles 1903.

Ursache und Wirkung, wenn minimalste Vaccindosen unter Umständen geradezu eine Ueberschwemmung des Organismus durch neugebildete Immunkörper herbeiführen“, erklären kann.

Die Reizhypothese ist in der letzten Zeit auch von Wassermann<sup>1)</sup> acceptiert und zur Erklärung verschiedenster Tatsachen auf dem Gebiet der Immunitätslehre herangezogen worden.

Auch unsere Resultate sind auf Grund dieser Hypothese verständlich. Wenn man annimmt, daß eine so minimale Bakteriendosis wie  $\frac{1}{500}$  Oese Cholera oder Typhus bei der intravenösen Applikationsweise etwa das Optimum des Reizes darstellt, so sind nicht nur die hohen Ausschläge verständlich, sondern es ist damit zugleich die Erklärung für die Tatsache gegeben, daß größere Bakteriendosen dementsprechend keinen höheren Titre bewirken, ja, nicht selten einen ungünstigen Einfluß auf die Antikörperproduktion zu haben scheinen; es entspricht das ganz dem Wesen des Reizes im physiologischen Sinne und seiner Einwirkung auf den Organismus, bei der eine untere und obere Schwelle und ein Optimum zu konstatieren ist. Durch Verimpfung von Impfstoffdosen, die über das Optimum hinausgehen, findet naturgemäß wieder eine Schädigung des Organismus statt, die zu einer Verminderung der Antikörperproduktion führen kann.

Fassen wir mit Ehrlich die Antikörperproduktion als die Folge einer Affinität und Wechselbeziehung zwischen gewissen Zellgruppen des Organismus und gewissen Gruppen der Antigene auf, so vermag diese Theorie gleichfalls die von uns gefundenen Tatsachen vollauf befriedigend zu erklären.

Man muß alsdann nur annehmen, daß in  $\frac{1}{500}$  Oese Typhus- resp. Cholerabakterien soviel Rezeptoren vorhanden sind, als mit passenden Gruppen der Zellen des Organismus überhaupt entsprechend den Forderungen der Seitenkettentheorie in Aktion zu treten vermögen, so daß ein Mehr von eingeführten Bakterienrezeptoren vom Standpunkt der Antikörperproduktion als ein unnötiger Ballast im Körper zirkuliert, ja unter Umständen sogar durch gewisse Nebenwirkungen, vielleicht durch Verankerung eines Teiles der neugebildeten Ambozeptoren direkt die nachweisbare Menge der Ambozeptoren im Serum herabsetzt.

Wie dem auch sei, für die Praxis der Immunisierung würde die Methode der kleinen Dosen — immer vorausgesetzt, daß die Verhältnisse, wie sie mit Cholera und Typhus bei einer einzigen Tierspecies ermittelt wurden, überhaupt allgemeine Gültigkeit besitzen — auch bei Erzielung der höchsten Titrewerte unbrauchbar sein, wenn nicht zugleich eine gewisse Dauer der aktiven Immunität erzielt würde.

Es war aber zu befürchten, daß bei der von uns geübten Methode einer einmaligen Immunisierung und dazu noch mit so minimalen Dosen der hohe Titrewert nur ein vorübergehender sein werde, und die Versuchstiere bald wieder die Antikörper verlieren würden.

Zur Prüfung dieser Frage haben wir bei einer Reihe von Tieren, die mit kleinen Dosen immunisiert waren nach 3, einmal sogar nach 4 Monaten von neuem die bakteriolytische Fähigkeit des Serums bestimmt, und in allen Fällen zwar eine Abnahme, aber doch noch erhebliche Werte konstatieren können.

Die Resultate dieser Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

1) Compt. rend. du XIII. Congr. internat. d'Hyg. à Bruxelles 1903.

Tabelle VII.  
Dauer der aktiven Immunisierung mit kleinen Dosen.

Kaninchen No.	Gewicht in g	Art der Immunisierung	Datum der Impfung	Bakterizider Titre	
				am 8. Tage nach der Impfung	
40	2200	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera — 60° 2 Stdn. — pro Kilogramm Tier	27. Januar 1905	0,0001—0,0005	0,01—0,001 25. März 1905
50	1550	$\frac{1}{500}$ Oese Cholera — 60° 2 Stdn. — 3 Tage Autolyse pro Kilogramm Tier	30. Januar 1905	0,0005—0,001	0,001—0,005 24. März 1905
55	1650	$\frac{1}{500}$ Oese Cholera — 60° 2 Stdn. — 3 Tage Autolyse pro Kilogramm Tier	30. Januar 1905	0,0005	0,01—0,005 6. Juni 1905
131	2600	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera — 120° 2 Stdn. — pro Kilogramm Tier	25. Februar 1905	0,00005—0,0001	0,001—0,005 6. Juni 1905
132	2500	$\frac{1}{100}$ Oese Cholera — 60° 2 Stdn. — pro Kilogramm Tier	25. Februar 1905	0,0001—0,0005	0,001—0,005 6. Juni 1905

Unsere Versuche führen zu folgenden Schlüssen:

I. Es gelingt regelmäßig, beim Kaninchen bei Verwendung geeigneter Stämme durch Verimpfung von bei 60° abgetöteten Cholera- und Typhusbakterien in Dosen, die Bruchteile von  $\frac{1}{100}$  Oese betragen, hohe bakterizide Titre und hohe Agglutinationswerte zu erzielen.

II. Der gleiche Effekt wird durch trockene und auf 120° erhitzte Bakterien erzielt.

III. Auf 150° erhitzte trockene Bakterien zeigen eine beträchtliche Verminderung resp. Schwächung ihrer Lysinogene und einen anscheinend vollständigen Verlust ihrer Agglutinogene.

IV. Bei Erhitzung der Bakterien im feuchten Zustande auf über 100° werden die lysinogenen Gruppen und die agglutinogenen beträchtlich geschädigt.

V. Bei Abtötung der Cholerabakterien mit Chloroform werden die lysinogenen Gruppen nur unbedeutend geschädigt, die agglutinogenen innerhalb der von uns gewählten Versuchsbedingungen unwirksam gemacht.

VI. Dagegen bewirkt die Autolyse von mit Chloroformdämpfen behandelten Cholerabakterien bei 37° eine Wiedezunahme der Wirksamkeit ihrer Antigene.

VII. Auf die nach Pfeiffer-Kolle oder nach der Methode Loeffler bei 120° abgetöteten Bakterien hat die Autolyse bei Körpertemperatur bis zu 11 Tagen keinen deutlichen Einfluß bezüglich der Wirksamkeit der Antigene, sicher wird sie nicht erhöht.

VIII. Bei 100° in Emulsion abgetötete Bakterien erfahren durch die Autolyse eine Schädigung ihrer Antigene.

IX. Durch mehrmaliges Frierenlassen und Wiederauftauen erfahren bei 60° nach Pfeiffer-Kolle abgetötete Bakterien keine Veränderung ihrer Wirksamkeit für die Antikörperproduktion.

X. Bei einem Abtötungsmodus der Bakterien, welcher die Antigene schädigt, d. h. also bei Verimpfung wenig wirksamer Antigene, ist die Intensität der Antikörperbildung der Menge des Impfstoffes proportional.

Dagegen besteht bei der Verimpfung wirksamer Vaccins innerhalb weiter Grenzen keine Proportionalität zwischen Impfstoffmenge und Höhe der Antikörperproduktion, vielmehr sind in der Regel die kleineren Dosen die wirksameren.

XI. Die durch einmalige Injektion minimaler Bakteriendosen produzierten Antikörpermengen verschwinden nur sehr langsam aus dem Organismus; sicher sind noch große Mengen von Antikörpern nach 4, selbst nach 5 Monaten nachweisbar.

Unserm hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Prof. R. Pfeiffer, danken wir für die Anregung zu diesen Untersuchungen und für das lebhafteste Interesse, das er ihnen entgegengebracht hat.

Königsberg, den 9. Juli 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Die Behandlung der Wut mittels Radiumstrahlen.

Zweite vorläufige Mitteilung.

Von Prof. Guido Tizzoni und cand. med. Alessandro Bongiovanni.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

In unserer vorhergehenden vorläufigen Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir bei dem Bericht der ersten Resultate über die Wirkung der Radiumstrahlen auf das Wutgift, sowohl in vitro wie auch im Tiere selbst, notwendigerweise unsere Schlüsse mit einigem Vorbehalt wiedergegeben und einige Lücken dabei lassen müssen; wir sind jedoch heute dank der neuen erhaltenen Resultate im stande, den Vorbehalt aufzuheben und die Lücken auszufüllen, was eben in der vorliegenden Mitteilung geschehen soll.

Vor allem bestätigen wir vollkommen das, was in der vorhergehenden Arbeit gesagt worden ist; wir fügen nur noch hinzu, daß die in Rede stehenden Tiere noch jetzt in völliger Gesundheit leben. Da viele von diesen Tieren mit fixem Virus vor mehr als 2 Monaten infiziert waren, so kann man sie nunmehr als definitiv geheilt betrachten.

Was ferner die gleichzeitige Wirkung der Radiumstrahlen anbelangt, wobei dieselben nämlich gleich nach der Infektion zur Anwendung gelangen, so haben wir beobachtet, daß dieselbe Probe von 10000 radioaktiven Einheiten (R. E.) gleiche Wirkungen hervorruft, sowohl wenn die direkte Applikation des Mittels auf das Auge des Kaninchens auf 8 einstündige Sitzungen während aufeinanderfolgender Tage verteilt, als auch wenn sie in einer einzigen Sitzung von 8 Stunden Dauer gemacht wird<sup>2)</sup>.

Wir haben ferner gefunden, daß das auf die Oberfläche des Körpers (in der Mitte des Rückens, entsprechend der Wirbelsäule) applizierte

1) Die Wirkung der Radiumstrahlen auf das Wutgift in vitro und im Tiere. Vorgelegt der Kgl. Akademie der Wissenschaften zu Bologna in der Sitzung vom 9. April 1905. Bericht 1904–1905.

2) Der Wert des Radiums in radioaktiven Einheiten gründet sich auf die Atteste, die unseren Proben beigefügt sind. Die zu 10000 R. E. stammt von der Société Centrale de Produits Chimiques aus Paris; die zu 100000 R. E. aus der Fabrik für radioaktive Substanzen von Armet de Lisle in Noguet sur Marne (von Curie selbst geleitet). Diese Proben waren uns gütigst vom Institute für Experimentalphysik der Universität Ferrara überlassen.

Radium eine viel geringere Wirkung als bei Applikation auf das Auge ausübt, und daß man zur Erhaltung eines subdural mit fixem Virus infizierten Kaninchens im ersten Falle eine Probe von Radium braucht, das 10mal mehr aktiv (100000 R. E.) als dasjenige ist, welches unter gleichen Umständen zur Erhaltung desselben Tieres ausreicht.

Und zum Beweise dessen haben wir festgestellt, daß bei Anwendung einer Probe von ziemlich schwachem Radium (10000 R. E.) dies bei Applikation auf die Rückenmitte den Tod des Tieres nur um 3 Tage zu verzögern vermag, während es bei Applikation auf das Auge das Tier am Leben erhält.

Schließlich haben wir gesehen, daß das in vitro mittels der Radiumstrahlen zersetzte fixe Virus sich äußerst rasch in ein ausgezeichnetes Vaccin umwandelt; alle Tiere nämlich, welche nur einen Tropfen des den Radiumstrahlen 4—6—36 Stunden ausgesetzten fixen Virus in ihr Auge erhalten haben, erweisen sich gegen die subdurale Injektion des Hundevirus, welches die Kontrolltiere in 20 Tagen tötet, als geimpft.

Was die kurative Wirkung des Radiums anbelangt, so ist dieselbe in unserer vorhergehenden Mitteilung kaum angedeutet worden, da wir es ganz und gar den folgenden Untersuchungen überließen, festzustellen, ob, abgesehen von den ersten seit der Infektion verflossenen Momenten (1 Stunde), auch in einer vorgerückteren Krankheitsperiode mittels intensiverer Behandlung eine Heilung möglich wäre.

Schon aus dem, was oben berichtet wurde, ging klar hervor, daß die anfangs von uns benutzte Methode (verschiedene Applikationen an 8 aufeinanderfolgenden Tagen von im ganzen 8 Stunden Dauer) zu schwach war, um einigermaßen erhebliche Resultate erhoffen zu lassen. In der Tat, wenn die direkte Einwirkung der Radiumstrahlen während einer Stunde nicht zur völligen Zerstörung des fixen Virus im Reagenzglas genügt, so würde auch schwerlich dieselbe Applikationsdauer des Mittels dem in Rede stehenden Virus gegenüber siegreich sein können, welches nicht mehr, wie im vorhergehenden Falle frei, sondern schon in den lebenden Geweben fixiert ist.

Ueberdies hätte das Radium, infolge der Vermehrung dieses Virus in der langen zwischen den Applikationen verstreichenden Zeit, in jeder einzelnen Sitzung mit immer wachsenden Mengen des infizierenden Stoffes kämpfen müssen, von dem bei jeder Applikation ein immer größerer Rückstand zurückgeblieben sein würde.

Die folgenden Versuche haben diesen Gedanken voll und ganz bestätigt und noch besser präzisiert. Als wir nämlich in praxi eine sehr schwache Behandlungsmethode anwandten [schwach infolge der Zahl und Kürze der Sitzungen (acht einstündige) oder der geringen Aktivität der angewandten Probe (10000 R. E.)], fanden wir, daß die Tiere am Leben bleiben, wenn die Behandlung 1—10 Stunden nach der erfolgten Infektion (Auge, N. ischiadicus) beginnt; man erhielt dagegen 10—20 Stunden nach derselben Infektion nur eine starke Verzögerung des Todes, der dann 46 Stunden resp. bis 14 Tage nach der Infektion eintrat; endlich starben die Tiere zu derselben Zeit wie die Kontrolltiere, wenn man die Behandlung 24—36 Stunden später anwandte.

Man hatte also nun noch nachzusehen, ob mittels einer intensiveren Behandlungsmethode (durch größere Aktivität und längere Dauer der Applikation des Mittels) bessere Wirkungen erzielt

werden konnten. Und in der Tat übertrafen die erhaltenen Resultate unsere Erwartung.

Allen Tieren, bei denen wir die intensive Behandlungsmethode anwandten, wurde 0,1 ccm einer Bouillon injiziert, die das fixe Virus im Verhältnis von 1—2 Proz. enthielt.

Wir hielten es dagegen nicht für angezeigt und notwendig, unsere diesbezüglichen Untersuchungen durch Injektionsversuche am N. ischiadicus zu vervollständigen; denn diese Methode bietet einerseits für die Erzeugung der Infektion eine geringere Sicherheit, andererseits zeigt sie hinsichtlich der Dauer der Krankheit größere Schwankungen, so daß wir keine genauen Vergleiche zwischen den behandelten und den Kontrolltieren hätten anstellen können.

Im übrigen war ja schon durch unsere früheren Experimente über die gleichzeitige Wirkung des Radiums bewiesen, daß dieses immer in derselben Weise wirkt und dasselbe Resultat zeitigt, an welchem Teile des Nervensystems man auch die Infektion ausführen mag. Für diese intensive Behandlung haben wir eine Radiumprobe von 100000 R. E. angewandt, und zwar dauerte die erste Applikation 6—12 Stunden, die zweite am folgenden Tage vorgenommene 5—12 Stunden und je 4 Stunden die sechs anderen, welche an den folgenden Tagen zur selben Stunde wiederholt wurden. Wir müssen noch bemerken, daß infolge der größeren Intensität der Behandlung niemals nennenswerte Veränderungen am Auge vorkamen, weder in den äußeren Teilen, noch in den optischen Medien; auch zeigte allem Anschein nach das Tier nicht irgendwelche Sehstörung. Mittels dieser Methode konnte man alle behandelten Tiere am Leben erhalten, wenn die Behandlung 48—86—94 Stunden nach der Infektion begann, oder, wenn man den Tod der Kontrolltiere, der im allgemeinen in 6 Tagen erfolgte, in Rechnung zog, so ließen sich die genannten Tiere am Leben erhalten, wenn der Beginn der Radiumbehandlung in die Zeit vom ersten Viertel bis zum zweiten Drittel der gesamten Krankheitszeit fiel.

Wir fügen noch hinzu, daß man ein derartiges günstiges Resultat nicht nur erhielt, wenn im ersten Augenblick der Radiumapplikation das Tier noch keine Krankheitserscheinungen aufwies, die Krankheit sich also noch immer in einer, wenn auch vorgerückten Periode der Latenz befand, sondern auch dann, wenn das Tier bei Beginn der Behandlung schon ein ziemlich hohes Fieber (40°) hatte und eine starke Abnahme des Körpergewichtes (200 g) und eine deutliche Schwäche an den hinteren Extremitäten zeigte. Man kann daher schließen, daß die Behandlung mittels Radiumstrahlen das Tier am Leben zu erhalten vermag, auch wenn die Krankheit schon ausgebrochen oder wenn die Wut sich schon entwickelt hat.

Derartige Wirkungen werden dann um so wunderbarer erscheinen, wenn man sich erinnert, daß bei dem mit fixem Virus infizierten Kaninchen die manifeste Krankheit nur sehr kurz ist, so daß sie eigentlich fast gleich nach ihrem Ausbruche zum Tode führt, und wenn man außerdem bei der Zeitberechnung die letzten 24 Stunden abzieht, in denen jede Möglichkeit einer Behandlung ausgeschlossen ist, weil das Kaninchen gelähmt, fast ohne Lebenszeichen, bei stark erniedrigter Körpertemperatur an der Erde liegt.

Andererseits war es sehr interessant, bei dem Tiere die Erfolge der Behandlung zu verfolgen und das Zurückgehen der Krankheits-

erscheinungen zu beobachten, indem man sie im ersten Augenblick der Radiumapplikation und kurze Zeit darauf betrachtete.

In dieser Hinsicht haben wir beobachten können, daß zuerst die nervösen Erscheinungen, dann das Fieber und schließlich die Körpergewichtsverminderung zurückgehen. Was die nervösen Symptome anbelangt, so fand man, daß diese nach der ersten Sitzung bei dem behandelten und dem Kontrolltier gleich weit vorgeschritten waren; bei beiden war die Schwäche des hinteren Körperteiles in eine wirkliche Lähmung übergegangen, das Tier lag in seinem Käfig und wollte ihn nicht verlassen, die Atmung war mühsam, es war wie betäubt und zeigte eine gewisse schwankende Bewegung des Kopfes. Während sich übrigens der Zustand des Kontrolltieres zwischen der ersten und zweiten Applikation des Mittels mehr und mehr verschlechterte, besserte sich dagegen der des behandelten Tieres von Stunde zu Stunde; die Besserung war dabei derartig, daß nach der zweiten Sitzung keine nervösen Erscheinungen mehr zu konstatieren waren, während im Gegensatz hierzu das Kontrolltier in dieser Periode vollkommen gelähmt war, mit dem Bauche auf der Erde lag und eine weit unter der Norm liegende Temperatur aufwies.

Bezüglich des Fiebers zeigte sich vom Anfange der Behandlung an eine langsame und stufenweise Abnahme, so daß fast in 2—3 Tagen die physiologische Grenze wieder erreicht war.

Das Körpergewicht endlich nahm 2—3 Tage, auch infolge der hartnäckigen Nahrungsverweigerung des Tieres in dieser Periode, beständig ab; dann aber stieg es nach und nach und erreichte schließlich wieder seine ursprüngliche Höhe.

Derartige Erscheinungen wichen um so langsamer, je schwerer die Krankheit im Augenblick der Behandlung war, was nicht immer in enger Beziehung zu der seit der erfolgten Infektion verlaufenen Zeit stand.

So sank bei den in sehr schlimmem Zustand behandelten Tieren die Temperatur während der Entfieberung für einen Augenblick unter die normale Höhe ( $37^{\circ}$ ); 4—5 Tage lang bestand die hartnäckigste Anorexie und die Ernährungsstörung erreichte sehr hohe Grade bei einer Gewichtsverminderung um ca. 300 g; es stand dies natürlich in Beziehung zu den schweren Veränderungen, die das Wutgift vor seiner Zerstörung im Zentralnervensystem verursacht hatte.

Es ist unnötig, hier zu erwähnen, daß man die Erfolge, welche man mit Radium bei der Behandlung der Wuterreichthat, weder mittels Entfernung des betreffenden Körperteiles, noch mittels Vaccination oder Serumtherapie erreicht; und zwar auch nicht, wenn man die wirksameren Vaccinationsmethoden, wie die in diesem Laboratorium studierte italienische<sup>1)</sup> oder die aktiveren Sera anwendet, wie das von einem von uns (Tizzoni) und von Professor Centanni präparierte<sup>2)</sup>.

Wenn also die beim Menschen angewandte Wutschutzimpfung ihre Rechtfertigung im Experimente findet, wie sie sie finden muß, so liegt

1) Centanni, Die italienische Methode der antirabischen Vaccination. (Riforma medica. No. 102. 103. 104. Mai 1892.)

2) Tizzoni und Centanni, Antirabisches Serum mit hohem Immunisierungsvermögen, beim Menschen anwendbar. (Riforma medica. No. 297. 1893.)

Tizzoni und Centanni, Eine Methode, ein antirabisches Serum mit hohem Heilvermögen herzustellen und seine Kraft zu bestimmen. (Gaz. degli Ospital. No. 36—42. 1895.)



kein Grund vor, daß die Radiotherapie nicht in derselben Weise angewandt werden sollte, zumal sie unzweifelhaft vor der Impfung den Vorteil einer breiteren und sichereren experimentellen Basis hat.

Unsererseits fühlen wir uns bereit, die Anwendung am Menschen zu versuchen, für die wir schon unseren Apparaten eine passende Einrichtung gegeben haben; wir ziehen es aber vor, die Frage gleich bei ihrem schwierigeren Ende anzugreifen, indem wir nämlich die Wirksamkeit des Radiums bei schon entwickelter Wut erproben und so alle Weitschweifigkeiten und Verschiedenheiten umgehen, zu welchen eine Untersuchung über die präservative Wirkung desselben Stoffes führen würde.

*Nachdruck verboten.*

## Quantitative Desinfektionsversuche.

[Aus dem hygienischen Institute zu Stockholm.]

Von Professor E. Almquist und Gerda Troili-Petersson.

Beim Suchen nach bakteriziden Stoffen in der Erde und in Gewässern fanden wir im Jahre 1902, daß das Leitungswasser des Institutes eine erhebliche Bakterizidie zu zeigen vermochte. Wir beobachteten die Erscheinung besonders am Morgen im Wasser, das in der nächsten Leitung eingeschlossen gewesen war. Wenn wir zu 5 ccm eine Oese Typhuskultur (1 mg Agarkultur) zusetzten, so konnte man nach 4 Tagen bei 20—25° alle Stäbchen getötet vorfinden. Wir nehmen an, daß in den Leitungsröhren minimale Mengen von einem Metallsatz gelöst werden, die die Bakterien töten. Wir haben jedoch das Verhältnis nicht näher untersucht. In einigen anderen Leitungsröhren im Institut und in der Stadt konnten wir das Phänomen nicht wiederfinden.

Eine eigentümliche Beobachtung gab uns die Veranlassung zu vorliegender Untersuchung. Wir fanden nämlich, daß das klare Wasser, in dem die getöteten Typhusbakterien zu Boden gesunken waren, nicht mehr bakterizid wirkte, während dasselbe Wasser nach Emulgieren des Bodensatzes noch eine Oese von Typhusstäbchen zu töten imstande war.

Während des Suchens, der Frage der Absorption bakterizider Stoffe näherzutreten, haben wir viele Methoden und mehrere Desinfektionsmittel geprüft. Es würde zu weit führen, über diese Vorversuche zu erzählen. Besonders zeitraubend war es, brauchbare Methoden auszuarbeiten. Zuletzt blieben wir beim Sublimat, dessen Vermögen, eine Rasse von Typhusbakterien zu töten, wir im folgenden untersucht haben.

Um die Wirkung einer Sublimatdosis und die Anzahl der überlebenden Individuen festzustellen, haben wir folgende Versuchsanordnung benutzt: Die Typhuskultur war immer etwa 20 Stunden bei 37° gewachsen und in Kochsalzlösung emulgiert. Die Sublimatlösung wurde aus einer Lösung von 1‰ Sublimatlösung jedesmal durch Verdünnung mit Kochsalzlösung bereitet. Die letztgenannte Lösung, die 0,8 Proz. Kochsalz enthielt, wurde auch zu Verdünnung der Typhusemulsionen verwendet. Eine bestimmte Menge der verdünnten Emulsion wurde zuletzt einer Agarplatte hinzugesetzt. Die Platte blieb 48 Stunden bei 37°, worauf die Kolonienzahl gerechnet wurde. Von der gefundenen

Zahl wurde die Anzahl lebender Individuen in einer der Oese entsprechenden Quantität der Emulsion berechnet.

Zuerst führen wir die Tabelle I vor. Es war die Ansicht, zu untersuchen, ob es gleichgültig ist, die ganze Menge von Typhusbacillen auf einmal, oder Oese nach Oese zuzusetzen. Das Resultat zeigt sich in vorliegenden Versuchen in beiden Fällen gleich. Die Bakterien werden immer ziemlich vollständig getötet. 0,005 mg Sublimat in 5 oder 10 ccm Wasser tötet also mehr als 3 Milliarden Typhusstäbchen. Die Sublimatmenge ist zu groß, um die Grenzen der Wirkung zu entdecken und deshalb bekommen wir keine entscheidende Antwort auf die gestellte Frage.

Tabelle I.

No.	Individuen in Millionen in 1 Oese	Sublimatlösung ccm	Auf einmal mehrere Oesen zugesetzt						Nacheinander mehrere Oesen zugesetzt									
			2 Oesen auf einmal		3 Oesen auf einmal				Erste Oese nach Zeit		Zweite Oese		Dritte Oese Mill. Individ.					
			Million. Individ.	nach Stund.	Million. Individ.	nach Zeit	Million. Individ.	nach Zeit	Million. Individ.	Stund.	Million. Individ.	Stund.	Million. Individ.	nach Stund.	nach 1 Tag	nach 3-5 Tag.		
1	1,200	5	0,214	4	1,10	1 Tag	0,066	2 Tag	0,000	5 Tg.	0,012	2			5,60	2	1,4	0,03
2	465	5	0,014	4	0,000	1 "					0,008	2			0,04	2	0,65	
3	465	10	0,005	4	0,000	1 "					0,019	2			0,005	2	0,00	
4	1,075 oder 1,200	5	0,14	3	20,70	1 "	2,10	4 "			0,10	1 1/2			0,79	1 1/2	0,25	0,00
5		10	0,60	3	13,50	1 "	2,30	4 "			0,25	1 1/2			0,55	1 1/2	0,008	0,00
6	—	5	1,55	4	0,70	4 "					5,20	1 1/2	2,50	2	13,00	2	12,60	4,00
7	450	5	0,02	4	0,00	4 St.					0,000	2			0,01	2	0,70	
8	450	10	0,000	4	0,85	4 "	0,000	1 Tag			0,108	1	0,000	2	0,04	2	0,20	

0,005 mg HgCl<sub>2</sub> gelöst in 5 oder 10 ccm Kochsalzlösung (0,8 Proz.). Die Zahlen sind im allgemeinen Durchschnittszahlen aus zwei gegossenen Platten. Die Versuche 2 und 3 sind gleichzeitig gemacht, ebenso 4 und 5, 7 und 8. In den Versuchen 4 und 5 sind die größeren Oesen für die Versuche mit 3 Oesen auf einmal benutzt, für die anderen Versuche die kleineren. Die angegebene Zahl Individuen bedeutet die Ueberlebenden. Die Versuche sind bei Zimmertemperatur ausgeführt.

Tabelle II.

HgCl <sub>2</sub> -Lösung	Proz. in 2 Stunden abgestorbener Individuen		Proz. in 3 Stunden abgestorbener Individuen	
	a	a'	a	a'
1 : 5 000 000	100	100	100	100
1 : 6 000 000	100	99,3	100	99,8
1 : 7 000 000	98,7	93,5	95,2	99,5
1 : 8 000 000	99,5	93,5		97,5
1 : 9 000 000	67	65	78,9	76
1 : 10 000 000	65,2	60	62	60
1 : 12 000 000	40,3	9,4	42,2	47,5
1 : 15 000 000	0	5,5	12	5,7
1 : 20 000 000	7,8	12	5,5	13

Temperatur 37°. Menge Sublimatlösung 5 ccm. Zahl der Typhusstäbchen in jedem Versuch 460 000 000. a und a' zwei gleichzeitig gegossene Platten.

Tabelle II zeigt die verschiedene Wirkung von wechselnden Mengen von Sublimat auf dieselbe Bakterienmenge. In 5 ccm Kochsalzlösung von 0,8 Proz. wird 0,00025—0,001 mg Sublimat gelöst. In 2 Stunden bei 37° ist die Wirkung fast vollendet, noch 1 Stunde ändert das Resultat wenig. Die Dosis 0,001—0,0006 mg Sublimat tötet 460 Millionen Typhusstäbchen fast vollständig. Nachher finden wir folgende Zahlen:

mg Sublimat	Proz. abgestorbener Individuen	Anzahl abgestorbener Individuen
0,0006	98	450 Millionen
0,00055	77	350 "
0,0005	61	280 "
0,0004	45	200 "
0,00033	9	40 "

Die Wirkung des Sublimats nimmt schneller ab, als im Verhältnis der Dosis. 0,0004 tötet nicht einmal die Hälfte wie 0,0006 u. s. w.

In der folgenden Tabelle III finden wir, wie viel Typhusstäbchen 0,0006 und 0,0005 mg Sublimat, immer in 5 ccm 0,8 Proz. Kochsalzlösung aufgenommen, zu töten vermag. Nach 2 Stunden ist das Absterben noch nicht vollständig, besonders nicht bei größeren Bakterienmengen. Möglich ist, daß es vorteilhaft gewesen wäre, das Sublimat noch längere Zeit als 3 Stunden einwirken zu lassen. Im folgenden besprechen wir nur den Versuch mit 3 Stunden Einwirkung.

Tabelle III.

HCl <sub>2</sub> -Lösung	Typhusindividuen Millionen	Proz. in 2 Stunden abgestorbener Individuen		Proz. in 3 Stunden abgestorbener Individuen	
		a	a'	a	a'
1: 8 000 000	212	100	100	100	100
1: 8 000 000	298	96,6	84,2	99,5	90,5
1: 8 000 000	340	87	83	94	95
1: 8 000 000	382	85	75,4	92,5	93,5
1: 8 000 000	425	49	60	80	
1: 8 000 000	467	50	48	73	
1: 8 000 000	510	43	54	58	80,4
1: 10 000 000	212	98,8	99,3	100	100
1: 10 000 000	298	48	50	70	68
1: 10 000 000	340	39	53	59	73,5
1: 10 000 000	382	52	57	61	47,7
1: 10 000 000	425	30	37	41	44,5
1: 10 000 000	467	40	42,3	45,8	59,3
1: 10 000 000	510	40	17	54	39

Sublimatlösung 5 ccm. Temperatur 37°. a und a' zwei gleichzeitige Versuche.

Est ist offenbar, daß die tötende Wirkung von 0,0006 mg beim Zusetzen von nur 212—340 Millionen Stäbchen nicht ihre volle Kraft entwickelt. Dabei wurden nämlich nur 212—320 Millionen getötet. Wenn dagegen 382—510 Millionen zugesetzt wurden, so verendeten 340—350 Millionen. Es ist auffallend, daß im letztgenannten Fall, wobei 93—69 Proz. abgetötet wurden, die absolute Anzahl der getöteten Individuen ziemlich gleich blieb.

In der zweiten Hälfte der Tabelle III finden wir die Wirkung von 0,0005 mg Sublimat. Bei der Gegenwart von 212—382 Millionen Typhusstäbchen werden in jedem Versuche 210—220 Individuen getötet. Bei noch größerer Menge Bakterien scheint die Anzahl der Abgetöteten unregelmäßiger zu werden.

In Tabelle II und III ist die absolute Anzahl der abgetöteten Bakterien bei derselben Sublimatmenge nicht ganz gleich. In der ersten Tabelle töteten 0,0006 und 0,0005 mg bzw. 450 und 280 Millionen, in Tabelle III 340 und 240 Millionen. Es scheint dieses in der unvollkommenen Methode zu liegen. Die Zahlen haben jedoch ihren Wert.

Jetzt war es unsere Meinung festzustellen, wie viel Sublimat von den Typhusstäbchen absorbiert würde, und wie viel noch in der Flüssigkeit gelöst bliebe. Wir versuchten deshalb zuerst mittels Filtration durch Ton

die abgetöteten Stäbchen abzutrennen. Die Resultate wurden jedoch ungleichmäßig. Ob der Ton die Fähigkeit hat, etwas Sublimat zu absorbieren, haben wir nicht festgestellt. Dagegen glauben wir sicher, daß vorher benutzte Filter durch anhaftende Bakterien Sublimat absorbieren können. Aus diesen Gründen gingen wir zur Zentrifugierung über. Etwa 6—8 cm Flüssigkeit wurden in kleinen Röhren in einer Zentrifuge mit 7—8000 Umdrehungen in einer Minute so lange behandelt, bis die Flüssigkeit klar aussah.

Tabelle IV.

Typhuskultur	Emulgiert in Sublimatlösung	Zentrifugierte Flüssigkeit mit Typhuskultur versetzt					Emulgierter Bodensatz mit Typhuskultur versetzt				Emulgierter Bodensatz, folgenden Tag mit Typhuskultur versetzt		
		Anzahl der Oesen		Ueberlebende Individuen			Anzahl der Oesen		Ueberlebende Individuen		Anzahl der Oesen		Ueberlebende Individuen
		ccm	Oesen	ccm	Million.	Proz.	Oesen	ccm	Million.	Proz.	Oesen	Million.	Proz.
A. 3 Oesen	25	1	5	1,5	0,2	1	5	22,5	2				
5 "	25	1	5	1,16	0,1	1	5	0,05	0,0				
8 "	25	1	5	viel	—	1	5	0,25	0,0				
B. 4 "	25	1/2	2,5	0,00	0,0	1/4	2,5	0,00	0	1/4	0,00	0,0	
4 "	25	1	2,5	0,1	0,0	1	2,5	500	66	1	373,5	50	
4 "	25	2	2,5	250	16,5								
8 "	25	1/2	2,5	0,00	0,0	1/4	2,5	15,7	8,3	1/4	2,1	1	
8 "	25	1	2,5	22,5	3,6	1	2,5	373	50				
8 "	25	1 1/2	2,5	95	8,3								
12 "	25	1 1/2	2,5	15,7	4,2	1	2,5	423	56,4	1	83	11	
12 "	25	1	2,5	viel	—								
C. 4 "	25	1	5	0,9	0,1	1/4	2,5	3,7	0,5				
4 "	25	2	5	2,4	0,2	1	2,5	74	10				
4 "	25	4	5	41	1,3								
8 "	25	1	5	7,5	1	1/4	2,5	10	1,3				
8 "	25	2	5	1,1	0,1	1	2,5	160	21				
8 "	25	4	5	190	6								
12 "	25	2	5	800	53	1/4	2,5	95	50				

HgCl<sub>2</sub> 1:1000000 in Kochsalzlösung (0,8 Proz.) gelöst. Nach einer Stunde bei 37° wird die Emulsion zentrifugiert. Die neue Emulsion steht 24 Stunden in Zimmertemperatur, worauf die Anzahl der überlebenden Bakterien festgestellt wird. Der Bodensatz wird in Kochsalzlösung (0,8 Proz.) emulgiert und mit neuer Typhuskultur versetzt. Individuen in einer Oese: in A 1 Milliarde, in B und C 750000000. In A und B lebten die zuerst emulgierten Typhusstäbchen, in C waren sie durch Erhitzen bei 60° getötet. Die zu der zentrifugierten Flüssigkeit und zu dem Bodensatz zugesetzten Typhusstäbchen waren natürlicherweise lebend. In A wird der ganze Bodensatz emulgiert und für einen Versuch benutzt; in B und C kommt nur 1/4 des Bodensatzes auf jeden Versuch.

In Tabelle IV haben wir unsere Versuche zusammengestellt, die sowohl die Bakterizidie des Filtrates wie die des Bodensatzes zeigen sollten. Indessen läßt die Tabelle viel zu wünschen übrig. Unter anderem wurde die Anzahl der Individuen der Oesen erst den nächsten Tag bestimmt. Im ersten Teil A stirbt fast alles ab, wir haben zu viel Sublimat im Verhältnis zu der Anzahl der Bakterien benutzt.

In der Abteilung B wurden nun 48 oder 12 Oesen lebender Typhusstäbchen zugesetzt. In der Abteilung C sind der Oesen ebenso viele, aber die Stäbchen waren durch Erhitzen bei 60° abgetötet. Das Resultat ist in folgender Uebersicht vorhanden (p. 481).

Aus den Tabellen läßt sich entnehmen, daß mit zunehmender Anzahl Bakterien in der zuerst gemachten Emulsion die bakterizide Kraft der zentrifugierten Flüssigkeit abnimmt. In dieser Flüssigkeit bleibt immer weniger Sublimat übrig.

Ungefähre Anzahl der abgestorbenen Typhusbacillen in 25 ccm Sublimatlösung (0,025 mg Sublimat).

	In der ersten Emulsion	In der zentrifugierten Flüssigkeit	In dem Bodensatz	Summe
B. 1 (4 Oesen)	3000	+ 14 000	+ 1000	= 18 000 Millionen
2 (8 " )	6000	+ 10 000	+ 1500	= 17 500 "
3 (12 " )	9000	+ 4 000	+ 1300	= 14 300 "
C. 1 (4 " )	(3000)	+ 15 000	+ 3000	= 18 000 "
2 (8 " )	(6000)	+ 15 000	+ 2500	= 17 500 "
3 (12 " )	(9000)	+ 4 000	+ 400	= 4 400 "

In den vorliegenden Versuchen ist der Bodensatz viel weniger bakterizid, als die zentrifugierte Flüssigkeit.

Die vorher abgestorbenen Stäbchen (Versuch C) scheinen weniger Sublimat aufzunehmen und zu behalten als die lebenden Stäbchen.

Nach dem Versuche B sollte der Bodensatz, der 1 Tag alt ist, mehr Bakterien töten als der frisch bereitete Bodensatz.

Tabelle V.

Sublimatlösung und Typhuskultur		Zentrifugierte Flüssigkeit mit Typhuskultur versetzt						
Typhuskultur	Emulsion in ccm	Anzahl der		Abgestorbene Individuen in Proz.				
		Oesen	ccm	a	b	b'	c	c'
A. 1/4 Oese	15	1	5	99,8	99,25	100	98,2	99,64
	15	1	5	50	44	44	43,2	44
	2 Oesen	15	1	5	6,7	31,9	27,3	29
B. 0,4 Oese	15	1	5		88,2	88,5	97,5	97,8
	15	1	5		99,2	98,7	99,3	—
	15	1	5		56,6	53,2	50,8	48,5
	15	1	5		—	—	41,6	—
	15	1	5		45,5	36,2	—	30,8
	15	1	5		14,2	3,9	1,5	20,8

HgCl<sub>2</sub> 1:250000 gelöst in Kochsalzlösung (0,8 Proz.). Nachdem die Emulsion 2 Stunden bei 37° gehalten worden war, wurde zentrifugiert und zwar 2mal nacheinander in neuen Röhren. 5 ccm von der zentrifugierten Flüssigkeit sind mit 1 Oese Typhuskultur zugesetzt und wird 3 Stunden im Thermostaten gehalten. b und b' sind zwei gleiche Versuche von derselben zentrifugierten Flüssigkeit, ebenso c und c'. Im Versuche A a machte eine Oese 1500000 Individuen aus, in A b und c 110000000. in B 130000000.

In den Versuchen von Tabelle V nahmen wir weniger Sublimat und zwar 0,002 mg in 5 ccm. Wir geben zuerst die Tabelle in folgender Uebersicht wieder, aus der die ungefähre Anzahl der abgetöteten Typhustäbchen in Millionen sich ergibt.

In folgender Uebersicht sehen wir links von der senkrechten Linie die Anzahl der getöteten Individuen. Zuerst wird die Anzahl der in der ersten Emulsion getöteten angegeben und darauf dieselbe in der zentrifugierten Flüssigkeit, auf 15 ccm berechnet. Rechts von der Linie finden wir zuerst die eben genannten Zahlen auf 5 ccm Flüssigkeit bezogen. Einige dieser Zahlen wieder finden wir in Tab. II und III, wo wir sehen, daß 100—500 Mill. Typhusbakterien von etwa 0,00035—0,0006 mg Sublimat getötet werden. Das ist unser Berechnungsgrund der nach der Zentrifugierung zurückgebliebenen wirksamen Sublimatmenge. Da die ursprüngliche Sublimatmenge in 5 ccm 0,002 mg betrug, so läßt sich das Verhältnis zu der nach Zentrifugierung gebliebenen wirksamen Sublimatmenge berechnen und in Prozent angeben.

	in 15 ccm	in 5 ccm	Wirksame Sublimat- menge n. Tab. II u. III
A.	500 + 3300	1100	—
	1100 + 1300	400	— 0,00055 = 28 Proz.
	2200 + 900	300	— 0,0005 = 25 „
B.	500 + 3500	1200	—
	800 + 3900	1300	—
	1000 + 2100	700	—
	1300 + 1500	500	— 0,0006 = 30 „
	1500 + 1300	400	— 0,00055 = 28 „
	2100 + 400	100	— 0,00035 = 18 „

Hier, sowie in der vorhergehenden Tabelle finden wir, das mit zunehmender Anzahl der Typhusstäbchen in der ersten Emulsion die bakterizide Kraft der zentrifugierten Flüssigkeit abnimmt. Die Bakterizidie des Bodensatzes ist in dieser Tabelle nicht berücksichtigt. Die Summe der Organismen, die durch die Sublimatmenge getötet werden können, ist hier also nicht zu berechnen.

Es hätte sein ganz besonderes Interesse, das Verhältnis zwischen der Sublimatmenge in der ersten Emulsion und in der zentrifugierten Flüssigkeit kennen zu lernen. Wir haben deshalb mit Hilfe der Tabelle II und III berechnet, wieviel Sublimat in der zentrifugierten Flüssigkeit geblieben war. Wir finden auf diesem Wege, daß in 5 Versuchen 18—30 Proz. übrig geblieben waren.

Wenn dieses gefundene Verhältnis richtig ist, so konstatieren wir das wichtige Ergebnis, daß eine Bakterienmenge, die 70 Proz. des Sublimatvorrates zu absorbieren vermag, schon von 30 Proz. desselben Sublimates getötet werden kann. Die Bakterien sind also im stande, vielmehr Sublimat zu absorbieren, als diejenige Menge, die zu ihrer Vernichtung hinreicht.

Ogleich wir vollständig bewußt sind, daß die vorgeführten Untersuchungen sehr wenige Punkte genügend beleuchtet haben, haben wir sie jedoch veröffentlichen wollen. Wir sind nämlich in der nächsten Zukunft verhindert, die mühevollen Arbeit fortzusetzen. Es scheint uns auch wichtig, die Absorptionsverhältnisse bei der Desinfektion zu beleuchten. Wir hoffen, daß auf dem betretenen Wege die Gesetze der Verbindung zwischen Mikroorganismen und Desinfektionsmitteln einmal gefunden werden.

In diesen Untersuchungen fanden wir:

1) Die Wirkung des Sublimates nimmt verhältnismäßig schneller als die Dosis ab. Da z. B. 0,0006 mg fast eine halbe Milliarde Typhusstäbchen tötet, kann 0,0004 mg nicht eine viertel Milliarde vernichten.

2) Die absolute Anzahl der von einer Sublimatmenge getöteten Typhusindividuen kann konstant bleiben, obgleich innerhalb gewisser Grenzen größere oder kleinere Mengen Bakterien darin emulgiert werden.

3) Da größere Bakterienmengen in der Sublimatlösung innerhalb gewisser Grenzen emulgiert werden, bleibt weniger Sublimat in der Flüssigkeit zurück als bei kleineren Bakterienmengen.

4) Die in Sublimatlösung emulgierten Typhusstäbchen können bedeutend mehr Sublimat aufnehmen als die für ihre Vernichtung nötige Menge. Ein Teil des Ueberschusses kann an neu hinein emulgierte Typhusbakterien abgegeben werden.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber einige Hilfsmittel für bakteriologische Arbeiten.

[Mitteilung aus dem Untersuchungslaboratorium Reval.]


Von **Henry v. Winkler.**

Mit 1 Textfigur.

### I. Bequemste Herstellung reiner Deckgläschen.

Welchem Mikroskopiker macht es nicht Schwierigkeiten, stets über eine genügende Zahl von gebrauchsfähigen Deckgläschen verfügen zu können? Zumeist muß die gewöhnliche Methodik, das nasse Abreiben mit Alkohol und Aqua destill., erhalten. Dann haftet aber kein Tropfen Bakterienemulsion und läßt sich nachher beim besten Willen nicht gehörig ausbreiten. Nur sobald Massenuntersuchungen vorliegen, lohnt es, auf eine der zahllosen Vorschriften einzugehen und Zeit und Mühe anzuwenden, wobei im voraus auf so und soviel Prozent Bruchschaden gerechnet zu werden pflegt. Nicht häufig werden auch Laboratoriumsdiener zu finden sein, die genügendes Geschick für die gewiß nicht einfache Arbeit aufweisen. Man sehe sich etwa die von W. Kuntze<sup>1)</sup> gegebene Vorschrift an. Auf 30 Zeilen ist allein die Deckglasreinigung beschrieben, allerdings für den speziellen Zweck der Geißelfärbung. Angenehm wäre es freilich, für alle Zwecke mit so sauber geputztem Material versehen zu sein.

Die nachstehend beschriebene, seit Jahren im Untersuchungslaboratorium Reval geübte Methode des Ausglühens auf Glühflammen macht nun einen großen Teil der bisherigen Reinigungsvorschriften überflüssig und verfolgt noch Nebenzwecke, auf die weiter unten zurückzukommen sein wird.

Die zu reinigenden Deckgläschen, neue wie schon gebrauchte, werden in bekannter Weise mit konzentrierter Schwefelsäure und Kaliumbichromatlösung, am besten 1—2 Tage lang kalt mazeriert und so lange gespült, bis Methylorange dem Waschwasser keine rote Färbung mehr verleiht und bei Massenzubereitungen eventuell auf dem Ofen, an einem staubfreien Ort, getrocknet. Unmittelbar vor dem Gebrauch kommen sie einzeln oder zu mehreren auf das Glühpfännchen. Letzteres besteht aus einem Blechstreifen von rechtwinkelig paralleler Form und 0,08 bis 0,12 mm Stärke, dessen Rand an drei Seiten doppelt umgebogen ist. In der Schnittfigur bilden Rand und Bodenfläche der Pfanne die Form eines steif hingemalten Z []. Ausgeschlossen sind leicht schmelzige Metalle. Ein Zinnüberzug schadet nichts und ist für die Haltbarkeit nicht unvorteilhaft. Die Blechdicke darf nicht zu groß sein, damit die wärmespeichernde Kraft nicht zu lange anhält. Die Ausmaße können beliebig gewählt werden und zwar so, daß 2, 3 oder 4 Deckgläschen nebeneinander Platz haben. Zumeist hängt die Größe der Pfanne von der Qualität des Bleches ab. Manche vertragen das Ausglühen monatelang, ohne sich zu verbiegen, andere nehmen sofort die Fläche eines hyperbolischen Paraboloids an und eignen sich dann höchstens für das Ausglühen von 1 oder 2 Deckgläsern. Da der Kaufwert dieser Blechstreifen, eventuell Abfälle, minimal ist, dürfte auch ein Vorrat keine Schwierigkeiten verursachen. Das Zurechtschneiden und Zurechtbiegen

1) Diese Zeitschr. Abt. I. Bd. XXXII. 1902. p. 556.

läßt sich mit Hilfe jeder Papierschere bewerkstelligen. Weitere Handhaben, als der Rand der Pfanne sie bietet, also Extrahandgriffe anzubringen, wäre unzweckmäßig, da dadurch der Schwerpunkt unliebsam verlegt werden würde.

Wird das Ausglühen der vorgeputzten Deckgläschen bei der Schmelztemperatur des Bleies  $\frac{1}{2}$  Minute lang durchgeführt — der Anfänger möge es sich mit einem Stück Tarirschrot vormachen, dann haftet ein Tropfen fettfreien Wassers auf jeder Stelle des erkalteten Glases. Die Adhäsion ist eine vollständige und der Reinigungseffekt ein so vollkommener, wie man ihn nur wünschen kann.

Ein Springen der Deckgläschen findet fast nie statt. Zum Abkühlen wird das heiße Pfännchen offen auf einen hitzebeständigen Körper hingestellt oder, um die Sterilität zu wahren, unter eine Glasglocke gelegt.

Das Ausbreiten des Bakterienmaterials, das Auftragen von Farbfüssigkeit, das Imprägnieren in der Hitze geschieht mit großem Vorteil auf der Pfanne selbst, wobei die einfachsten Pincetten genügen und allen Schmutzereien vorgebeugt ist. Farbenklexe auf den Praktikantentischen des Untersuchungslaboratoriums, das, nebenbei gesagt, auch Unterrichtszwecken dient, gehören zu den größten Seltenheiten. Fließt Farbe vom Deckglas ab, beseitigt ein Ausglühen der Pfanne den Fehler.

Damit dürfte auch für den Nebenzweck: Vermeidung allen Umherspritzens bakterienhaltiger Materialien, Gewähr geleistet sein.

## II. Vorschläge zum Vereinheitlichen der Luftuntersuchung auf Staubbakterien.

Von den zur Zeit üblichen Untersuchungsmethoden, welche über die in der Luft befindlichen Bakterienkeime Aufschluß geben, dürfte immer noch das Prinzip des Luftdurchsaugens durch eine filtrierende Schicht und das nachherige Aussäen des Aufsaugmaterials am meisten Beachtung finden. Wie noch kürzlich gezeigt worden ist<sup>1)</sup>, bleiben in feinsten Flüssigkeitströpfchen abgesetzte Bakterien nur kurze Zeit entwickelungsfähig. Diese Fähigkeit hängt vorzugsweise von der Beschaffenheit des auffangenden Körpers ab und variiert außerordentlich nach dem Grade der Trockenheit und dem Vorhandensein kleinster Schlupfwinkel. Infolgedessen wird unter den Luftkeimen, welche in Sandfiltern nach Petri oder Ficker aufgefangen werden, eine Auslese stattfinden, abgesehen von den unvermeidbaren Fehlerquellen, welche die Wahl des Nährsubstrates und die zu wählende Entwicklungstemperatur ohnehin schon mit sich bringen. Einen Universalnährboden gibt es bekanntlich nicht. Die engere Wahl hängt jedesmal von dem speziellen Zweck der Untersuchung ab. Unter Verzicht auf das Feststellen der absoluten Keimmenge sind nur relative Werte erhältlich. Demzufolge müßte, analog der bakteriologischen Wasserprüfung, bei jeder pro Kubikmeter Luft gewonnenen Keimzahl der zur Feststellung benutzte Nährboden angegeben werden.

Im folgenden sollen diejenigen Fehler, die sich durch Regulieren des einzusaugenden Luftstromes und die Wahl des auffangenden Mediums vermeiden, zum mindesten verringern lassen, besprochen werden.

Es war bisher nicht üblich, die Saugöffnung bei den betreffenden

1) Stölting (Dissert. 1904) ref. d. Zeitschr. Abt. I. Bd. XXXV. 1905. p. 243.



Apparaten genau zu präzisieren. Nun steht die Geschwindigkeit des Einströmens oder mit anderen Worten das Mitreißen von Luftstaub einschließlich Bakterien in direkter Abhängigkeit von der Einströmungsöffnung. Beobachtete Unterschiede schwankten beträchtlich. Von 10 im hygienischen Institut Helsingfors benutzten Untersuchungsröhrchen wiesen 3 die lichte Weite von 9,1 mm, 4 die Weite von 9,5 mm und 3 zwischen 11,4 bis 11,5 mm auf. Soweit der Augenschein für die Beurteilung genügte, habe ich auch in Deutschlands größeren Instituten keine genauer präzisierten Rohröffnungen an dem genannten Apparatteil bemerken können. Dieser Umstand erklärt auch das Faktum, daß bis heute in den Katalogen namhafter Glasfirmen jegliche Angaben über innere Durchmesser etc. fehlen.

Zwei aus Berlin nach Reval bezogene Saugröhrchen, Modell Ficker, zeigten das Innenmaß von 8,7 mm.

Sollte die von Hesse geforderte Geschwindigkeit: 10 l in 20 Minuten eingehalten werden, dann resultieren:

	bei 11,5 mm Durchmesser	80,5 cm sec,
"	9,5 " "	117,2 " "
"	9,1 " "	127,6 " "
"	8,7 " "	139,7 " "

während die Geschwindigkeit des eingesaugten Luftstromes im Hesseschen Rohr bei 3,5 cm lichter Weite 0,9 cm sec beträgt. Das Verhältnis stellt sich wesentlich anders, wenn 10 l in 10 Minuten dieselbe Oeffnung zu passieren haben. In der vorstehenden Reihenfolge aufgezählt, ergeben sich dann, 1,61 m sec, 2,34 m sec, 2,55 m sec, 2,79 m sec.

Nun fragt es sich, welche Geschwindigkeit am zweckentsprechendsten bezeichnet werden soll. Vorschlagsweise mag die Minimalgröße zu wählen sein, bei welcher das Aufwirbeln und der Transport kleinster Staubteilchen sicher von statten geht. M. Neisser gibt eine solche von 19,7 cm sec für den Diphtheriebacillus<sup>1)</sup>, Honsell etwa 1 m für lose aufgelagerten feinsten Zimmerstaub an<sup>2)</sup>. Demnach dürfte die Geschwindigkeit von 1,666... (6) m sec genügen, wobei die Auffangöffnung genau 1 qcm betragen müßte, um 10 l Luft in 10 Minuten durchstreichen zu lassen. Mehr als 10 Minuten zur Manipulation des Durchsaugens anzusetzen, ist nicht angängig, da beim nachherigen Verarbeiten der Probe bis zum Starrwerden des Nährbodens immerhin einige Minuten vergehen dürften.

Mindestens ebenso wichtig wie die Regelung des einzusaugenden Luftstromes sind Form und Größe des Röhrchens. In jedem Falle erwünscht scheinen außer den genannten noch folgende Bedingungen:

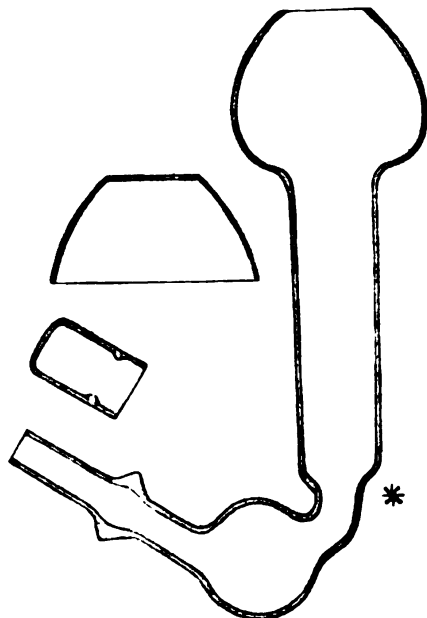
- 1) Beschränkung der Quantität des auszusäenden Materials auf ein Minimum;
- 2) Fixieren der Bakterien auf elektiven Nährböden;
- 3) sicher ausführbare Kontrolle der zuletzt passierten filtrierenden Schicht;
- 4) bequemes Sterilisieren;
- 5) Vermeiden aller Zwischenschaltungen von Drahtgeweben;
- 6) Handlichkeit und Billigkeit der Vorrichtung.

Von der bisher gebräuchlichen Form des Röhrchens muß dabei freilich abgewichen werden. In vorläufigen Versuchen bewährte sich umstehende Form.

1) Cit. nach Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. Bd. I. p. 168.

2) Arb. aus d. patholog. Inst. Tübingen. 1896. Bd. II. Heft 2.

Von der Mündung bis zum kugelförmigen Ansatz faßt das Röhrchen 11 ccm. Ueber die Größe der oberen Oeffnung, welche durch sorgfältiges Schleifen auf das gewünschte Maß gebracht werden kann, ist nach dem



$\frac{3}{4}$  natürl. Größe.

Dargelegten nichts hinzuzufügen. Zur Füllung bis obenhin sind Glaskugeln aus weißem Glase von 2 mm Durchmesser empfehlenswert. In die Einschnürung (bei \*) kommt vorher ein leichter Bausch Glaswolle, um den das eine Ende einer gedrehten Asbestschnur geknüpft ist. Das andere Ende des Fadens wird durch die untere Kugel zum dünneren Rohr hinausgeführt und etwa 1 cm darüber hinaus abgeschnitten. Schutzkappen aus Metall oder Glas überdecken beide Enden des Röhrchens und ermöglichen das Vorrätighalten in sterilisiertem Zustande. Unmittelbar vor dem Gebrauch werden die Glaskugeln mit  $\frac{3}{4}$ — $1\frac{1}{2}$  ccm Bouillon oder  $45^{\circ}$  warmer Gelatine mit der Vorsicht angefeuchtet, daß mindestens eine 1 cm Schicht über der unteren Einbuchtung (beim \*) vor und nach dem Luftdurchsaugen trocken bleibt. In die untere kugelförmige Erweiterung kommt 1 ccm

Nährbouillon. Zum Einbringen dient eine sterile Pipette, deren Ausflußspitze in die dünne Rohrmündung paßt. Die Schutzhülle ist für diesen Moment zu lüften, bleibt jedoch während des Durchsaugens an ihrem Platz. Bei vorsichtigem Neigen des Röhrchens feuchtet sich der Glaswollenbausch so weit an, daß die unter ihm liegende Kugel etwa halb gefüllt bleibt. Der Anschluß an die Saugvorrichtung ist durch Ueberstreifen eines Gummischlauches über die Schutzkappe und über die olivenförmige Verdickung zu bewerkstelligen. Symmetrisch angeordnete Dorne geben genügenden Spielraum für die durchströmende Luft.

Aus der gewählten Form des Saugröhrchens folgt, daß es ausschließlich senkrecht oder im Winkel von  $45^{\circ}$  gegen die Vertikale aufgestellt werden kann. Nach dem Durchsaugen wird zunächst der Asbestfaden mit dem anhaftenden Bausch hervorgezogen und in ein sterilisiertes Bouillonröhrchen hinabgleiten gelassen. Das Röhrchen dient als Kontrolle. Nur dann hat die Staubzählung Gültigkeit, wenn in der Kontrolle jegliches Wachstum ausbleibt.

Das Aussäen der mit Staubakterien beladenen Glaskugeln hat in bekannter Weise zu erfolgen. Zu beachten ist, daß nicht zu viel Perlen in die erste Aussaat hineinkommen, bei der Manipulation des Ausschüttens das Vermischen der oberen keimreichen Schichten mit keimärmeren nach Möglichkeit vermieden wird und daß nach dem völligen Entleeren wiederholt je 2 ccm Bouillon durch das enge Rohr eingegossen und unter langsamen Drehbewegungen durch die 1 qcm-Mündung in frische Nährböden ausgegossen werden. Es wird dadurch das Hinausspülen aller an den Rohrwandungen haftender Bakterien erreicht. Viermalige Spülungen genügen meistens, zur Sicherheit sind diese jedoch mindestens 6mal durchzuführen. Zum Schluß kann auch das Röhrchen

selbst, mit Nährboden beschickt, zur letzten Kontrolle herangezogen werden. Serien unter 12—15 Platten für die einmalige Untersuchung lassen sich kaum vermeiden.

Als Ansaugvorrichtung für die einzusaugende Luft haben sich immer noch am besten zwei mit einem Schlauch verbundene 10 l-Flaschen bewährt. Das eingewogene Wasserquantum wird bis auf die letzten Tropfen zum Ausfließen gebracht, wobei Barometerstand und Lufttemperatur zu berücksichtigen sind. Der im letzten Moment in der höher stehenden Ansaugflasche entstehende Unterdruck stellt sich bei richtiger Füllung des Saugröhrchens als eine zu vernachlässigende Größe heraus, wird aber besser durch Einschalten eines Differentialmanometers kurz hinter dem Saugröhrchen jedesmal neu bestimmt. Schwieriger als die bisher beschriebenen Manipulationen ist das Innehalten der Zeitdauer des Auslaufes. Zwei nah voneinander aufgesetzte Quetschhähne, von denen der eine zur groben, der andere zur feineren Einstellung dient, und eine hinreichende Anzahl Litermarken an den Flaschen selbst verhelfen am ehesten zum Ziel. So verschieden die Anfangsgeschwindigkeit und Endgeschwindigkeit sind, genügt es, die mittlere Geschwindigkeit als maßgebend anzusehen.

Es würde mich freuen, wenn die vorgeschlagenen Momente zur Vereinheitlichung bakteriologischer Luftprüfungen beitragen würden. In dem Sinne seien dieselben allen Fachgenossen zu weiterem Ausbau empfohlen.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber einige Eigenschaften des Endoschen Fuchsin-Agars.

[Aus dem Institute für allg. u. exp. Pathologie  
der k. k. Universität in Graz. (Vorstand Prof. Rudolf Klemensiewicz.)]

Von Dr. **Karl Fürntratt**,

k. k. Sanitätsassistent bei der steiermärk. Statthalterei.

Die Zahl der Nährböden und Kulturverfahren, welche die Differenzierung des Typhusbacillus von den ihn begleitenden Darmbakterien ermöglichen sollen, ist eine große. Seit Mitte der 80er Jahre schon sinnt man darauf, die morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten des Typhusbacillus bzw. der Coli-Bacillen, insbesondere die chemischen Umsetzungen, welche sie in Nährböden bewirken können, dazu heranzuziehen, um den Typhuserreger von den Coli-Arten in möglichst kurzer Zeit sicher und leicht unterscheiden zu können. Zur Diagnose der Typhuserkrankung selbst beanspruchen diese Bemühungen gegenwärtig nicht mehr ein so großes Interesse, seitdem wir in den spezifischen Reaktionen des Blutserums verhältnismäßig einfache und dabei zuverlässigere Mittel hierzu besitzen. Zur Isolierung von Typhusbacillen aus einigen anderen Medien, wie Wasser, Erdboden, Milch etc. dürften sie jedoch einmal ausgedehntere Verwendung finden können, wenn sich die Angaben über relative Typhusanreicherung durch Verwendung von Koffein- oder Malachitgrünlösungen etc. auch in größerem Umfange bestätigt haben werden.

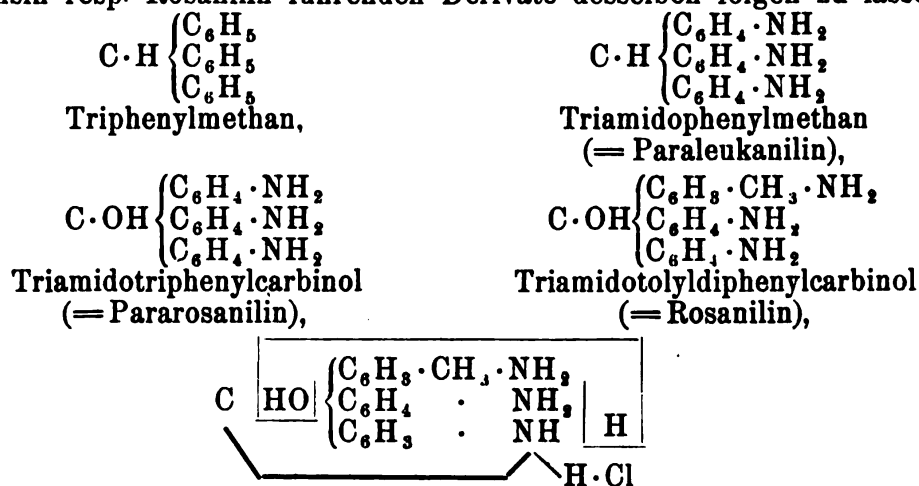
Wenn trotzdem immer wieder neue Kulturverfahren angegeben werden, die dem genannten Zwecke dienen sollen, so wird man von denselben wohl verlangen können, daß sie zu besseren Resultaten führen,

als dies die vielen bisherigen Methoden vermochten. Ob dies nun bei jenem Fuchsin-Agar zutrifft, welchen Endo<sup>1)</sup> vor einiger Zeit angab, scheint nach den bisherigen Erfahrungen hierüber noch keineswegs ausgemacht. Bei der Nachprüfung der Angaben, welche der Entdecker selbst über seinen Nährboden gemacht hat, kam Petkowitsch<sup>2)</sup> dazu, dem neuen Verfahren eine relative Brauchbarkeit zuzugestehen, während ihm R u a t a<sup>3)</sup> größtmögliche Unzuverlässigkeit vorwirft und M a r s c h a l l<sup>4)</sup> wiederum mehrere nicht unwesentliche Vorzüge anerkennt.

Bei den Versuchen, welche ich im hiesigen Institute mit dem Endo-Agar gemacht habe, traten so auffallende Erscheinungen bezüglich seines färberischen Verhaltens zu Tage, daß ich mich veranlaßt sah, vor Weiterführung meiner Kulturversuche den in Frage kommenden Farbenchemismus zu studieren. Dazu führte ich zahlreiche Reagenzglasversuche mit Fuchsinlösungen aus, deren Resultate ich im Nachfolgenden bekannt gebe, da die bisherigen Angaben darüber teils unvollständig, teils unzutreffend sind.

Wie bekannt bilden sowohl der Typhusbacillus als auch sämtliche Coli-Arten bei ihrem Wachstum in allen gegenwärtig gebräuchlichen Nährmedien Säure, und zwar die meisten Coli-Arten um vielmal (etwa 4—5mal) mehr als der Typhuserreger (entsprechend 8—10 Proz.  $\frac{1}{10}$  Normalsäure gegen 2 Proz.). Die Coli-Arten haben außerdem das Vermögen, den Milchzucker unter Bildung saurerer Produkte zu zerlegen, während der Typhusbacillus ihn nicht anzugreifen vermag. Auf Nährböden mit Milchzuckerzusatz werden also die Coli-Bacillen um sehr viel mehr Säure produzieren als die Typhusbacillen und dieser Unterschied ist die eine — übrigens schon vorher öfter benützte — theoretische Grundlage des Verfahrens, während die zweite in den Eigentümlichkeiten des dem Nährboden zugesetzten Farbstoffes, des Fuchsins, zu suchen ist.

Das Fuchsin ist der Hauptsache nach das salzsaure Salz des Rosanilins. Zum besseren Verständnisse dürfte es erwünscht sein, an dieser Stelle die Strukturformeln des Triphenylmethans sowie der zum Fuchsin resp. Rosanilin führenden Derivate desselben folgen zu lassen:



- 1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. p. 109.
- 2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. p. 304.
- 3) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. p. 576.
- 4) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. p. 347.

Im Fuchsin ist das Kohlenstoffatom des Methans mit dem Stickstoff einer der drei vorhandenen Amidogruppen vermittelt einer zweiten Bindung verankert, sowie dies die betreffende eckige Klammer in der zuletzt stehenden Formel ersichtlich macht. (Die neuere Formel, welche im Rosanilinmolekül eine chinoide Bindung zwischen dem Kohlenstoffatom und dem einen Stickstoffatom zur Darstellung bringt, wird hier übergangen.) Der Bestand dieser zweiten Bindung bedingt nun die rote Farbe der Substanz, denn sobald dieselbe durch chemische Umsetzungen irgendwelcher Art zu bestehen aufhört, geht auch die rote Farbe sofort verloren. Immer dann, wenn diese zweite Bindung besteht, übernimmt das Rosanilin bei der Salzbildung die Rolle einer Base, während es nach Zerfall der Bindung säurebildend auftritt. Das heißt mit anderen Worten: als Base bildet das Rosanilin rot gefärbte Substanzen, als Säure aber farblose.

Die rote Farbe einer Fuchsinlösung kann demnach durch verschiedene chemische Einwirkungen zerstört werden. Wir betrachten die folgenden:

- 1) Zusatz einer Natriumsulfitlösung;
- 2) Zusatz von Laugen;
- 3) Zusatz von Säuren.

ad 1) Natriumsulfit ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) bildet mit Fuchsin fuchsin-schweflige Säure, bezw. fuchsin-schwefligsaures Natrium, farblose Substanzen, welche ebenso wie das Natriumsulfit selbst sehr leicht zersetzlich, unbeständig sind. Eine Fuchsinlösung, zu der man so viel Natriumsulfitlösung zugesetzt hat, als eben zur Entfärbung notwendig ist, wird durch Zusatz geringster Mengen von Säuren und zwar sowohl mineralischer als auch organischer wieder schön rot gefärbt. Es wurden Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, ferner Bernsteinsäure, Weinsäure, Oxalsäure, Milchsäure und Essigsäure daraufhin geprüft. Die entstandene rote Farbe kann durch neuerlichen Zusatz von Natriumsulfitlösung wieder zum Verschwinden gebracht werden, aber auch durch weiteren Zusatz der betreffenden Säuren<sup>1)</sup>; im letzteren Falle ruft dann ein entsprechender Laugenzusatz die Rotfärbung sofort wieder hervor.

Die rote Farbe einer durch Natriumsulfitzusatz entfärbten Fuchsinlösung kann ferner wieder hergestellt werden durch Zusatz eines Aldehyds, z. B. Formalin, worauf die den Chemikern geläufige Verwendung der farblosen fuchsin-schwefligen Säure als empfindliches Reagens auf Aldehyde beruht. Die durch Aldehyd erzeugte Rotfärbung bleibt auch bei überschüssigem Zusatz desselben bestehen, ebenso bei Alkali- oder bei Säurezusatz und kann nur durch einen neuerlichen Natriumsulfitzusatz wieder ausgelöscht werden.

Eine durch Sulfit entfärbte Fuchsinlösung kann schließlich auch durch Erwärmen wieder rot gemacht werden, bleibt es auch bei anhaltendem Kochen, verliert aber beim Erkalten abermals die Farbe (wahrscheinlich Folgen von Dissoziationsvorgängen in der Lösung).

ad 2) Durch Zusatz von Laugen gelingt es, die rote Farbe einer Fuchsinlösung allmählich zum Verschwinden zu bringen. Dieselbe kann durch Erwärmen der Lösung nicht wieder hervorgerufen werden, wohl aber durch vorsichtigen Säurezusatz; durch ein Zuviel an Säure tritt wieder sofortige Entfärbung ein.

ad 3) Aber auch Säurezusatz zerstört die rote Farbe einer Fuchsin-

1) Nur bei den Versuchen mit Milchsäure und mit Essigsäure gelang es auch durch reichlichen Zusatz nicht, die rote Farbe wieder ganz zum Verschwinden zu bringen.

lösung. Es sind jedoch verhältnismäßig große Säurequantitäten dazu notwendig; von den organischen Säuren gelang es überhaupt nur bei Verwendung einer konzentrierten Oxalsäurelösung. In diesem letzten Falle trat auch beim Erwärmen der entfärbten Lösung die rote Farbe wieder hervor, während bei den durch mineralische Säuren entfärbten Proben die rote Farbe durch Erwärmen nicht wieder hergestellt werden konnte.

Der Endosche Nährboden wird nun in der Weise bereitet, daß einem durch Fuchsin rot gefärbten, milchzuckerhaltigen Nähragar gerade soviel Natriumsulfitlösung zugesetzt wird, daß er nach dem Erkalten und Erstarren sozusagen farblos erscheint<sup>1)</sup>. Auf diesem Nährboden wachsen nun nach der Angabe Endos die Typhusbacillen in zarten, farblosen Kolonien, während die Coli-Arten bei derselben Wachstumszeit größere und dunkelrot gefärbte Kolonien bilden, wobei die entstehende rote Farbe auch bis in weitere Entfernung in den Nährboden hinausdiffundiert. Durch diese überaus sinnfällige Erscheinung wäre die Unterscheidung von Typhus- und Coli-Kolonien sehr einfach, zumal der Unterschied schon nach 15-stündigem Verweilen der geimpften Platten im Brutschranke auftritt und die Coli-Kolonien sich überdies nach weiteren 10 Stunden mit einem grünschillernden (canthariden-ähnlichen) Häutchen überziehen.

Bei den Züchtungsversuchen, welche ich mit Laboratoriumsstämmen von Typhus- und Coli-Bacillen auf vorschriftsmäßig hergestellten Endo-Nährböden angestellt habe, zeigte sich folgendes Verhalten, wobei ich von einer detaillierten Wiedergabe der Versuchsreihen absehe, da dieselbe nur ungemein ermüdend ausfallen könnte.

Typhusbacillen wachsen für sich allein auf Platten mit gleichmäßiger Oberflächenaussaat (Glasspatel!) bei 20-stündigem Aufenthalte im Brutschrank zu zarten, durchscheinenden, flachen Kolonien aus, welche den umgebenden Nährboden nicht verfärben. Nach etwa 36 Stunden beginnen Kolonien sowie Nährboden eine sehr zarte Rosafärbung anzunehmen, besonders dann, wenn der Nährboden schon älter als zwei Wochen ist.

Wenn man eine Oese einer gewöhnlichen Typhusagarkultur auf einer Endo-Platte in parallelen Strichen abstreift, so gehen entlang dieser Striche zarte Kolonien an, die in Reihen angeordnet sind, mit den gleichen Eigenschaften und innerhalb des gleichen Zeitraumes wie bei der vorbesprochenen Impfungsart.

Der Coli-Bacillus wächst bei gleichmäßiger Oberflächenaussaat nach einem 12-stündigen Verweilen der Platte im Brutschranke in größeren, derberen, flachen, dunkelroten Kolonien, welche sich gleichzeitig auch mit einem roten Hofe umgeben, der sich rasch über den ganzen Nährboden verbreitet. Dort, wo die Kolonien dicht beisammen stehen, beginnt aber bereits nach einem weiteren 24-stündigen Wachstum eine

1) Bei einer vorgenommenen Prüfung, wieviel von der vorgeschriebenen 10-proz. Natriumsulfitlösung notwendig ist, um die Entfärbung einer Fuchsinlösung zu bewirken, hat sich ergeben, daß für eine wässrige Lösung, welche alle Ingredienzien (außer Bouillon und Stangenagar) in den entsprechenden Verhältnissen enthielt, die vom Autor verlangte Menge an Natriumsulfit ca. 5mal zu groß erschien, daß jedoch für den vollständig fertigen Nährboden erst die vorgeschriebene Menge Natriumsulfit zur Entfärbung hinreichte. — Bei längerem Stehen — wenn auch im Dunkeln — nehmen die oberflächlichen Schichten der abgeteilten Agarportionen allmählich eine rosenrote Färbung an; wenn der Nährboden einmal über 3 Wochen alt ist, so färbt er sich — auch im sterilen Zustande — in der Wärme des Brutschrankes lebhaft rot (Folgen der leichten Zersetzlichkeit der Sulfite).

Entfärbung sowohl der Kolonien selbst als auch des ganzen Nährbodens bemerkbar zu werden, welche im Laufe der nächsten Tage immer vollständiger wird. Dort, wo die Kolonien ganz isoliert stehen, bleibt ihre rote Farbe viel länger erhalten. In manchen Fällen, die ich allerdings bisher noch nicht genauer präzisieren kann, heben sich einzelne Coli-Kolonien schon vom Beginne ihres Wachstums an durch besonders tiefrote Farbe von den übrigen ab; sie sind es auch, welche sich alsbald mit einem grünschillernden Fuchsinhäutchen überziehen und bei denen nie mehr eine Entfärbung — auch nicht im umgebenden Nährboden — eintritt, die Rotfärbung vielmehr eine beständige ist.

Bei der Beschickung von Platten mit parallelen Coli-Strichen wachsen diese nach 12-stündigem Aufenthalte im Brutschranke zu dunkelroten, ziemlich breiten Streifen aus, welche den umgebenden Nährboden ebenfalls lebhaft rot färben. Nach einem weiteren Wachstum von 2×24 Stunden bemerkt man, daß diese breiten Coli-Streifen von den Rändern her ebenso wie auch der ganze Nährboden wieder zu verblassen beginnen. Bleibende Rötung der Kolonien oder Bildung eines grünschillernden Häutchens auf denselben wurde von mir bei dieser Art der Plattenbeschickung überhaupt niemals beobachtet.

Ueberimpft man nun ein Gemisch von Typhus- und Coli-Bouillonkulturen auf ein und dieselbe Platte, so treten recht wesentliche Abweichungen von den bisher besprochenen Farbenerscheinungen auf. Nach 12-stündigem Wachstum im Brutschranke ist dabei, bei dicht stehenden Kolonien, immer der ganze Nährboden gerötet; sämtliche Kolonien sind rot gefärbt und lassen in dieser Hinsicht keine Unterscheidung zu. Nach Ablauf weiterer 12 Stunden werden sowohl Nährboden als auch sämtliche Kolonien merklich blasser. Nur wenn es durch gehörige Verdünnung gelingt, ganz isoliert stehende Kolonien zu erlangen, so kann man nach etwa 20-stündigem Wachstum die Typhuskolonien wohl durch ihre lichtere Farbe — ganz farblos sind sie dabei nie gefunden worden — von den dunkelroten Coli-Kolonien zu diesem Zeitpunkte unterscheiden. Schon in den folgenden 12 Stunden werden aber die Typhuskolonien dunkler rot, während die meisten Coli-Kolonien vom zweiten Tage ihres Wachstums an bereits wieder zu verblassen beginnen. Auch bei dieser Versuchsanordnung heben sich in manchen, vorher nicht berechenbaren Fällen einzelne Coli-Kolonien durch eine bleibende tiefrote Farbe mit grünlichem Oberflächenschimmer von allen übrigen ab.

Beschickt man schließlich eine Endo-Platte in der Weise, daß man die eine Hälfte derselben mit Typhusstrichen, die andere mit Coli-Strichen versieht, so sah ich nach 12 Stunden an Stelle der Typhusstriche zarte, farblose Kolonien angegangen, den Nährboden der Typhushälfte ebenfalls farblos geblieben, während die Coli-Striche zu ziemlich breiten, roten Bändern ausgewachsen waren und auch der ganze Nährboden der Coli-Hälfte rot gefärbt erschien. Schon nach Ablauf der nächsten 12 Stunden erschienen aber die Coli-Bänder beinahe gänzlich entfärbt, ebenso der Nährboden um diese herum, während sich die Typhuskolonien, ebenso wie der ganze Nährboden der betreffenden Plattenhälfte intensiv rötete; diese Rötung verschwindet allerdings in den nächsten Tagen allmählich wieder.

---

Aus diesen bei meinen Versuchsreihen gewonnenen Resultaten über das Wachstum der Typhus- und Coli-Bacillen auf dem neuen Nährboden

ergeben sich also gegenüber den bezüglichen Angaben Endos bzw. Marschalls folgende Abweichungen:

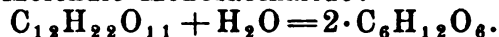
1) Die durch das Wachstum der Coli-Bacillen hervorgerufene Rotfärbung sowohl der Kolonien selbst als auch des ganzen Nährbodens kann — und zwar unter Umständen schon sehr bald — wieder verschwinden.

2) Wenn Typhus- gleichzeitig mit Coli-Bacillen auf ein und derselben Platte wachsen, so können sich auch die Typhuskolonien und der dieselben umgebende Nährboden rot färben. Bei gleichzeitigem Wachstum beider Arten auf einer und derselben Platte tritt ferner die Entfärbung der Coli-Kolonien viel rascher ein. Es beeinflussen sich also unsere beiden Bacillenarten beim gemeinschaftlichen Wachstum gerade in einer solchen Weise, daß die für jede Art aufgestellte Farbencharakteristik ihrer Kolonien geradezu umgekehrt werden kann, wobei noch die Wachstumszeit sowie die zufällige räumliche Entfernung der Kolonien voneinander eine Rolle spielt.

3) Nur in manchen Fällen, deren Vorbedingungen sich aber bis jetzt noch nicht ermessen lassen, zeichnen sich einzelne Coli-Kolonien durch besonders tiefrote Farbe aus, welche sie dann auch beim weiteren Wachstum ebenso wie der umgebende Nährboden dauernd beibehalten, und überziehen sich dabei mit einem grünschillernden Fuchsinhäutchen.

Punkt 1 erklärt sich aus dem eingangs besprochenen Verhalten von Fuchsinlösungen, die durch Sulfitzusatz entfärbt sind, ganz ungezwungen: eine gewisse, aber stets sehr mäßige Menge Säure ruft Rotfärbung hervor, ein weiterer Säurezusatz aber bedingt wieder Entfärbung.

Zur Erklärung der im Punkt 2 festgelegten Erscheinung, daß Typhusbacillen bei gleichzeitiger Beeinflussung des Nährbodens durch Coli-Kultur auch eine Rotfärbung veranlassen können, dient jenes Verhalten des Typhusbacillus, auf welches Barsiekow<sup>1)</sup> die Aufmerksamkeit lenkt, daß er nämlich imstande ist, den Traubenzucker unter Bildung von Säure anzugreifen. Traubenzucker, der allerdings in unserem Nährboden ursprünglich nicht vorhanden ist, bildet sich aber aus dem Milchzucker unter dem Einflusse der Coli-Säuerung und der Brutschranktemperatur durch die bekannte hydrolytische Spaltung der Disaccharide in 2 Moleküle Monosaccharide:



Ein Molekül Milchzucker (Laktose) zerfällt in je ein Molekül Dextrose (= Traubenzucker) und Galaktose.

Die so viel raschere Entfärbung der Coli-Kolonien bei gleichzeitig einwirkender Typhuskultur erscheint uns nun ebenfalls durch die vermehrte Säureproduktion leicht erklärbar, welche durch das vereinigte Wachstum beider Bacillenarten zu stande kommt.

Die schließlich im Punkte 3 erwähnte dauernde und intensive Rotfärbung der einzelnen Coli-Kolonien dürfen wir uns mit großer Wahrscheinlichkeit aus dem eingangs besprochenen Verhalten der durch Natriumsulfit entfärbten Fuchsinlösung erklären. Dortselbst haben wir gesehen, daß durch einen Aldehydzusatz eine Flüssigkeit, die fuchsin-schweflige Säure enthält, rot gefärbt wird und daß diese Färbung auch bei weiterem Zusatz desselben, sowie auch bei Säure- und bei Alkalizusatz dauernd bestehen bleibt. Die durch Aldehydzusatz erzeugte Rotfärbung der fuchsin-schwefligen Säure ist überhaupt die einzige,

1) Wiener klin. Rundschau. 1901. No. 44.



welche beständig ist, nämlich auch bei überschüssig zugesetztem Aldehyd bestehen bleibt, ferner unabhängig ist von der sauren oder alkalischen Reaktion der Lösung sowie auch von ihrer Temperatur. Da nun Traubenzucker seiner Struktur nach eine Aldose, d. i. ein die Aldehydgruppe COH enthaltendes Monosaccharid darstellt<sup>1)</sup>, so dürfen wir wohl annehmen, daß der in unserem Nährboden unter dem Einflusse der Coli-Säuerung entstehende Traubenzucker es ist, der die dauernde Rotfärbung einzelner Coli-Kolonieen bedingen kann und zwar als Folge der Aldehydreaktion, welche die Chemiker bisher schon unter manchen Versuchsbedingungen auch bei den Aldosen beobachtet haben. Daß diese meine Annahme die zutreffende sein dürfte, wurde mir durch das interessante Verhalten bestätigt, welches die in Rede stehenden tiefroten Coli-Kolonieen gegenüber Säuren einerseits und Natriumsulfitlösung andererseits zeigten. Bringt man nämlich mittelst einer in eine feine Spitze ausgezogenen Pipette auf diese Kolonieen Tropfen von Säuren, so wird ihre Farbe nicht geändert, tropft man hingegen auf gleiche Art Natriumsulfitlösung auf, so sieht man, wie sich die rote Farbe sowohl der Kolonieen als auch des Nährbodens zwar langsam aber beinahe gänzlich verliert. Die übrigen rot gefärbten Kolonieen wurden hingegen sowohl durch Säure- als durch Sulfitaufträufelung zur Entfärbung gebracht. Die bisherige Annahme, daß die tiefrote Farbe der Coli-Kolonieen die einfache Folge der Einwirkung der Coli-Säure auf das Rosanilin sei, ist daher nach dieser Auseinandersetzung überhaupt fallen zu lassen.

Durch die Ergebnisse meiner Versuche erscheinen mir einige Eigentümlichkeiten des Endoschen Fuchsinagars, der von Ruata einerseits und von Marschall andererseits so verschieden bewertet wird, unserem Verständnisse näher gerückt. Gleichzeitig hat sich aber auch ergeben, daß die differential diagnostische Bedeutung dieses Nährbodens, in seiner von Endo angegebenen Zusammensetzung, vorläufig einer sicheren theoretischen Grundlage entbehrt. Bei der großen Mannigfaltigkeit der bei der kulturellen Typhusdiagnose in Betracht kommenden Bakterien-species erscheint bei der Verwendung solcher Nährmedien große Vorsicht geboten.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber mechanische Luftreinigung geschlossener Räume.

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. von Niessen-Wiesbaden.

Mit 2 Figuren.

Gegenüber den Methoden der verschiedenen Zimmerlüftungsanlagen durch Ventilatoren möchte ich heute kurz auf zwei einfache Arten der mechanischen Luftreinigung hinweisen, welche für Schulen, Krankenhäuser, Werkstätten und Restaurationsräume von größter hygienischer Bedeutung sind. Dieselben, soweit bekannt, verdienen wegen der außerordentlichen Einfachheit größere Beachtung als bisher. Es wäre müßig, über den gesundheitlichen Wert reiner Luft in den Wohn- und Aufent-

1) Traubenzucker:  $[\text{CHOH}]_4 \cdot \text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{COH}$ .

haltsräumen noch Worte zu verlieren, wengleich hier beim „Reinemachen und Lüften“ eigentlich in jedem Haushalt noch sehr viel gesündigt wird. Lufterneuerung mit Filter, und Feuchtigkeitsapparaten sind kostspielige, in Theatern, Parlamenten und bei einigen bevorzugten Hausbesitzern geschätzte Anlagen. Was sich indes jeder, auch der bescheidenste Haushalt leisten kann, um mit den einfachsten Mitteln die Zimmerluft zu reinigen und zwar beliebig oft, leicht, mit geringfügigen, kaum nennenswerten Kosten, ist folgendes: Jeder hat schon die erfrischende, belebende, reinigende Wirkung des Regens auf die atmosphärische Luft an sich erfahren. Liegt es nicht nahe, solches in modifizierter Weise für die im Zimmer tags und nachts geatmete Luft nachzumachen? Viel, anstrengend und anhaltend in meinem kleinen bakteriologischen Privatlaboratorium tätig, fiel es mir auf, daß jedesmal, wenn der Kochsche

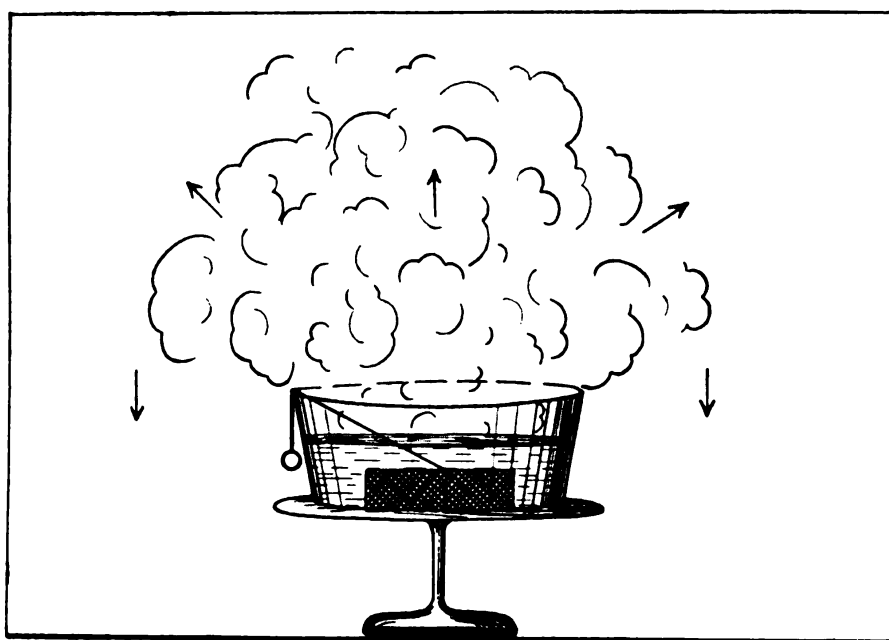


Fig. 1.

Dampfkochtopf einige Zeit in Tätigkeit [war, die sonst gerade im Laboratorium leicht verbrauchte Luft eine bessere, reinere war. Das ist natürlich, der Dampf mit seinen Milliarden kleinster Wassertropfen steigt in die Höhe, verteilt sich im Raum, beschlägt die Fensterscheiben, schlägt sich wieder nieder und reinigt so die Luft, ähnlich wie der Regen, nur doppelt, auf, und abwärts. Man braucht hierzu keinen Dampfkochtopf, ein jedes, das einfachste Wasserverdampfungsverfahren tut dieselben Dienste. Besonders zweckmäßig ist das bekannte Verfahren, in ein Gefäß heißen Wassers einen erhitzten Ziegelstein zu legen. Es entsteht so eine lange anhaltende Dampfentwicklung, die hinreicht, mehrere Räume hintereinander, je nach Kubikraum, mechanisch zu reinigen. Polierte Möbel deckt man vorher zweckmäßig zu. Diese einfachste Art Zimmerregen hat sogar quasi desinfizierende Eigenschaft, wie durch einfache bakteriologische Kontrollversuche von Aspiration gleicher Luftmengen durch mit Nährböden beschickte Glasröhren vor und nach der Luftreinigung gezeigt werden kann. Es genügt sogar,

die innerhalb einer Stunde etwa vor der Dampfentwicklung und die in der gleichen Zeit nach derselben auf offen hingestellten, mit Gelatine oder Agar beschickten Petri-Schalen sich entwickelnden Luftkeime zu vergleichen, um den Vorteil dieser einfachen Art Luftreinigung zu demonstrieren. Natürlich handelt es sich dabei lediglich um ein Niederschlagen der Luftkeime, die am besten nach der Prozedur mit heißem Schmierseifenwasser an dem mit Linoleum gedeckten Boden aufgenommen werden. Auch der neue Wassmuthsche<sup>1)</sup> Inhalationsapparat kann als Luftreiniger dienen. Nach Untersuchungen, welche damit von Dr. Gerlach im Institute von Prof. Meinicke u. Gen.-Wiesbaden angestellt wurden, fand man als Durchschnittsresultat pro Quadratcentimeter Objekträgerfläche, welche 2—3 $\frac{1}{2}$  m vom Apparate exponiert worden war, in

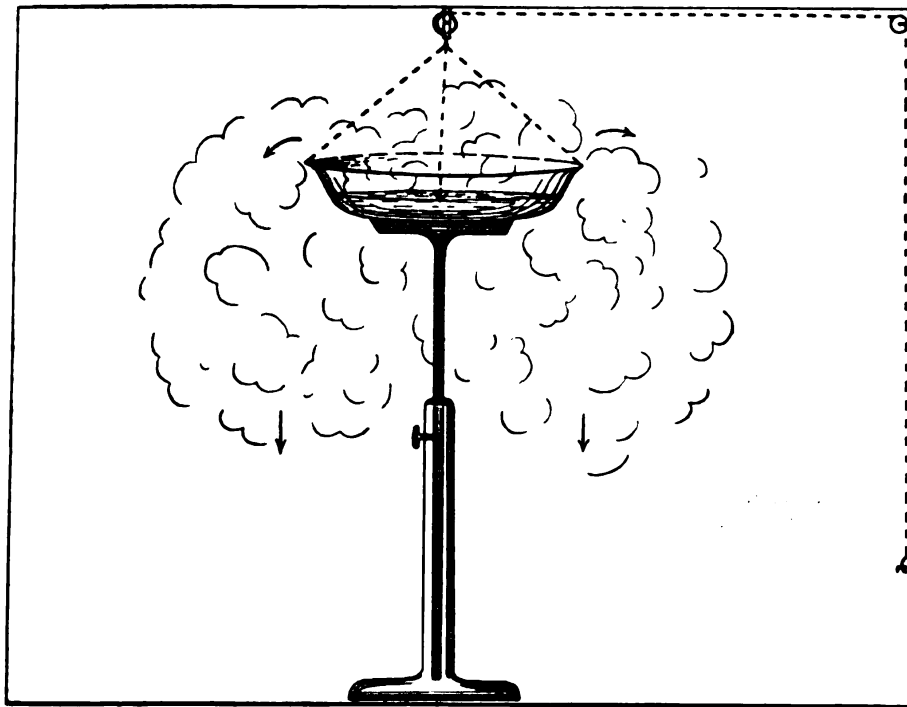


Fig. 2.

$\frac{1}{2}$  Minute über 70000 Tröpfchen, von denen über die Hälfte kleiner war, als  $\frac{1}{5}$  eines roten Blutkörperchens, also etwa gleich einem Mikron.

Ein im ganzen äquivalenter Luftreinigungsprozeß, der sich zumal im Sommer und dort, wo es sich nicht um sehr große Räume handelt, empfehlen dürfte, ist der mit Luft, und zwar mit dem Verdunstungsrauch der flüssigen Luft. Derselbe hat vermöge seiner Schwere die Tendenz, in der atmosphärischen Luft niederzusenken. Eine mit flüssiger Luft gefüllte Schale in der Nähe der Decke angebracht, läßt ihre Rauchwolken so lange zu Boden sinken, als flüssige Luft verdunstet, und auf diese Weise vollzieht sich eine stete mechanische Luftfegung durch die flüssige Luft selbst, die wieder zur Luft wird. Eine bessere

1) Siehe hierzu: Zeitschr. f. Krankenpflege. 1904. No. 3 und Monatsschr. f. prakt. Wasserheilkunde. 1904. No. 12. München.

Lüftung und Lufterneuerung kann man sich kaum vorstellen. Das Verfahren ist bei einiger Vorsicht gefahrlos, durchaus nicht kostspielig, wenn man bedenkt, was dadurch erreicht wird, und überall, wo die flüssige Luft erhältlich, leicht und ohne besonderen Apparat anwendbar. Da flüssige Luft  $-190^{\circ}$  C hat, käme als weiterer unschätzbare Faktor die Kühlung hinzu. Ein Liter flüssige Luft kostet jetzt ab Werk<sup>1)</sup> 2 M., verliert durch Verdunstung in Dewarschen Flaschen 8—10 Proz. in 24 Stunden und braucht zur Verdunstung darin bis zu 14 Tagen. In offenen Schalen, worum es sich bei der Zimmerluftreinigung handeln würde, wäre die Verdunstung naturgemäß eine raschere, worauf es ja dabei ankommt. Die flüssige Luft wird unter anderem fabrikmäßig hergestellt in Höllrigelsgreuth (Gesellsch. f. Lindes Eismaschinen), in den Höchster Farbwerken und bei der Gesellschaft für Markt- und Kühlhallen, Berlin SW., Trebbinerstr. 5. Sie wird durch Fracht verschickt und ist leicht zu beziehen. Die billigsten Luftverflüssigungsmaschinen, deren Beschaffung für größere Krankenhausanlagen sich empfehlen dürfte, kosten bei der Gesellschaft für Lindes Eismaschinen (Filiale in München, Nymphenburgerstr. 76) 4000 M. und geben 0,75 l flüssige Luft pro Stunde. Bei größeren Verflüssigungsanlagen von 1000 kg pro Tag berechnet Prof. v. Linde<sup>2)</sup> die Kosten für 1 kg flüssige Luft theoretisch auf 10 Pfg.

Zwei einfachere Verfahren zur mechanischen Zimmerluftreinigung kann man sich kaum vorstellen. Dieselben sind sogar bis zu einem gewissen Grade unabhängig von der Qualität der Außenluft.

Diese Zeilen haben den Zweck, zu recht zahlreichen Versuchen anzuregen.

Die umstehenden Zeichnungen sollen den Vorgang dieser zwei Arten mechanischer Zimmerluftreinigung halbschematisch skizzieren.

1) Z. B. bei der Gesellschaft für Markt- und Kühlhallen in Berlin.

2) Zeitschr. d. Ver. deutscher Ingenieure. Bd. XLIV.

### Inhalt.

- |  |   |
|--|---|
| <p><b>Almquist, E. und Troili-Petersson, Gerda</b>, Quantitative Desinfektionsversuche, p. 477.</p> <p><b>Ankersmit, P.</b>, Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes, p. 359.</p> <p><b>Bertarelli, E.</b>, Experimentelle Untersuchungen und Beobachtungen über die Tollwut, p. 399.</p> <p><b>Bosc, F. J.</b>, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). III. (Forts.), p. 389.</p> <p><b>De Waele, H. et Vandevalde, A. J. J.</b>, Sur les ferments protéolytiques des microbes et une méthode d'évaluation quantitative de la liquéfaction de la gélatine, p. 353.</p> <p><b>Friedberger, E. und Moreschi, Carlo</b>, Vergleichende Untersuchungen über die aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Cholera und Typhus, p. 453.</p> <p><b>Fürntratt, Karl</b>, Ueber einige Eigenschaften des Endoschen Fuchsin-Agars, p. 487.</p> | <p><b>Karwacki, L.</b>, Beitrag zur Kenntnis der Geschwulstflora, p. 369.</p> <p><b>Klein, Arthur</b>, Ueber Erythrocytenpräzipitin und andere Immunprodukte einzelner Bestandteile des Blutes. (Schluß.), p. 438.</p> <p><b>Looss, A.</b>, Notizen zur Helminthologie Aegyptens. VI., p. 409.</p> <p><b>Mereshkowsky, S. S.</b>, Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal, p. 380.</p> <p><b>von Niessen</b>, Ueber mechanische Luftreinigung geschlossener Räume, p. 493.</p> <p><b>Pettersson, Alfred</b>, Ueber die bakterioiden Leukocytenstoffe und ihre Beziehung zur Immunität, p. 423.</p> <p><b>Russ, Victor K.</b>, Ueber ein Influenzabacillen-ähnliches anaërobes Stäbchen, p. 357.</p> <p><b>Tissoni, Guido und Bongiovanni, Alessandro</b>, Die Behandlung der Wut mittels Radiumstrahlen, p. 473.</p> <p><b>v. Winkler, Henry</b>, Ueber einige Hilfsmittel für bakteriologische Arbeiten, p. 483.</p> |
|--|---|

*Nachdruck verboten.*

**Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.**

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

**III. Zur Aetiologie der Peritonitis.**

**II. Mitteilung.**

Von Dr. Anton Ghon und Dr. Victor Mucha.

Mit 1 Tafel.

In der ersten Mitteilung über diesen Gegenstand haben wir auf die Bedeutung hingewiesen, die unter den anaëroben Bakterien dem zuerst von Welch beschriebenen Bacillus zukommt. Gleichzeitig konnten wir an der Hand eines dort näher beschriebenen Falles zeigen, daß es noch andere anaërobe Bakterien giebt, die Peritonitis hervorzurufen im stande sind. Der mitgeteilte Fall war um so wichtiger, als die Untersuchung in einwandfreier Weise ergeben hatte, daß die peritoneale Infektion eine Monoinfektion darstellte und als Ursache dieser einen Bacillus erkennen ließ, der sicher nicht den von uns besser gekannten Anaëroben zugehört. Das morphologische Verhalten des beschriebenen Bacillus im Peritonealexsudate hätte eher dazu führen können, zunächst an einen Angehörigen der großen Gruppe des *Bacterium coli commune* zu denken als an ein Anaërobion. Der Fall ist demnach ganz wohl geeignet, uns in der Annahme zu stützen, daß die für den Menschen pathogene Anaërobenflora größer sei, als man gemeinlich annimmt. Der Fall beweist uns aber wieder aufs neue, wie vorsichtig wir bei der Verwertung der Morphologie der Bakterien in Hinsicht auf die Diagnosenstellung verfahren müssen, damit wir nicht Gefahr laufen, Irrtümer zu begehen.

Im folgenden erlauben wir uns, einen zweiten Fall von akuter Bauchfellentzündung mitzuteilen, der gleichfalls durch ein Anaërobion hervorgerufen wurde. Auch dieser Fall stellt eine Reininfektion dar, aber durch eine Bakterienart, die morphologisch an den Bacillus von Welch-Fraenkel erinnerte. Erst wieder die Kultur hat den sicheren Beweis dafür erbracht, daß der gefundene Bacillus nicht mit dem Stäbchen von Welch-Fraenkel identisch ist, sondern einer anderen Art angehört.

**Krankengeschichte (Auszug)<sup>1)</sup>:**

Therese K., 50-jähr. Tagelöhnerin. Seit einem Jahre Beschwerden im Unterleib, die in letzter Zeit heftiger wurden, dazu Urinbeschwerden mit Inkontinenz und hartnäckige Obstipation. Abmagerung.

Die klinische Untersuchung ergab: Emphysem der Lungen, Uterus in Anteflexion eleviert, einen kindskopfgroßen, harten, höckerigen, teilweise elevierbaren Tumor im Douglas rechts, einen kleineren, harten links im unmittelbaren Zusammenhang mit dem Uterus und einen dritten Tumor links und hinten, vom Uterushals entspringend (Myome).

Am 28. Sept. 1904 wurde in Schleichscher Narkose nach medianem Sagittalschnitt der nirgends adhärente Tumor entwickelt und abgetragen (Assistent Dr. Bürger)

1) Diese wurde uns von der I. gynäkologischen Universitätsklinik (Prof. Schauta) gütigst zur Benützung überlassen.

In der Nacht vom 28. Sept. zum 29. Sept. mehrmaliges Erbrechen, großes Durstgefühl, leichte Unruhe. Temperatur 37,4, Puls 108.

Am 29. Sept. Nachmittag Dispnöe, Puls 144. Abdomen dabei nicht aufgetrieben und nicht druckschmerzhaft. Zunge feucht. Gesichtsausdruck verfallen.

Am 30. Sept.: Temperatur 37,1, Puls ca. 140, kaum zählbar. Septischer Gesichtsausdruck. Subikterisches Kolorit. Singultus. Abdomen kaum aufgetrieben, nicht druckschmerzhaft. Kollaps ohne Bewußtseinsverlust.

Am 30. Sept. 6 Uhr p. m.: Exitus letalis.

Obduktionsbefund, 14 Stunden nach dem Tode (Dr. A. Ghon):

Diffuse hämorrhagisch-fibrinöse Peritonitis nach Totalexstirpation des Uterus und seiner Adnexe durch Laparotomie (28. Sept. 1904) wegen Myomen des Uterus. Partielle fettige Degeneration der Leber. Trübe Schwellung der Nieren. Schwierige Induration beider Lungenspitzen nach Tuberkulose mit Adhäsion. Anthrakose und Induration der broncho-pulmonalen Lymphdrüsen. Narben an der kleinen Kurvatur des Magens nach peptischen Geschwüren. Schnürfurche der Leber. Adenomknoten der Schilddrüse. Laparotomiewunde.

Das Abdomen nur leicht aufgetrieben. Die Darmschlingen mäßig gebläht, an ihren Berührungsstellen durch hämorrhagisch-fibrinöse Exsudatmassen verklebt. Die Serosa der Darmschlingen sonst glänzend, gerötet. In den abhängigen Partien der Bauchhöhle trübe, rötliche, leicht sauer riechende Flüssigkeit.

Mikroskopischer Befund des Peritonealexsudates:

Mäßig viele ein- und mehrkernige Leukocyten, dazu in nicht sehr reichlicher Menge Bacillen, anscheinend einer Art; sie gleichen im allgemeinen den von Welch und Fraenkel beschriebenen Bacillen, nur erscheinen sie etwas schmaler als letztere, zeigen abgerundete Enden, sind meist gerade, seltener leicht gebogen, einzeln, zu zweit und dann oft in stumpfen Winkeln zueinander gelagert. Die überwiegende Mehrzahl der Bacillen erscheint Gram-positiv, eine geringe Anzahl hat die Kontrastfarbe (Fuchsin) angenommen (Gram-negativ). Diese erscheinen ein wenig schlanker als die Gram-positiven. Ab und zu trifft man auf ein Doppelstäbchen, bei dem der eine Bacillus dunkelviolet (Gram-positiv), der andere hingegen rot (Gram-negativ) gefärbt ist.

Andere Bakterien sind nicht nachweisbar (Fig. 1).

Kultureller Befund:

1) Agarplattenstrichkulturen (aërob) vom Herzblute: steril.

2) Zuckeragarschüttelkulturen (anaërob) vom Herzblute: steril.

3) Agarplattenstrichkulturen (aërob) vom Peritonealexsudate: steril.

4) Zuckeragarschüttelkulturen (anaërob) mit Verdünnung vom Peritonealexsudate: Schon nach 24 Stunden (37° C) ziemlich reichlich kleinste Kolonien anscheinend einer Art, ausschließlich anaërob, ohne Vergärung. Erst am 3. Tage spärliche Gasbildung.

Histologisch-bakteriologischer Befund:

Zur Untersuchung gelangten mehrere Stücke (4) des Dünndarms mit Exsudat-auflagerungen. Die Gewebestücke wurden unmittelbar nach der Sektion, nachdem der Darm schon an mehreren Stellen eröffnet war, in einem Gemisch von Müllerscher Lösung und Formol (10 Proz.) konserviert und in steigendem Alkohol gehärtet. Die Einbettung erfolgte ausschließlich in Paraffin, die Färbung der ca. 5 µ dicken Schnitte mit Hämalaun-Eosin, nach Gram und Gram-Weigert, mit Boraxmethylblau und mit Kresofuchsin.

An den senkrecht zur Wand des Darmes geführten Schnitten erschien die Serosa meist verbreitert und ohne Deckepithel. An jenen Stellen, die schon makroskopisch Exsudatbeschläge erkennen ließen, zeigte die Serosa erweiterte Blut- und Lymphgefäße, sowie mono- und polynukleäre Rundzellen, einzeln oder in kleinen Gruppen. Typisches Deckepithel war auch hier nicht sichtbar, doch fand man an der Exsudatgrenze stellenweise einzelne platte Zellen, die nach ihrer Anordnung und nach ihrem Aussehen als Deckzellen angesehen werden konnten.

Das der Serosa aufgelagerte Exsudat bestand dort, wo es in dünner Schicht vorhanden war, aus einem verschieden breiten, eosinroten Balkenwerk mit kleinen Maschenräumen, die ein- oder mehrkernige Rundzellen, manchmal aber eine feingekörnte, mit Eosin hellrot gefärbte Masse enthielten. Das Balkenwerk erschien in den nach Gram-Weigert gefärbten Schnitten deutlich hellviolett. An den anderen Stellen ließ das Exsudat zuweilen eine deutliche Schichtung erkennen: dann zeigte nur die der Serosa unmittelbar anliegende Partie ein deutliches Balkenwerk, die dieser aufliegende breite zweite Schicht neben ein- und mehrkernigen Rundzellen dicht zusammengeballte rote Blutkörperchen, während die oberste, gleichfalls breite Exsudatschicht vorwiegend aus einer gleichmäßig feingekörnten, eosin hellroten Masse bestand, die ein- und mehrkernige Rundzellen und kleinere Lücken zeigte. In diesen Lücken lagen dicht gehäuft mehrkernige Rundzellen.

An den Stellen mit dicker Exsudatschicht war das Balkenwerk grobmaschig und zart, seine Maschenräume enthielten neben feingekörnten, eosin hellroten Massen nur wenige zellige Elemente oder aber reichlich ein- und mehrkernige Rundzellen und zwischen diesen nur fleckweise kleinere Anhäufungen der erwähnten gekörnten Massen.

Die einkernigen Rundzellen hatten meist einen dunkel gefärbten Kern (Hämalaun) und ein nicht sehr breites Protoplasma. Doch sah man nicht so spärlich auch größere einkernige Zellen mit großem, hellgefärbtem, rundem oder rundlichem Kern und breitem Protoplasma.

Die Muscularis, Submucosa und Mucosa ließen keine besonderen Veränderungen erkennen.

Die elastischen Fasern waren in der Submucosa und Muscularis auch in ihren feinsten Verzweigungen deutlich gefärbt, ebenso in der Serosa. Gegen die Exsudatgrenze zu zeigte diese eine deutliche fortlaufende Schicht von elastischen Fasern, die nur an einzelnen Stellen unterbrochen erschien.

In den nach der Methode von Gram-Weigert gefärbten Schnitten fand man der Mucosa aufgelagert ein reichliches Bakteriengemenge aus Bacillen und Kokken, in der der Serosa aufliegenden Exsudatschicht nur in mäßig reichlicher Menge Bacillen einer Art, die gleichmäßig dunkelviolett gefärbt erschienen. Diese Bacillen waren ungleich lang und entsprachen in Hinsicht auf ihre Form den im Deckglaspräparate aus dem Peritonealexsudat beschriebenen Formen. Am reichlichsten fand man diese Bacillen an der Grenzzone des Exsudates gegen die Serosa zu, zum Teil auch noch in den oberflächlichen Schichten der Serosa selbst.

An einzelnen Stellen konnte man auch noch in der Muscularis Bacillen finden, die den im Exsudate gefundenen glichen, nur etwas schmaler und nicht so gleichmäßig Gram-positiv, sondern mehr gekörnt erschienen. Andere Stellen der Muscularis waren ganz frei von Bacillen.

Andere Bakterien waren innerhalb des Exsudates und der Serosa nicht sichtbar. Nur an der Oberfläche des Exsudates konnte man an einzelnen Stellen neben anorganischen Bestandteilen und mit diesen vereint in mäßiger Menge kleine Kokken, schmale Bacillen und sporenhaltige Bacillen finden (Kotmassen mit Bakterien des Darms).

Auch in den Schnitten, die mit Boraxmethylblau gefärbt waren, fand man im Exsudate außer den Bacillenformen, die schon in den nach Gram-Weigert gefärbten Präparaten nachgewiesen wurden, keine anderen Bakterien.

Der isolierte Bacillus zeigte folgende Eigenschaften:

**Morphologisches Verhalten:** Im Exsudate aus der Bauchhöhle des Menschen (Fig. 1) erschien der gefundene Mikroorganismus als ein Stäbchen, dessen Länge zwischen 3 bis gegen 7  $\mu$  und dessen Breite um 0,6  $\mu$  schwankte. Dabei war die Breite des Bacillus eine gleichmäßige. Die Stäbchen zeigten abgerundete Enden und waren gerade oder leicht gebogen. Stärkere Krümmung fand sich nicht vor. Sie lagen entweder einzeln oder häufig auch als Diplobacillen. In diesem Falle standen die Längsachsen beider Bacillen in einer geraden Linie

32\*

oder aber in einem stumpferen oder spitzeren Winkel zu einander. Fäden fehlten.

Die gleichen Formen fanden sich auch in den Schnittpräparaten aus der Peritonitis.

Im Tierkörper, und zwar in dem peritonealen Exsudate von weißen Mäusen, konnte man neben den bisher beschriebenen Formen recht häufig auch ungegliederte Fäden nachweisen. Diese erreichten meist eine sehr beträchtliche Länge, bis zu  $100\ \mu$  und darüber, ja einzelne liefen fast durch das ganze Gesichtsfeld des Mikroskopes. Die Fäden waren selten völlig gerade, häufiger gebogen oder gewunden oder flach gewellt. Viele zeigten neben größeren Windungen bezw. Krümmungen noch kleinere flache. Neben den ungegliederten Fäden sah man auch gegliederte, doch waren diese nie so lang wie jene. Außerdem fanden wir häufig im Tierkörper kurze Formen, oft kaum doppelt so lang als breit,  $1,5\ \mu$  und kürzer. Die Größenunterschiede in den Präparaten aus dem Peritonealexsudate vom Tiere waren demnach auffälliger und reichlicher als im Exsudate vom Menschen. In der subkutanen Oedemflüssigkeit beim Meerschweinchen vermißten wir in der Regel Fadenbildung, und wenn sie nachweisbar war, erreichten die Fäden niemals die Länge wie im Peritonealexsudate der weißen Mäuse.

Bei den Vögeln fanden sich meist kurze Formen. Fäden sah man nur spärlich und dann waren sie kurz und ungegliedert.

Hinsichtlich der Formen konnten wir im Tierkörper keine wesentlichen Differenzen bemerken gegenüber den beim Menschen gesehenen. Manchmal allerdings erschienen sie im tierischen Organismus etwas breiter als im menschlichen und dann zeigten sich einzelne der Bacillen gegen das eine Ende zu leicht verdickt. Auch im Tierkörper sahen wir keine irgendwie charakteristische Lagerung der Stäbchen zueinander. Nur wenn die Anzahl der nachweisbaren Bacillen eine sehr große war, fand man nicht selten die kurzen Stäbchenformen parallel zueinander gelagert.

In jungen Zuckeragarkulturen (1—2 Proz. Traubenzucker) fanden sich im allgemeinen Bacillenformen ähnlich den bisher beschriebenen kurzen Formen. Ihre Größenunterschiede waren gering, Fadenbildung fehlte oder war nur spärlich und in kurzen Formen vorhanden. Das mikroskopische Bild dieser Kulturen war daher meist ein eintönig gleichmäßiges. Ausnahmsweise ließen sich allerdings auch in jungen Kulturen gegliederte und ungegliederte Fäden nachweisen, gerade oder gebogen, nicht selten wie abgeknickt oder in eigentümlichen Winkelstellungen. In älteren Traubenzuckeragarkulturen wurde das mikroskopische Bild vielgestaltiger: neben gleich- oder ungleichmäßig breiten, meist ungegliederten Fäden, die gerade, gewunden oder verschlungen waren und häufig ganz enorme Längen erreichten, so daß sie das Gesichtsfeld des Mikroskopes um das Vielfache übertrafen (Fig. 3), sah man kürzere, gegliederte Fäden, schmale wie in Zerfall begriffene Fäden, kurze, vibrionenähnliche Formen, keulenartig verdickte Stäbchen und in großer Menge Gebilde in den verschiedensten Größen und Formen, die vielfach kaum noch als Bakterienformen angesprochen werden konnten (Fig. 3). Ihre Zugehörigkeit zu den oben beschriebenen Formen konnte aus den sich zahlreich vorfindenden fließenden Uebergangsformen leicht erwiesen werden. In sehr alten Zuckeragarkulturen (130 Tage und darüber) waren die Formen im großen und ganzen schmal, häufig auch verschieden dick und meist gekrümmt, dabei ihre Konturen häufig



unscharf. Fäden ließen sich in so alten Kulturen in verschiedener Reichlichkeit nachweisen. Nicht selten sah man in alten Kulturen die Bacillen zu kleineren oder größeren Büscheln gruppiert. Waren die Kulturen noch älter (200 Tage und mehr), so konnte man noch reichlicher jene Formen antreffen, die ihre Zugehörigkeit zu dem beschriebenen Bacillus kaum mehr erkennen ließen (detritusähnliche Formen).

Besonders zahlreiche Involutionsformen — und als solche möchten wir die eben beschriebenen, kaum erkennbaren Gebilde auffassen — zeigten ältere Gelatinekulturen.

In flüssigen Nährmedien, wie Bouillon, Bouillon mit Traubenzucker, sah man meist reichliche Fadenbildung, und zwar gewöhnlich ungegliederte. Besonders dünn waren diese Fäden, sowie auch die anderen kürzeren Formen in Bouillon mit 2 Proz. Milchzucker.

Auch Milchkulturen zeigten, wenn sie älter waren, häufig lange Fäden, vielfach verschieden dick und nicht selten mit ungefärbten Stellen, die manchmal in regelmäßigen Abständen voneinander sichtbar waren. Die Fäden erinnerten dadurch an jene Bilder, wie man sie in Rotzkulturen zu sehen gewohnt ist.

Lange gegliederte und ungegliederte Fäden, gerade und gekrümmt, häufig auch spirillenartig gewunden, zeigten Kulturen in erstarrter Hydrocelen- und Ascitesflüssigkeit.

In Zuckergelatine (1 Proz. Traubenzucker) mit erhöhtem Kochsalzgehalt konnte man bei Zusatz von 1 und 3 Proz. NaCl gegenüber Zuckergelatinekulturen mit gewöhnlichem (0,5-proz.) Kochsalzgehalt keine besonderen Bakterienformen beobachten. Bei Zusatz von 5 Proz. NaCl jedoch sah man ziemlich viele auffallend kurze, häufig auch kokkenartige Formen und geknickte Fäden, die meist ein segmentiertes Aussehen boten, als ob sie aus vielen kleinen körnerartigen Gebilden beständen.

Der Bacillus bildete auch echte Verzweigungen. Man konnte in älteren Kulturen in erstarrter Hydrocelenflüssigkeit mitunter typische astförmige Gebilde nachweisen. Diese Formen waren jedoch nie zahlreich vertreten und nicht immer erhältlich.

Der gefundene Bacillus ließ sich im allgemeinen mit den gebräuchlichen Farbstoffen für die Bakteriendarstellung leicht färben.

Bei Anwendung der Methode von Gram blieb der Bacillus in jungen Kulturen immer gefärbt, und zwar zeigten die Formen dabei eine gleichmäßige und intensive Violett-färbung. In älteren Kulturen sah man bei Anwendung dieser Methode schon eine Reihe von Bacillen entfärbt bzw. mit der Kontrastfarbe (Fuchsin) tingiert oder man konnte innerhalb von Fäden das eine oder das andere Ende schon entfärbt sehen, während der übrige Teil des Fadens noch intensiv violett tingiert geblieben war. Die Anzahl der sich entfärbenden Formen nahm mit dem Alter der Kulturen stetig zu. Doch muß hervorgehoben werden, daß im Vergleiche zum Bacillus von Welch-Fraenkel oder zum Bacillus des malignen Oedems bei unserem Bacillus sich die Gram-positiven Formen im allgemeinen länger erhielten. Am schnellsten schwanden die Gram-positiven Formen in Zuckergelatinekulturen. Oft waren schon in 48-stündigen Zuckergelatinekulturen reichlich Gram-negative Formen nachweisbar, deren Zahl dann mit dem Alter der Kultur rapid zunahm. Länger erhielten sich die Gram-positiven Formen in Zuckeragar- und Agarkulturen, am längsten, anscheinend in Kulturen von erstarrter Hydrocelen- und Ascitesflüssigkeit. So konnten

wir z. B. in einer 16 Tage alten Kultur in erstarrter Hydrocelenflüssigkeit fast alle Bacillen noch gleichmäßig schön Gram-positiv finden.

Die Formen, die sich bei Anwendung der Gramschen Methode mit der Kontrastfarbe tingiert hatten, also Gram-negativ waren, erschienen in der Regel schlanker als die Gram-positiven. In ganz alten Kulturen fand man Gram-positive Formen überhaupt nicht mehr vor. Gleichzeitig hatte dann immer auch ihre Färbbarkeit so sehr abgenommen, daß sie sich auch kaum mehr mit der Gegenfarbe tingierten. Man konnte dann häufig Gebilde treffen, die nur mehr in ihrem Kontur undeutlich die Farbe angenommen hatten und dadurch wie aufgebläht aussahen.

Im Tierkörper waren fast alle nachweisbaren Bacillen gleichmäßig Gram-positiv. Nur vereinzelt blieben Gram-negativ. Ob es sich bei diesen Formen um ein vorzeitiges Degenerieren bzw. Absterben handelte oder ob diese Formen als „injizierte“ anzusehen waren, sei dahingestellt. Ein ähnliches Bild in Hinsicht des Verhaltens gegenüber der Methode von Gram hatten auch die Präparate aus dem peritonitischen Exsudat des Menschen gezeigt.

Bei Behandlung der Präparate mit Jod (Lugolsche Lösung oder Jodgummi) erschienen die Bacillen immer gleichmäßig hellgelb. Niemals sahen wir eine Braun- oder Blaufärbung, gleichgültig, welchen Kulturen wir die Präparate für diese Darstellung entnahmen. Wir untersuchten daraufhin Kulturen verschiedenen Alters, verschiedener Alkaleszenz, Kulturen mit verschiedenen Zusätzen etc.; die Farbe der Bacillen war immer eine hellgelbe.

Der Bacillus zeigte Eigenbewegung. Diese war jedoch nicht immer nachweisbar. In Kulturen sowohl als auch im Tierkörper wurde sie häufig vermißt. War sie nachweisbar, so erschien sie das eine Mal lebhafter, das andere Mal mehr träge und hatte schlängelnden Charakter.

Der Bacillus besaß Geißeln, nur waren sie mit der Methode von Loeffler nicht leicht nachweisbar. Doch ist hervorzuheben, daß wir Geißeln noch in sehr alten Kulturen nachweisen konnten. So zeigte eine Traubenzuckeragarkultur (2. Generation des Bacillus), die 131 Tage lang bei 37° C gestanden war, in ziemlicher Menge Geißeln, teils einzeln in Form zarter Cilien mit wenigen und mehr flachen Windungen, teils mehr oder weniger mächtige Geißelzöpfe (Fig. 4). Alle diese Gebilde waren dabei schon bei der kurzen Färbung in wässriger Fuchsinlösung auf das schönste darstellbar.

Sporen ließen sich im allgemeinen weniger leicht nachweisen als beim Bacillus des malignen Oedems. Sie waren länglich oval, mittelständig, seltener polständig, meist aber als freie Gebilde sichtbar. Wir fanden sie sowohl in Zuckeragar- als auch in Zuckergelatinekulturen, besonders reichlich aber manchmal in 2-proz. alkalischer Peptonwasserlösung (Fig. 2). Anschwellungen im Sinne von Klostridien sahen wir nur selten, hingegen häufiger in recht alten Kulturen kleine, köpfchenartige, endständige Gebilde, meist an langen und schmalen Bacillenformen, die sich schlecht oder oft kaum mehr tingiert hatten, während jene ziemlich gut gefärbt erschienen. Im Exsudate der Peritonitis sowie im Tierkörper konnten wir Sporen nicht nachweisen.

Nicht selten zeigten sich um die Bacillen stärker lichtbrechende Höfe. In den Präparaten, die nach der Methode von Loeffler zur Darstellung der Geißeln gefärbt waren, konnte man häufig neben schmalen, gut begrenzten Höfen, die den Eindruck echter Kapseln

machten, meist noch auffallend breite, gleichfalls scharf begrenzte und dabei schwach gefärbte Hüllen sehen, ähnlich jenen Bildern, die sich bei der Gattung der Kapselbacillen so oft zeigen. Auch in Präparaten aus Peptonwasserlösungen sahen wir einigemal an den Bacillen einen stärker gefärbten zentralen Anteil sich scharf abheben von einem etwas breiteren, aber schwächer tingierten peripheren.

In ungefärbten Präparaten zeigten sich häufig kleine hellglänzende Gebilde in den Bacillen, die keine bestimmte Lagerung aufwiesen.

### Kulturelles und biochemisches Verhalten.

Der isolierte Bacillus gehört zu den anaëroben Bakterien. Versuche, unter gewöhnlichen Verhältnissen (Strichkulturen auf Agar etc.) aërobes Wachstum zu erhalten, schlugen immer fehl.

Die oberflächlichen Kolonien in Zuckeragarplatten (Wasserstoffatmosphäre) waren im allgemeinen klein. Gut isolierte erreichten meist einen Durchmesser von ca. 1 mm, selten mehr und waren rund oder rundlich. Das Aussehen der Kolonien war nicht immer gleich. Ein Teil der Kolonien blieb flach und zart, zeigte im auffallenden und durchfallenden Lichte ein grauglänzendes, tautropfenartiges Aussehen, ein anderer Teil der Kolonien war wieder mehr opak, grauweiß oder weißlich, glänzend und etwas erhaben. Zwischen diesen beiden Kolonienformen gab es Uebergänge: Kolonien, die in den zentralen Partien opak aussahen, in den peripheren hingegen ihr zartes tautropfenartiges Aussehen behielten. Mikroskopisch erschienen die flachen Kolonien kaum sichtbar, hell, die opaken gelblichbraun, gleichmäßig fein gekörnt (Fig. 5). Der Rand war leicht unregelmäßig ausgefranst und ließ bei stärkerer Vergrößerung deutlich Stäbchen ohne bestimmte Anordnung zueinander erkennen. In den zentralen Partien sah man häufig dunkelbraune, meist kleine, bröcklige Auflagerungen. Im großen und ganzen erinnerten diese Kolonieentypen an die des Bacillus Welch-Fraenkel, nur waren sie kleiner und zarter. Waren die Kolonien in die Oberfläche des Nährbodens leicht eingedrückt, so erschienen sie makroskopisch ziemlich massig und mehr unregelmäßig begrenzt und zeigten bei mikroskopischer Betrachtung ein dunkleres Kolorit als die oben beschriebenen und vielfach ein distelblumenähnliches Aussehen. Solche Kolonienformen wurden gewöhnlich auch dann erhalten, wenn Zuckeragarplatten gegossen wurden: um einen mehr oder weniger exzentrisch gelegenen Kern hatte sich ein meist rundlicher Hof entwickelt, der ziemlich scharf begrenzt war und an einzelnen Stellen kürzere, mitunter zopfartige Ausläufer zeigte. Bei mikroskopischer Betrachtung erschienen diese Ausläufer an ihrer Peripherie nicht sehr scharf abgegrenzt und ließen bei stärkerer Vergrößerung an den Randpartien Stäbchen, wie wirr durcheinander geworfen, erkennen. Wurden Oberflächenkolonien derart erhalten, daß auf den erstarrten Nährböden mit Hilfe einer Oese Kulturmaterial aufgetupft wurde, so erhielt man meistens größere, unregelmäßig begrenzte Kolonien, die mikroskopisch ein distelblumenähnliches Aussehen zeigten und umgeben waren von einem Kranz größerer und kleinerer reiner Oberflächenkolonien in ihrem typischen Aussehen.

Im allgemeinen wurden Oberflächenkulturen schwer erhalten. Man mußte rasch und sehr exakt arbeiten und für die Aussaat junges Kulturmaterial verwenden. Niemals entsprach die Menge der angegan-

genen Keime auch nur annähernd der Menge des ausgesäten Materials. Die Resultate änderten sich auch dann nicht, wenn für die Oberflächenkultur sporentragendes Material benutzt wurde. Am deutlichsten offenbarten sich die Schwierigkeiten in dieser Hinsicht, wenn zur Kontrolle gleichzeitig auch der Bacillus von Welch-Fraenkel kultiviert wurde. Während dieser in üppigster und reichlichster Menge entsprechend seiner Aussaat angegangen war, blieb die Anzahl der gewachsenen Kolonien unseres Bacillus immer eine spärliche. Viele der Kultivierungsversuche mißlangen vollständig, trotzdem keine technischen Fehler unterlaufen waren.

Die Tiefenkolonien in den Zuckeragarplatten blieben immer klein, erreichten kaum mehr als Punktgröße und erschienen rundlich oder maulbeerförmig, bei mikroskopischer Betrachtung dunkelbraun mit unregelmäßigen Ausläufern, die den Kolonien mitunter ein distelblumenartiges Aussehen verliehen (Fig. 6).

Stichkulturen in Agar mit 1 Proz. Traubenzucker zeigten schon nach 24 Stunden ( $37^{\circ}$  C) deutliches Wachstum, das in den nächsten Tagen an Ueppigkeit noch etwas zunahm. Bei reichlicher Aussaat bildete sich entlang des ganzen Impfstiches ein ziemlich üppiges grauweißliches Band, in welchem einzelne Kolonien nicht oder nur undeutlich erkennbar waren. Im und um den Stichkanal fanden sich mehr oder weniger reichlich größere und kleinere Gasblasen. War der Agar frisch und weich, so lag auf der Oberfläche der zur Ueberschichtung benützten Agarsäule eine oft mehrere Millimeter hohe trübe Flüssigkeitsschicht. War die Aussaat eine weniger reichliche, so setzte sich das gebildete Band entlang des Impfstiches aus dicht stehenden kleinsten Pünktchen zusammen oder man sah in den tieferen Partien des Impfstiches distinkt stehende Kolonien, die etwa Stecknadelkopfgröße erreichten. Die Kolonien waren wie von einem wolkigen Hofe umgeben oder zeigten um einen wetzsteinförmigen Kern einen scheibenförmigen Hof mit kurzen Ausläufern.

In nicht überschichteten Zuckeragarstichkulturen begann das Wachstum ausnahmslos 1—1,5 cm unterhalb der Oberfläche.

In Zuckeragarschüttelkulturen waren die Kolonien je nach der Aussaat verschieden groß. Gut isolierte erreichten die Größe eines Stecknadelkopfes und zeigten ein schneeballenähnliches oder moosartiges Aussehen.

Das Wachstum in Zuckeragarkulturen war kein gleichmäßig üppiges. Die jeweilige Beschaffenheit des Nährbodens, vor allem seine Alkaleszenz, waren in dieser Hinsicht von Wichtigkeit. Der Unterschied in der Ueppigkeit der Kulturen war dadurch ein auffällig großer. Mitunter konnte man den Impfstich kaum erkennen. Auch die Gasbildung war keine gleichmäßige. Im allgemeinen war sie keine stürmische, konnte aber manchmal auch wieder als reichlich bezeichnet werden. Sie nahm bei rasch aufeinanderfolgender Ueberimpfung, sowie bei Nährbodenwechsel an Ueppigkeit zu. In manchen Zuckeragarkulturen blieb Gasbildung vollständig aus.

Bei Temperaturen von  $20$ — $21^{\circ}$  C war das Wachstum in Zuckeragarkulturen ein ähnliches wie bei  $37^{\circ}$  C und bereits nach 48 Stunden bemerkbar. Es erfolgte jedoch langsamer und die Gasbildung war eine geringere.

Verwendete man als Zusatz zum Agar anstatt des Traubenzuckers in den gleichen Mengenverhältnissen (1 Proz.) Rohr- oder Milch-

zucker, so war das Wachstum folgendes: Nach 24 Stunden (37° C) erschien in Rohruckeragar die Entwicklung entschieden üppiger als im Traubenzuckeragar, die Gasbildung reichlicher, während in Milchzuckeragar nach dieser Zeit die Entwicklung zwar auch eine recht üppige, die Gasbildung hingegen eine spärliche war. Nach 3 bis 4 Tagen jedoch hatte in Traubenzuckeragar die Entwicklung im Impfstiche und die Gasbildung an Ueppigkeit noch zugenommen, ebenso in Milchzuckeragar, während in Rohruckeragar die Verhältnisse die gleichen geblieben waren. Nach 14-tägiger Beobachtung bei 37° C zeigte die Kultur in Traubenzuckeragar das üppigste Wachstum, an zweiter Stelle stand die Kultur in Milchzuckeragar und an dritter die in Rohruckeragar. Die Gasbildung hatte nach dieser Zeit in Trauben- und Milchzuckeragar annähernd die gleiche Stärke, in Rohruckeragar war sie geringer.

Verwendete man Agar ohne Zusatz einer Zuckerart oder einer anderen Sauerstoff absorbierenden Substanz, so erfolgte gleichfalls Wachstum und Gasbildung, doch etwas spärlicher als bei Zuckerzusatz, aber auch dann noch, wenn die Kulturen bei 20—21° C gehalten wurden.

In Zuckergelatinestichkulturen (10 Proz. Gelatine, 1 Proz. Traubenzucker), die bei 20—22° C gehalten wurden, zeigte sich oft schon nach 48 Stunden Wachstum. Manchmal begann es später. Dabei erfolgte Gasbildung und Verflüssigung der Gelatine. Reichlich beschickte Kulturen zeigten nach 5—8 Tagen häufig schon eine gleichmäßige Verflüssigung mit ziemlich reichlicher Gasbildung und einem weißlichen, dichten, etwas zähen Bodensatz am Grunde der Kultur. Weniger reichlich beschickte Kulturen ließen nach dieser Zeit nur in den tieferen Schichten entlang dem Impfstiche eine birnförmig oder schlauchartig gestaltete Verflüssigungszone erkennen, die völlig klar war und an ihrem unteren Pol die zu Boden gesunkene weißliche Kulturmasse zeigte. Verflüssigung erfolgte nicht immer in gleicher Weise. Schlecht entwickelte Kulturen ließen diese oft kaum erkennen bzw. spät auftreten. Gasbildung blieb häufig auch ganz aus, manchmal wieder war sie geradezu eine stürmische. Die Zusammensetzung und Reaktion des Nährbodens waren dafür von großer Bedeutung.

Dieselben Verhältnisse zeigten auch Gelatinestichkulturen ohne Zusatz von Traubenzucker.

Traubenzuckergelatinekulturen, die mit Agar überschichtet bei 37° C gehalten wurden, zeigten — falls der Nährboden zusagte — schon nach 24 Stunden ein meist üppiges Wachstum: die verflüssigte Gelatine mehr oder weniger gleichmäßig getrübt, häufig in den oberen Partien stärker als in den unteren, am Boden der Kultur ein reichlicher, weißlicher Satz, von dem aus ständig Gasperlen zu der oft bis  $\frac{1}{2}$  cm hohen Schaumschicht an der Oberfläche aufstiegen, der überschichtende Agarpfropf hoch emporgehoben, in seiner unteren Hälfte von zahlreichen Gasblasen durchsetzt. Oft schon nach 48 Stunden, häufiger aber erst später, hatte die Gasbildung aufgehört, die Schaumschicht an der Oberfläche verschwand und die früher getrübt gelatinierte wurde klar, während der Bodensatz zugenommen hatte. So verflüssigte Kulturen erstarrten nicht mehr, wenn sie auch für längere Zeit in strömendes kaltes Wasser (1 Stunde lang) gestellt wurden. Es war dabei gleichgültig, ob die Kulturen jung oder alt waren. In einer derartigen Versuchsreihe verglichen wir z. B. eine 2 Tage alte, eine 10 Tage alte und eine

33 Tage alte Zuckergelatinekultur, ohne daß irgendwelche Unterschiede bemerkt wurden.

In Bouillon mit Zusatz von 2 Proz. Traubenzucker erfolgte bei 37° C rasch ein verhältnismäßig üppiges Wachstum in Form einer diffusen Trübung des Nährbodens mit mehr oder weniger reichlicher Gasbildung. Nach einigen Tagen klärte sich die Kultur unter gleichzeitigem Niederschlag eines ziemlich üppigen Bodensatzes. Waren für die Kultur langhalsige Kölbchen verwendet worden, so sammelte sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine verschieden üppige Schaumschicht, die wieder allmählich verschwand.

In Bouillonkulturen ohne Zuckerzusatz fand auch schon innerhalb der ersten 24 Stunden bei 37° C Entwicklung statt, doch war diese geringer als in Kulturen mit Zuckerzusatz. Gasbildung erfolgte erst einige Tage später und blieb hinter jener in Zuckerbouillonkulturen zurück. Aeltere Kulturen hatten einen deutlichen Geruch nach Käse.

In Peptonwasser war die Entwicklung im allgemeinen eine spärliche und blieb oft ganz aus, wenn die Alkaleszenz des Nährbodens eine zu geringe war. Erfolgte Wachstum, so entstand zunächst eine zarte Trübung des Nährbodens, worauf sich unter Klärung der Flüssigkeit ein zartflockiger Satz niederschlug. Gasbildung erfolgte in diesem Nährboden nicht.

In eiweißfreien Nährböden nach Uschinsky erfolgte kein Wachstum, auch dann nicht, wenn diesen Traubenzucker, Rohrzucker oder Mannit in Mengen von 2 Proz. zugesetzt wurde.

In Nährböden nach Uschinsky mit Zusatz von 2 Proz. Pepton sah man schon nach einigen Tagen einen ziemlich grobflockigen, wolkenartig aufwirbelnden Bodensatz bei Klarbleiben der Flüssigkeit. Gasbildung erfolgte nicht. Die Ueppigkeit der Entwicklung erfuhr keine Veränderung, wenn dem eiweißfreien Nährboden von Uschinsky neben Pepton noch Traubenzucker beigemischt wurde (2 Proz.). Gasbildung wurde dadurch auch nicht erzielt.

Milch. Die Züchtung in Milch gelang im allgemeinen leicht (Erlenmeyer- oder langhalsige Kolben, Ueberschichtung nach vorausgegangener Gefrierung). Die beschickten Nährböden zeigten nach einigen Tagen unterhalb der Rahmschicht eine ca. 2-fingerbreite Zone, die aus trüber, graugelblicher Flüssigkeit bestand. In langhalsigen Kolben war diese Schicht bei gleichalterigen Kulturen immer höher. Unter dieser Schicht sah man ein ziemlich lockeres Gerinnsel, das sich etwas von den Wänden des Glasgefäßes zurückgezogen hatte und bei leichtem Schütteln vielfach Sprünge zeigte, von denen aus kleinere oder größere Glasbläschen nach der Oberfläche zu aufstiegen und sich unter der Rahmschicht ansammelten. Während sich das Gerinnsel mehr und mehr zusammenzog, vergrößerte sich die darüberliegende Schicht trüber Flüssigkeit langsam und wurde nach und nach klar. Die Farbe dieser serösen Schicht war nicht immer die gleiche: das eine Mal war sie graugelblich, das andere Mal zeigte sie einen rötlichen Stich. Das Gerinnsel verkleinerte sich immer mehr und mehr, sah nach einiger Zeit wie ausgefressen oder zerbröckelt aus und war in einigen Kulturen nach 5—6 Wochen vollständig aufgelöst. Am besten konnte diese vollständige Verflüssigung des Gerinnsels in den überschichteten Kulturen beobachtet werden.

Der Beginn der Veränderungen in der Milch erfolgte nicht immer

zur gleichen Zeit, nach unseren Beobachtungen nicht vor dem 4. Tage, und war niemals ein stürmischer.

Gasbildung war stets nachweisbar, wenn sie auch nicht immer in der gleichen Menge erfolgte. Im allgemeinen war sie keine sehr reichliche.

Die Reaktion der Milchkulturen war schwach sauer, der Geruch ein ziemlich intensiver und nach altem Käse. Dieser Käsegeruch war stets und deutlich in jenen Kulturen wahrzunehmen, die nach außen abgeschlossen waren. Milchkulturen in Erlenmeyer-Kolben mit Kautschukstoppel und Abzugsschlitz zeigten keinen Geruch nach altem Käse, sondern nur Geruch nach Buttersäure.

In erstarrter Hydrocelen- und Ascitesflüssigkeit war das Wachstum kein gleichmäßiges. Manchmal war das Wachstum ein kräftiges mit reichlicher Gasbildung, so daß der Nährboden schon nach einigen Tagen mehr oder weniger gleichmäßig zerklüftet aussah. In den Spalträumen hatte sich Flüssigkeit angesammelt, unterhalb des überschichtenden Wasseragarpfropfens eine größere Gasmenge. Nach und nach zerfiel der Nährboden und wurde langsam aufgelöst. Ueber den unten sich sammelnden Resten des Nährbodens lag nach 4 Wochen eine mehrere Finger hohe Schicht fast klarer Flüssigkeit und über dieser eine größere Gasblase.

In anderen Kulturen wieder entwickelte sich entlang dem Impfstiche ein Spalt, der sich mehr und mehr verbreiterte und mit Flüssigkeit erfüllte. Spärliche Gasblasen, die sich zunächst im Spalt gebildet hatten, stiegen bald an die Oberfläche und sammelten sich unterhalb des überschichtenden Pfropfes, um beim Neigen des Röhrchens entlang dem Impfstiche wieder gegen die Kuppe aufzusteigen. Nach einiger Zeit schien in diesen Kulturen das Wachstum aufzuhören, der gebildete Spalt erweiterte sich nicht mehr.

In wieder anderen Kulturen endlich fehlte scheinbar jede Verflüssigung. Entlang dem Impfstiche war Entwicklung in mehr oder minder reichlichem Maße erfolgt und an der Oberfläche sah man unter dem Wasseragarpfropf einzelne kleine Gasbläschen. Auch nach vielen Wochen veränderten sich diese Kulturen nicht mehr.

Die Reaktion der Kulturen blieb deutlich alkalisch, der Geruch glich dem in den Milchkulturen.

Zuckeragarschüttelkulturen mit Zusatz von  $\frac{1}{10}$  Proz. indigochwefelsaurem Natrium oder 1, 2 und 3 Tropfen konzentrierter Neutralrotlösung ließen schon in den ersten 24 Stunden deutliches Wachstum mit spärlicher Gasbildung erkennen und zeigten innerhalb der Wachstumszone vollständige und gleichmäßige Entfärbung des Nährbodens.

In Lackmusbouillon zeigte sich nach einigen Tagen eine nicht sehr intensive, diffuse Trübung mit vollständiger Entfärbung des Nährbodens.

Indol war leicht nachweisbar. Schon in 3 Tage alten Zuckerfleischbrühekulturen (1 Proz. Traubenzucker) konnte man in geringer Menge Indol finden, 8-tägige Kulturen zeigten dieses sehr reichlich. In älteren Kulturen (20- und 30-tägigen) nahm die Menge des nachweisbaren Indols wieder ab.

Schwefelwasserstoff war in Zuckerfleischbrühekulturen stets und in reichlicher Menge nachweisbar, am reichlichsten in jungen Kulturen. Auch in Milchkulturen ließ sich die Bildung von Schwefelwasserstoff nachweisen, doch erfolgte diese nicht so rasch und nicht so reichlich als in Zuckerfleischbrühekulturen.

Alkohol, und zwar Aethylalkohol, wurde in Zuckerfleischbrühekulturen stets gebildet, am reichlichsten in einer 30-tägigen Kultur.

Aceton konnte niemals in Zuckerfleischbrühekulturen nachgewiesen werden.

Buttersäure und Milchsäure waren in Traubenzuckerfleischbrühekulturen stets vorhanden, jene in jüngeren und älteren Kulturen anscheinend stets in gleicher Menge, diese am reichlichsten in einer 20-tägigen Kultur.

Essigsäure wurde nur in geringer Menge gebildet: eine 3-tägige Zuckerfleischbrühekultur zeigte diese noch nicht mit Sicherheit, eine 8-, 20- und 30-tägige in deutlichen Spuren.

Tabelle I.

Alter der untersuchten Zuckerfleischbrühekultur	3 Tage	8 Tage	20 Tage	30 Tage
Indol	spärlich	sehr reichlich	deutlich nachweisbare Spur	spärlich
Aethylalkohol	mäßig reichlich	mäßig reichlich	deutlich nachweisbare Spur	zieml. reichlich
Aceton	negativ	negativ	negativ	negativ
Schwefelwasserstoff	zieml. reichlich	mäßig reichlich	mäßig reichlich	mäßig reichlich
Essigsäure	nicht sicher nachweisbar (?)	deutlich nachweisbare Spur	deutlich nachweisbare Spur	Spuren
Milchsäure	mäßig reichlich	zieml. reichlich	reichlich	zieml. reichlich
Buttersäure	mäßig reichlich	mäßig reichlich	mäßig reichlich	mäßig reichlich

Die gleichen Resultate ergab auch die Untersuchung einer 10 Monate alten Milchkultur: reichliche Mengen von Indol, Aethylalkohol, Milch- und Buttersäure und spärliche Mengen von Schwefelwasserstoff. Aceton und Essigsäure fehlten.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Pathogene Bakterien, in Gegenwart von Luft und unter kontrollierbarer Luftleere kultiviert.

[Aus dem hygienischen Institut zu Stockholm.]

Von Dr. Gunnar Koraen, Assistenten am Institut.

In der Literatur finden wir nicht viele genauere Untersuchungen über den Einfluß der Luft auf das Wachstum der Mikroorganismen. Die Verfasser haben sich im allgemeinen begnügt, ein sehr ungefähres Verhältnis zwischen den aëroben und anaëroben Kulturen in Bezug auf Wachstumsenergie festzustellen. Nur in einer mir bekannten Abhandlung habe ich nähere Angaben gefunden, und zwar über den Typhusbacillus, daß derselbe  $1\frac{1}{2}$ —2mal stärker sich in aëroben als in anaëroben Kulturen vermehrt<sup>1)</sup>.

Die von mir benutzte Methode ermöglicht während des Versuches

1) Rosqvist, Hyg. Rundschau. Bd. XIV. 1904. p. 353.



in jedem Moment zu konstatieren, ob die Luft von der anaëroben Kultur sicher ausgeschlossen bleibt. Ich kultiviere nämlich meine Mikroorganismen in etwa 2 ccm Nährbouillon in einer kleinen, etwa 3 ccm messenden Pipette, die mittels einer Sprengelschen Luftpumpe entleert und darauf zugeschmolzen wird. Die Luftleere wird so weit geführt, bis der Inhalt des zugeschmolzenen Rohres bei 35° C stark kocht. Da das Rohr vor dem Zuschmelzen im Wasserbad bei 40° gekocht wurde, so kann man recht genau die Menge des eingeschlossenen Sauerstoffes schätzen. Ich bestimme nämlich den Luftdruck gleich vor dem Zuschmelzen und nehme an, daß dabei der Wasserdampf gesättigt ist. Der Druck des eingeschlossenen Sauerstoffes betrug im allgemeinen  $\frac{1}{2}$  mm Hg. Das Rohr kann leicht undicht werden, aber die oben angegebene Kontrolle gibt volle Sicherheit. Ich nehme das Rohr in die Hand, dann muß es kochen; sonst wird es von dem Versuche ausgeschlossen. Wenn die Kultur Gas produziert, so ändert sich natürlich das Verhältnis.

Die von mir untersuchten Bakterien sind: *B. typhi*, *B. paratyphi*, *B. coli*, *B. dysenteriae*, *Sp. cholerae*, *St. pyogenes aureus* und *albus*, fast alle Arten in mehreren Stämmen. Ich benutzte bei den Versuchen sowohl gewöhnliche Nährbouillon, wie auch Bouillon mit  $\frac{1}{2}$  Proz. Traubenzucker. Die Versuchsanordnung war, wie folgt:

Eine 24 Stunden alte Agarkultur dient zum Impfen. Eine Oese von einer Typhuskultur (1 mg) wird in 5 ccm Bouillon emulgiert und davon 2 Oesen (von 3 mg) in ein Reagenzglas mit Bouillon übergeführt. Aus demselben Vorrat wird dieselbe Menge in die Pipetten und in die Reagenzgläser verteilt. Nach 1 bzw. 4 Tagen bei 38° werden die Kulturen untersucht. Die Pipetten werden gebrochen und der Inhalt in Reagenzgläser entleert. Nun werden die Kulturen mit steriler Bouillon genügend verdünnt und Agarplatten gegossen. Nach 48 Stunden bei 38° wird die Anzahl der ausgewachsenen Kolonien gezählt.

Schon für das unbewaffnete Auge waren die Kulturen ungleich, die aëroben sahen viel mehr trübe aus. Die genaue Anzahl der Individuen finden wir in den Tabellen 1 und 2, in denen die Anzahl der in Bouillon mit ohne ohne Zucker ausgewachsenen Kolonien angegeben wird. Wo in den Tabellen bb gedruckt ist, habe ich Bouillon ohne Zucker, aber mit 2 Proz. Kochsalz benutzt.

Tabelle 1 zeigt die Versuche, die mit Bouillon ohne Zucker ausgeführt worden sind. In der Abteilung A finden wir das Resultat, die Typhusstäbchen betreffend. Nach 24 Stunden traf ich in der aëroben Kultur 3—4mal so viel Individuen, wie in der anaëroben Kultur. Der Unterschied ist doppelt so groß, wie nach den Versuchen von Rosqvist (a. S.), wobei eine ganz andere Methode benutzt worden ist. Die verschiedenen untersuchten Typhusstämmen fand ich gleich.  $T_3$  und  $T_4$  sind alt und wahrscheinlich avirulent. Pt dagegen ist hochvirulent;  $\frac{1}{10}$  von einer Oese tötet sicher und schnell ein Meerschweinchen. In Bouillon mit physiologischem Gehalt von Salzen oder mit 2 Proz. Kochsalz ist das Verhältnis zwischen den Kulturen gleich.

Nach 4 Tagen fand ich etwas geringere Anzahl von Individuen in meinen Typhuskulturen, dagegen war das Verhältnis zwischen aëroben und anaëroben Kulturen annähernd gleich, und machte 1 : 4 bis 1 : 6,5 aus.

Unter den Choleraversuchen, Tabelle 1, B, finden wir 2, in denen das Spirillum sehr wenig gewachsen war. Es ist möglich, daß die Rasse

Tabelle 1.

Bezeichnung des Stammes	Datum des Versuches	Nach 24 Stunden					Nach 4 Tagen				
		Anaerobe		Aerobe Kultur		Ver- hältnis	Anaerobe		Aerobe Kultur		Ver- hält- nis
		einzel. Vers.	Durchschn.	einzel. Durchschn.	Durchschn.		einzel.	Durchschn.	einzel.	Durchschn.	
<b>A. Typhus.</b>											
T <sub>3</sub>	7. Dez. 1904	594 636 690	640	1758 1890 1857	1835	1:3	328 419 370	339	1524 1318 1212	1351	1:4
T <sub>4</sub>	8. „ 1904	312 345 359		338			1450 1271 1401		1374		
Pt	14. „ 1904	454 499	476	1521 1407	1464	1:3	201 260	230	972 1098	1035	1:4,5
„	18. „ 1904	279 318	298	1118 1262	1190	1:4					
„	24. Jan. 1905	319 274	296	1409 1202	1305	1:4	158 180	169	1203 1006	1104	1:6,5
Pt bb	8. Dez. 1904	286 309	297	1054 1148	1101	1:4					
<b>B. Cholera.</b>											
C <sub>1</sub>	30. Dez. 1904	111 134	122	2097 2478	2287	1:19	8 9	8	—	—	—
„	3. Jan. 1905	98 126	112	2179 1957 2504	2213	1:19	21 32	26	—	—	—
„	13. „ 1905	109 139 123	123	1602 1400 1758	1587	1:13	4 7	5	—	—	—
C <sub>4</sub>	30. Dez. 1904	89 96	92	1995 2366	2180	1:24	2 3	2	—	—	—
„	3. Jan. 1905	3 7	5?	2237 1381	2309	1:460?	3 2	2	—	—	—
„	13. „ 1905	21 19	20?	1321 1009	1165	1:58?	8 7	7	—	—	—
C <sub>6</sub> '	18. Febr. 1905	328 401	364	6878 7782	7280	1:20	—	—	—	—	—
C <sub>4</sub> '	13. „ 1905	298 311	304	5980 5401	5690	1:19	—	—	—	—	—
<b>C. B. paratyphi u. B. dysenteriae u. Coli.</b>											
Paratyphus	21. Febr. 1905	502 635	563	3012 2622	2817	1:5	278 180	229	2018 1800	1909	1:9
„	25. „ 1905	304 312	308	1598 1718	1658	1:5	89 73	81	1108 1003	1055	1:13
Dysenterie	20. „ 1905	255 302	278	1178 1060	1119	1:4	101 74	87	698 750	724	1:8
„	25. „ 1905	284 242	263	1188 1480	1334	1:5	44 38	41	514 537	525	1:13
Coli	13. „ 1905	480 402	441	1102 1298	1200	1:3	102 98	100	632 581	606	1:6
„	25. „ 1905	387 479	433	1208 1292	1250	1:3	78 71	74	521 560	540	1:7
<b>D. St. pyogenes.</b>											
Py. aur.	15. Jan. 1905	153 131	142	902 781	841	1:6	5 2	3	576 521	548	—
„	22. „ 1905	280 239	259	2652 2989	2820	1:11					
„	25. „ 1905	202 168 191	187	1204 1020	1112	1:6	15 16	15	568 512	540	—

Bezeichnung des Stammes	Datum des Versuches	Nach 24 Stunden				Nach 4 Tagen				Verhältnis	
		Anaerobe		Aerobe Kultur		Anaerobe		Aerobe Kultur			
		inz. Vers.	Durchschn.	einzel.	Durchschn.	einzel.	Durchschn.	einzel.	Durchschn.		
Py. alb.	15. Jan. 1905	164) 201)	182	1674) 1809) 1668)	1717	1: 9					
" "	22. " 1905	164) 140)	152	898) 1012)	955	1: 6	4) 7)	5	628) 586)	607	—

Tabelle 2.

Bezeichnung des Stammes	Datum des Versuches	Nach 24 Stunden				Nach 4 Tagen				Verhältnis
		Anaerobe		Aerobe Kultur		Anaerobe		Aerobe Kultur		
		inz. Vers.	Durchschn.	einzel.	Durchschn.	einzel.	Durchschn.	einzel.	Durchschn.	

A. Typhus.

T <sub>1</sub>	17. Dez. 1904	239) 262)	250	912) 1023) 1050)	995	1: 4	0		0	
"	22. " 1904	271) 332)	301	941) 1032)	986	1: 3	0		0	
Pt	23. " 1904	267) 311)	289	1123) 1051)	1087	1: 4	0		0	
"	18. " 1904	397) 417) 434)	416	1588) 1639) 1671)	1629	1: 4	0		0	
Pt bb	22. " 1904	350) 371) 387)	369	1208) 1406) 1487)	1367	1: 4	0		0	
" "	17. " 1904	451) 498)	474	1640) 1761)	1700	1: 4	0		0	

B. Cholera.

C <sub>1</sub>	25. Jan. 1905	1) 2)		3) 2)			0		0	
"	12. Febr. 1905	0) 0)		0) 0)			0		0	
C <sub>4</sub>	25. Jan. 1905	1) 3)		3) 16)			0		0	
C <sub>5</sub> '	18. Febr. 1905	0) 0)		0) 0)			0		0	
C <sub>4</sub> '	18. " 1905	0) 0)		0) 0)			0		0	

C. Paratyphus, Dysenterie, Coli.

Pa.	1. März 1905	421) 498)	459	1828) 2098)	1963	1: 4	0		0		
Dys.	1. " 1905	568) 517)	542	1928) 2212)	2070	1: 4	15) 19)	17	81) 78)	79	1: 5
Coli	1. " 1905	402) 399)	400	1808) 1694)	1701	1: 4	39) 32)	35	298) 347)	322	1: 5

D. St. pyogenes aureus.

Py. au.	1. März 1905	202) 184)	193	1019) 1202)	1110	1: 6	25) 34)	29	79) 68)	73	1: 2,5
---------	--------------	--------------	-----	----------------	------	------	------------	----	------------	----	--------

die mit C<sub>4</sub> bezeichnet ist, etwas von den anderen abweicht. In den übrigen finden wir nach einem Tage öfters 19—20mal so viele lebende Individuen in der aëroben Kultur im Vergleich mit der anaëroben. Nach 4 Tagen hatte die Anzahl der Spirillen in der anaëroben Kultur bedeutend abgenommen. Ein Vergleich mit den aëroben Kulturen zeigte sich unmöglich, da in diesen wegen der Hautbildung die Anzahl sich nicht gut feststellen ließ.

*B. paratyphi* und *B. dysenteriae* (Tabelle 1, C) weisen etwa dasselbe Verhältnis auf wie *B. typhi*. Oefters finden wir jedoch 5mal so viele Individuen in der aëroben Kultur. Nach 4 Tagen ist der Unterschied größer, und in der aëroben Kultur finden sich 8—13mal so viele. Die absolute Anzahl der Individuen hat nach 4 Tagen recht erheblich und in den anaëroben Kulturen sogar sehr stark abgenommen.

*B. coli* hat nach 24 Stunden unter den untersuchten Arten den kleinsten Unterschied zwischen anaërober und aërober Kultur, nämlich 1:3 aufgewiesen. Nach 4 Tagen hat sich dieses Verhältnis zu 1:6 oder 1:7 geändert. Die Ursache liegt darin, daß die anaërob wachsenden Individuen stark an Zahl vermindert worden sind.

Unter den untersuchten Staphylokokken (Tabelle 1, D) fand ich bei anaërober und aërober Kultur ein Verhältnis von 1:6, manchmal auch 1:9 oder 1:11. Nach 4 Tagen war die Anzahl der anaërob wachsenden so klein, daß es unnütz scheint, das Verhältnis anzugeben.

In Tabelle 2 habe ich eine Bouillon mit  $\frac{1}{2}$  Proz. Traubenzucker angewandt. Der Typhusbacillus zeigt dasselbe Verhalten, wie in Bouillon ohne Zucker. Aërob fanden sich gewöhnlich 4mal mehr Individuen als anaërob. Nach 4 Tagen schienen sämtliche Kulturen abgestorben zu sein. Dasselbe fand ich auch betreffs der Cholera und hier manchmal schon nach einem Tage.

Der *B. paratyphi* gleicht völlig dem *B. typhi*.

Die Kulturen von *B. dysenteriae*, *B. coli* und *St. pyogenes* enthalten alle nach 4 Tagen eine sehr niedrige Anzahl von lebenden Individuen. Nach 24 Stunden ist das Verhältnis zwischen aëroben und anaëroben Kulturen ungefähr dasselbe wie in Bouillon ohne Zucker.

Abwesenheit von Sauerstoff übt einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum aller von mir untersuchten Bakterien aus, ohne dasselbe völlig zum Stillstand zu bringen. Die Luftleere wirkt am stärksten auf das Choleraspirillum, am wenigsten auf *B. coli*.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie.

### II. Ueber aktive und passive Immunisierung.

Von Dr. H. Lüdke-Barmen,

z. Zt. Assistent der medizinischen Klinik zu Würzburg. (Direktor: Geheim. Medizinalrat Prof. Dr. von Leube.)

Mit 11 Kurven.

Während unter den Immunitätsforschungen das Studium der Typhus- und Choleraimmunität in lebhaftem Fluß begriffen ist und einen breiten Raum in der Literatur beansprucht, finden wir Untersuchungen über die

Immunität bei der bacillären Dysenterie nur in spärlichen, wenig ausführlichen Mitteilungen verzeichnet.

Und doch dürfte das Studium der Dysenterieimmunität eines weitgehenden Interesses wert sein.

Nachdem wir, dank den Forschungen Kruses, einen wohlcharakterisierten Erreger der Ruhr kennen gelernt haben und damit dem einheitlichen klinischen und pathologisch-anatomischen Bild der epidemischen Dysenterie auch der endgültige bakteriologische Abschluß gefolgt war, konnte die therapeutische Verwendung eines geeigneten Heilserums, das auch hier das Endziel aller Immunisierungsversuche bildete, die prophylaktischen, sanitätspolizeilichen Maßnahmen in wirksamster Weise unterstützen.

Andererseits könnten Untersuchungen über die Immunität bei der bacillären Dysenterie einen großen Anteil an der Klärung der bakteriziden wie antitoxischen Immunitätsfragen beanspruchen, zumal sich die Gelegenheit bot, mit einem neuen, praktisch wichtigen, der Typhus-Coli-Gruppe sehr nahestehenden Mikroorganismus zu arbeiten.

Vielleicht würde man einwenden, daß die epidemische Ruhr weniger im Vordergrund des aktuellen Interesses stünde. Allerdings haben wir in Deutschland nur mit zwei Ruhrherden zu rechnen, einem im rheinisch-westfälischen Industriebezirk und einem anderen Herde in den östlichen preußischen Provinzen.

Man würde ferner dem Einwande begegnen, daß diese Ruhrherde nach den Beobachtungen der letzten Jahre in der Phase des Erlöschens der Epidemie zu stehen scheinen.

Der wirksamen Bekämpfung dieser Seuche wäre jedoch schlecht gedient, wollte man sich mit der Konstatierung dieser tatsächlichen Verhältnisse zufrieden geben.

Versuchen wir an der Hand der epidemiologischen Forschung einen Ueberblick über die Entwicklung und Ausbreitung der bacillären Dysenterie in Deutschland während der letzten 35 Jahre zu bekommen, so ergibt sich, daß wir in der Ruhr eine latente Gefahr haben, die unter gewissen Bedingungen zu ausgedehnten, schweren Epidemien führen kann.

Vor dem Kriege 1870/71 finden wir nirgends größere Epidemien in Deutschland vor; einzelne sporadische Fälle und beschränkte, schnell verschwindende Epidemien, die damals noch auf verschiedene, meist Coli-ähnliche bakterielle Erreger, zum Teil auch auf Amöben zurückgeführt wurden, tauchten wohl hier und da auf, riefen aber keinen nachhaltigen Eindruck hervor.

Erst mit dem Kriege 1870/71 flammte die Seuche auf.

Schon in den Napoleonischen Feldzügen zu Beginn des vorigen Jahrhunderts war die Ruhr als ständige, meist mit Typhus kombinierte Kriegsseuche gefürchtet und begleitete die späteren Feldzüge als eine der gefährlichsten Lagerseuchen, die von den Truppen auch auf die Bevölkerung übersprang.

Vielleicht ließe sich die im Kriegsjahr 1870/71 unter den deutschen Truppen grassierende Epidemie auf die schon vor dem Kriege in den Garnisonen von Saarlouis und Saarbrücken herrschenden Ruhrerkrankungen zurückführen, die durch die Konzentration der Armee in dieser Oertlichkeit zur vollen Entwicklung gelangte. Die deutsche Armee zählte nach militärärztlichen Berichten im ganzen 38 652 = 49 Prom. Erkrankungen an Ruhr mit 2380 Todesfällen =  $\frac{1}{6}$  aller überhaupt an Krankheiten Verstorbener.

Diese Zahlen geben ein anschauliches Bild der Verheerungen der Dysenterie zu Kriegszeiten; in früheren Angaben finden wir noch weit höhere Prozentsätze von Erkrankungen und Todesfällen verzeichnet.

Ein ebenso anschauliches Bild bieten die Schilderungen Shigas über die Verbreitung der bacillären Dysenterie in Japan im Jahre 1897.

In den Monaten Juni bis Dezember herrschte die Seuche in fast allen Provinzen Japans mit 89 400 Erkrankungs- und 22 300 Todesfällen (= 24 Proz.).

Diese Zahlen dürften ungefähr einen Begriff von dem eminent gefährlichen Charakter dieser Infektionskrankheit geben, die durch die statistischen Erhebungen bei Cholera und Pest wohl kaum wesentlich übertroffen worden sind.

Nach dem Kriege 1870/71 erfolgte in Deutschland eine Ausbreitung der Dysenterie auch unter der Zivilbevölkerung, die wahrscheinlich durch Kriegsgefangene und Verwundete weiter verschleppt wurde. In Württemberg starben so 1877 über 1000 Menschen an Dysenterie, in Preußen 1875 nach annähernder Schätzung 8000, 1880 noch 6000 Menschen. Nach 1880 schien die Epidemie, welche sich fast in ganz Deutschland eingenistet hatte, zu erlöschen; in einzelnen Gegenden, speziell Nord- und Süddeutschland, verschwand die Ruhr so gut wie vollständig. Nur in den Industriebezirken Rheinlands und Westfalens und in Westpreußen nahm sie endemischen Charakter an, trat bisweilen in dem einen Jahre mit gesteigerter Heftigkeit auf, um in der zweiten Hälfte der 80er Jahre fast zu verschwinden. Erst 1892 erschien die Ruhr wieder mit zunehmender Heftigkeit im Westen Deutschlands, zunächst im Stadtkreis Gelsenkirchen, von wo aus auch die umliegenden Kreise verseucht wurden; im Stadtkreis Barmen, dem westlichsten Punkt, machte die Dysenterie im Jahre 1899 Halt, wo sie bis zum letzten Jahre, 1904, herrschte. In den drei verflossenen Jahren war wieder eine Abnahme der Intensität der Ruhrausbreitung zu erkennen, wie überhaupt Schwankungen im Verlauf dieser Infektionskrankheit gewöhnlich zu sein pflegen.

Für die Bekämpfung der bacillären Dysenterie kommen zunächst die Maßnahmen in Betracht, die bei allen epidemischen Krankheiten durch hygienische und prophylaktische Gesichtspunkte vorgeschrieben sind. Die Bedingungen, unter denen diese prophylaktischen Maßnahmen in Kraft treten, erfordern zunächst ein eingehendes Studium der Seuche, speziell des Erregers derselben.

Klinische und bakteriologische Forschung lehrten, daß die Uebertragung der Ruhr nur durch die Dejektionen der an Dysenterie erkrankten Individuen stattfinden könne.

Gefärbte Ausstrichpräparate aus den eitrigen Klümpchen der ersten Entleerungen bei Beginn der Erkrankung lassen gewöhnlich, zum Teil in Eiterzellen eingeschlossen, nur eine Form von plumpen Stäbchen erkennen, die häufig in kolossalen Mengen in den Ruhrfaeces vorkommen. In den späteren Tagen der Erkrankung werden diese Stäbchen jedoch von Darmbakterien überwuchert; es gelingt jetzt sehr schwer, Reinkulturen von Dysenteriebacillen zu gewinnen. Kruse (2) glückte es, die Ruhrbacillen in trockenem Zustande — an Zeugstückchen bei Zimmertemperatur angetrocknet — noch nach drei Monaten, wenn auch an Zahl verringert, nachzuweisen. Als weiteres Moment für die Haltbarkeit der Ruhrbacillen kommen niedrige Temperaturgrade hinzu, unter denen dieselben selbst in flüssigen Entleerungen von Kruse noch nach einigen Tagen nachgewiesen wurden.

Kruse ist daher der Ansicht, daß die Ruhrbakterien unter günstigen Bedingungen den Winter überstehen könnten, um im Spätsommer und Herbst infolge günstiger Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse in Aktion zu treten. Vielleicht mögen auch die um diese Zeit herrschenden, unschuldigeren Darmkatarrhe prädisponierende Momente für die Infektion abgeben.

Von Wichtigkeit für die leichte Uebertragbarkeit der Ruhrbacillen kommt noch der Umstand hinzu, daß die quälenden Tenesmen die Kranken — besonders Kinder und unzivilisierte Individuen — veranlassen, mit ihren Dejektionen die verschiedensten Orte zu beschmutzen, von wo aus eine Uebertragung leicht möglich ist.

Die Bevölkerung, welche vornehmlich von dieser Volksseuche heimgesucht wird, scheint ihren sozialen Verhältnissen nach für eine Ansteckungsmöglichkeit gut disponiert.

Der Prozentsatz, der die besser situierten Kreise betrifft, ist ein bei weitem geringerer als der unter der dicht wohnenden, in intimerem, sorgloserem Verkehr stehenden, ärmeren Bevölkerungsklasse. Die äußerst mangelhafte Reinlichkeit, die Indifferenz des Proletariats Infektionsgefahren gegenüber, wie sie speziell im rheinisch-westfälischen Industriebezirk und hier besonders unter den zugezogenen polnischen Arbeitern zu beobachten ist, ergeben Faktoren, die bei der Ansteckung von Haus zu Haus, von Familie zu Familie in Rechnung zu setzen sind.

Nach Kruses reichen Erfahrungen auf dem Gebiete der Ruhrbekämpfung muß besonders die Regelung der Abwasserverhältnisse „als ein souveränes Mittel im Kampfe gegen die Dysenterie“ angesehen werden. In Orten mit guten Kanalisationsverhältnissen pflegt sich die Ruhr nicht zu verbreiten und nach Einführung der Kanalisation verschwindet sie meist aus Städten, in denen sie vorher grassierte. Der hauptsächlichsten Infektionsquelle Rechnung tragend, müßten zuerst die Hauskanäle und Straßenkanäle erster Ordnung geregelt werden, um die Gelegenheit zur Ansteckung zu beseitigen.

Ein zweites wichtiges Moment im Kampf gegen die Dysenterie ist eine schleunige Isolierung der einzelnen Ruhrfälle in besonders angelegten Baracken, in denen durch ein geschultes Pflegepersonal eine sorgfältige Desinfektion der Entleerungen der Kranken zu erfolgen hat. Es sollten diese Isolierungen in jedem Falle streng durchgeführt werden, da der Ruhrkranke selbst der Träger der Infektion ist. Weiter muß in infizierten Wohnungen eine peinliche Desinfektion vorgenommen werden.

Die bacilläre Ruhr zählt zu den Infektionskrankheiten, die den menschlichen Organismus nicht dauernd immun machen können, selbst für eine kürzere Zeitdauer von 1—2 Jahren scheint keine vollkommene Immunität zu bestehen. So fand Shiga (3), daß bei seinen aktiven Immunisierungsversuchen an japanischen Dysenteriekranken der durch diese Immunisierung erreichte Schutz nur kurze Zeit, etwa einige Wochen, anhielt. Diesen Befund Shigas bestätigen meine Beobachtungen: Ich habe einige Fälle untersuchen können, bei denen die Ruhr dasselbe Individuum häufiger betraf; einen Fall konstatierte ich, in dem 3 Jahre hintereinander eine Infektion mit Ruhrbacillen vorliegen mußte.

Es ist schwer zu unterscheiden, ob die Dysenteriebacillen in solchen Fällen durch eine Reinfektion von außen her die spezifische Erkrankung hervorrufen oder ob die Dysenteriebacillen in einer inaktiven Modifikation auch in Organen, speziell dem Darmtraktus, eines menschlichen Organismus persistieren können, um bei prädisponierenden Momenten,

gelegentlichen Darmentzündungen im Spätsommer oder Herbst, eine neue Erkrankung durch Wiedergewinnung ihrer Aktivität auf für ihr Wachstum geeignetem Boden zu veranlassen. Ich kann mich deshalb nicht gänzlich der Ansicht verschließen, daß auch solche Individuen, welche die Ruhrkeime in latenter Form beherbergen können, zu Verbreitern der Seuche werden können.

Nachdem wir die prophylaktischen Maßnahmen bei der bacillären Dysenterie einer kürzeren Schilderung gewürdigt haben, kommen wir auf unser Thema, die aktive und passive Immunisierung bei der Ruhr, zurück.

Wir haben versucht, durch eine größere Anzahl von Versuchen einzelne gebräuchliche Immunisierungsmethoden auf die Dysenterie anzuwenden, um bei eventuellen Impfungen von Menschen einen gewissen, vergleichenden Maßstab zu gewinnen. Außerdem wollen wir über eine Reihe von passiven Immunisierungen bei Ruhrkranken mit dem Kruse'schen bakteriziden Serum berichten.

Während bei der passiven Immunisierung eine entgiftende Bindung in den Gewebsflüssigkeiten zu stande kommt, wird bei der aktiven Immunität ein cellulärer Prozeß ausgelöst, der sich schon in der lebhaften allgemeinen und lokalen Reaktion des Organismus auf die Injektion ausspricht. Daß jedoch auch mit der Einführung eines Heilserums zu passiven Immunisierungszwecken gewisse Zellvorgänge, die der Wirkung des artfremden Serums zuzuschreiben sind, auftraten, soll im folgenden noch mehr erläutert werden.

Aktive Immunisierungen verfolgen im wesentlichen zwei praktische Gesichtspunkte: Einmal die Erzielung eines hohen und für längere Zeit anhaltenden Schutzwertes, der auf der bakteriziden Qualität des Immunserrums beruht. Andererseits soll die Erwerbung der aktiven Immunität unter möglichst geringgradiger Störung des Allgemeinbefindens verlaufen.

Die Vorgänge, welche sich nach der Einverleibung von bakterienhaltigem Material im Organismus abspielen, verlaufen in den Bahnen excessiv gesteigerter Zellsekretionsprozesse.

Auf die Einführung der Bakterien erfolgt zunächst eine Mobilisierung des im normalen Blute aufgespeicherten Schutzapparates, der im normalen Serum bereits in mäßigen Mengen und unspezifischer Qualität vorhandenen bakteriolytischen, agglutinierenden und antitoxischen Reaktionsstoffe; vor allem treten aber die Leukocyten, die Defensivzellen *καὶ ἐξοχίην*, der bakteriellen Invasion entgegen.

Der Aufbrauch der den normalen Gewebsflüssigkeiten innewohnenden Schutzstoffe, die Vernichtung und der Zerfall zahlreicher Leukocyten erfordert als nächste Phase des Immunisierungsprozesses ein aktives Eingreifen des Organismus durch celluläre Reaktionsprozesse. Wo sich geeignete Zellrezeptoren vorfinden, tritt auf den bakteriellen Reiz eine Störung im Gleichgewichtszustand sekretionsfähiger Zellen auf; bei einer gewissen Reizintensität kommt es zur Bindung und daran anschließend zur Hypersekretion der empfindlichen Zellkomplexe, so daß schließlich eine für längere Zeit berechnete excessive Funktionsäußerung in einer spezifischen Direktionsrichtung bestehen bleibt. Wir erkennen, daß der vom Immunisator eingeleitete Immunisierungsprozeß in zahlreiche, einzelne, komplizierte Phasen zerfällt, die sich gegenseitig in ihrem Verlaufe beeinflussen können.

Die Quantität des verwandten Bakterienmaterials spielt nach allen praktischen Versuchen eine mehr subordinierte Rolle, natürlich inner-



halb gewisser Grenzen. Schon ganz minimale Bakterienmengen können sehr hohe bakterizide Schutzwerte wie hohe Agglutinationswerte hervorbringen. Ein unterer Schwellenwert, bei dem eben noch eine genügende Antikörperproduktion erfolgt, muß allerdings acceptiert werden; auf der anderen Seite sind bei größeren Dosen von Bakterienmaterial die Grenzen einzuhalten, in denen eine stärkere, anhaltende Schädigung des Organismus vermieden werden muß.

Mehr jedoch als die Quantität des Impfmaterials beeinflusst die toxische Qualität desselben die Zellreaktion.

Die sekretionsfähigen Zellkomplexe sind nicht auf jede beliebige Dosis von toxischem Material eingestellt; zu intensive toxische Reizwirkung auf ausgedehnte Zellkomplexe führt zu einer Lähmung der spezifischen Zellfunktionen, die als pathologisch-anatomisches Substrat Degenerationsprozesse an den beteiligten Zellen zur Folge haben.

Der funktionellen Dissociation des Zellprotoplasmas auf den bakteriellen Reiz hin, mit der diese gesteigerte Produktion von spezifisch wirksamen Reaktionskörpern verläuft, steht bei stärkerer Alterierung der Zellen ein destruktiver Zerfall der affizierten Protoplasmamoleküle gegenüber, durch den jede Regenerationsfähigkeit aufgehoben wird.

In höherem Maße als von der Menge des eingeführten Antigenmaterials hängt so die Reaktionsfähigkeit der Zellen des infizierten Organismus von der toxischen Ausbildung des Bakterienprotoplasmas ab. Damit macht sich ein neuer Faktor für das Problem der aktiven Immunität geltend.

In den meisten praktischen Versuchen, einen möglichst hohen Schutzwert des Serums zu erzielen, wurde nun der Hauptwert auf die Virulenz des jeweiligen Infektionserregers gelegt. Durch Tierpassagen sollte z. B. der Infektionswert von Kulturen zu einem möglichst hohen Maximum von Infektiosität gesteigert werden, um danach erst für Impfzwecke tauglich zu sein.

Die Idee, daß, je virulenter sich der Mikroorganismus erweist, desto größer die Möglichkeit der Ambozeptorenbindung ist, wird speziell von der Pfeifferschen Schule vertreten. R. Pfeiffer gelang es mit glücklichem Erfolg, experimentelle Aufschlüsse über die Theorie der Virulenz zu geben.

Die einfachen Anschauungen über einen einheitlichen Bau der Bakterienzelle und die Auslösung von einheitlichen, unspezifischen Schutzkörperwirkungen im Serum sind dank den Forschungen Pfeiffers widerlegt worden und machten komplizierteren Vorstellungen Platz.

Zahlreiche Untersuchungen lehrten, daß das Bakterienprotoplasma aus differenten Rezeptoren zusammengesetzt ist.

Die Virulenz führte Pfeiffer auf eine verschiedene Ausprägung der Affinität der einzelnen Rezeptoren zu den Immunkörpern des bakteriziden Serums resp. auf eine stärkere Vermehrung der Zahl der Rezeptoren zurück. Unter gewissen Bedingungen, durch Tierpassagen, Züchtungsversuche auf differenten Nährböden, kann eine variable Beeinflussung des Rezeptorenapparates erfolgen; ein Schwinden einzelner Rezeptoren, ein Hypertrophieren anderer.

Pfeiffers Untersuchungen, die den Hauptwert auf die Steigerung der Virulenz zur Erzeugung hoher bakterizider Schutzwerte legten, wurden durch Experimente Wassermanns dahin ergänzt, daß die celluläre Reaktion im Organismus, der zweite Faktor im Phänomen der Immunität, eine noch wichtigere Rolle übernehme. Wassermann

will an Stelle der bisherigen Virulenzprüfung die mehr oder minder ausgeprägte, quantitativ meßbare Fähigkeit der Ambozeptorenbindung eines Immunserums gestellt wissen.

Nach eigenen Versuchen über die quantitativ meßbare Bindungsfähigkeit der Immunkörper eines Ruhrimmunserums gegenüber zwei verschieden virulenten Ruhrstämmen ergeben sich ähnliche Verhältnisse, wie solche von Wassermann ausführlicher beschrieben sind. Unter zahlreichen vergeblichen Versuchen hebe ich die folgenden, in denen es bei 2 Kaninchen gelang, ein stärker wirksames Immunserum nach nur einmaliger Injektion zu erzielen, hervor.

Zur Verfügung standen zwei Ruhrstämmen, ein stärker virulenter, aus einem frischen Ruhrfall gezüchtet (= Stamm Barmen) mit einer Virulenz von  $\frac{1}{10}$  Oese (= 0,0002 g); von dem weniger virulenten Stamm, der mir von Herrn Prof. Dr. Kollé-Berlin freundlichst überlassen war, tötete etwa  $\frac{1}{2}$  Oese (= 0,001 g) ein gleich kräftiges Meerschweinchen innerhalb 24 Stunden (= Stamm Berlin).

An 2 aufeinanderfolgenden Tagen wurden zwei in ihren Gewichtsverhältnissen übereinstimmende, kräftige Kaninchen (= Kaninchen 84 und 85) mit je  $\frac{1}{10}$  Oese vom Stamm Barmen und Berlin intraperitoneal infiziert. Nach 8 Tagen wurde den Tieren eine größere Menge Blut aus der Carotis entzogen und das abgeschiedene Serum auf seine bindende Kraft gegenüber den beiden genannten Dysenteriestämmen geprüft.

Gleich schwere Meerschweinchen erhielten intraperitoneal bakterizides Kaninchenserum in verschieden großer Dosis, gemischt mit einer absolut tödlichen Dosis des Stamms Barmen.

Experiment I. Meerschweinchen No. 12, 185 g schwer, erhält am 14. I. 1905 0,1 ccm Serum vom Kaninchen 85 (mit Stamm Berlin immunisiert) zusammen mit  $\frac{1}{10}$  Oese Dysenterie Barmen.

Tier bleibt am Leben.

Experiment II. Meerschweinchen No. 14, 210 g schwer, erhält am 14. I. 0,05 ccm Serum vom Kaninchen 85 intraperitoneal, zusammen mit  $\frac{1}{10}$  Oese Dysenterie Barmen.

Tier bleibt am Leben.

Experiment III. Meerschweinchen No. 13, 180 g schwer, erhält am 17. I. 0,1 ccm Serum vom Kaninchen 84 (mit Stamm Barmen immunisiert) intraperitoneal mit  $\frac{1}{10}$  Oese Dysenterie Barmen.

Tier lebt.

Experiment IV. Meerschweinchen No. 16, 215 g schwer, erhält am 17. I. 0,05 ccm Serum vom Kaninchen 84 intraperitoneal zusammen mit  $\frac{1}{10}$  Oese Dysenterie Barmen.

Am 18. I. fühlt sich Tier sehr elend, frißt nichts. Am Morgen des 19. I. tot gefunden. Gewichtsabnahme um 43 g.

Der weniger virulente Stamm Berlin, mit dem Kaninchen 85 behandelt worden war, lieferte demnach ein Serum, das einen höheren bakteriziden Titer entfalten konnte als der virulentere Stamm Barmen; der weniger virulente Stamm war also befähigt, eine größere Menge von Ambozeptoren zu fesseln.

In den früheren Versuchen, Tiere wie Menschen aktiv zu immunisieren, scheint nun die Idee leitend gewesen zu sein, die auf die Einverleibung von lebenden Infektionserregern den Hauptnachdruck legte. Praktisch im großen Maßstab durchgeführt wurde die aktive Immunisierung gegen Cholera von Ferran in Spanien und Haffkine in Indien; letzterer verwandte jedoch zur ersten Einspritzung

bereits abgeschwächte Kulturen und injizierte noch 5 Tage später virulentes Material.

Die Verwendung von abgeschwächtem Virus war bereits von Pasteur beim Milzbrand versucht worden. Für eine Abschwächung der Bakterien kamen Tierpassagen, chemische und physikalische Prozeduren in Betracht, die jedoch nur bei der Abschwächung des Virus fixe bei der Lyssa zu praktischen Zwecken herangezogen wurden.

Ein weiterer Fortschritt auf dem Felde der aktiven Immunisierungsmethoden war es, als von Brieger, Kitasato und Wassermann abgetötete Kulturen zu Impfzwecken verwandt wurden. Die Tierversuche, welche nach einer einmaligen Injektion abgetöteter Typhusbakterien eine hohe bakterizide Fähigkeit des Tierserums ergaben, wurden von Pfeiffer und Kolle mit Erfolg auf Injektionen beim Menschen übertragen.

Mittelst Injektionen von 2 mg abgetöteter Typhuskultur (deren Virulenz  $\frac{1}{10}$  Oese betrug) erhielten beide Autoren einen Schutzwert des Serums der Behandelten, der dem bakteriziden Titre des Rekonvaleszentenserums entsprach.

Bassenge und Rimpau, die 8 Fälle von aktiver Immunisierung gegen Typhus genauer illustriert haben, verwandten möglichst kleine Impfdosen und erzielten bei Behandlung mit  $\frac{1}{30}$ ,  $\frac{1}{15}$  und  $\frac{1}{5}$  Oese abgetöteter Typhuskultur einen Schutzwert des Serums, der dem Agglutinationstitre und bakteriziden Titre der durch Krankheit erzeugten Immunität zum wenigsten gleichkam. Sie halten beim Sinken des bakteriziden Titres nach 3—4 Monaten eine neue, der ersten gleichkommende Injektionsdosis für angebracht.

In großem Maßstab wurden Impfungen gegen Typhus von C. Wright 1898/99 bei indischen Truppenteilen vorgenommen, die, ebenso wie die prophylaktischen aktiven Immunisierungen der englischen Truppen im südafrikanischen Feldzuge, im allgemeinen von einem gewissen Erfolg begleitet waren.

Nach dieser kurzen Schilderung der cellulären Prozesse im Organismus bei der aktiven Immunisierung wollen wir versuchen, an der Hand der für die Auslösung aktiver Immunität gültigen Gesichtspunkte einzelne technisch wichtige Immunisierungsmethoden mit einschlägigen experimentellen Versuchen zu besprechen, die Vorgänge im Organismus bei der Dysenterieimmunität zu erläutern, um ein Urteil über eine erfolgreiche Impfung gegen diese Seuche gewinnen zu können.

Nur sehr vereinzelte Versuche zur Erzielung aktiver Immunität beim Menschen gegen Ruhrbacillen liegen vor; leider fehlen in den spärlichen Mitteilungen meist die Angaben über den bakteriziden Titre des Immunsersums, den wir als Index für den Schutzwert eines Serums anzusehen pflegen.

Die ersten beiden Versuche am Menschen beschrieb Kruse: In dem einen Falle handelte es sich um eine unabsichtliche Laboratoriumsinfektion mit einer Kultur des Kruseschen Bacillus, so daß diese zufällige Infektion eine direkte Stütze für die Spezifität des Erregers der Ruhr bot.

Vor der Ansteckung war das Blutserum des Infizierten auf agglutinierende Fähigkeiten gegenüber dem Ruhrbacillus untersucht und nur eine geringfügige Agglutinationskraft konstatiert worden. Bereits am 4. Tage nach Ausbruch der ersten Krankheitssymptome stellte sich ein Agglutinationsvermögen in einer Verdünnung von über 1:100 ein, die

Agglutinationsfähigkeit sank jedoch — dem leichten klinischen Verlauf hier entsprechend — im Verlauf von 3—4 Wochen stark; das Serum war nach 23 Tagen in einer Verdünnung von 1:50 nicht mehr wirksam.

In Parallele mit dem zufälligen Infektionsexperiment mit Reinkulturen des Kruseschen Bacillus kann ich die Ruhrerkrankung stellen, die mich bei Untersuchungen über das Gift des Ruhrbacillus betraf. — Durch unvorsichtige Ansaugung von bacillenhaltiger Agaraufschwemmung traten bei mir die Erscheinungen einer mittelschweren Ruhrerkrankung ein: Blutig-schleimige Entleerungen bis zu 25—30 Stühlen pro die, quälende Tenesmen, gänzliche Appetitlosigkeit, seltenes Erbrechen, geringfügige Schmerzen im linken Hypochondrium, leichter Kopfschmerz; höhere Temperaturgrade als 37,9° C konnten nicht konstatiert werden.

Die Inkubationsdauer wurde genau präzisiert; sie betrug bis zum Auftreten der ersten, nachts plötzlich einsetzenden Diarrhöen 9 Tage; Prodromalerscheinungen fehlten.

Von weiterem Interesse war in diesem von mir kontrollierten „Selbstversuch“, daß vor 3 $\frac{1}{2}$  Wochen eine präventive Impfung von 10 ccm des Kruseschen bakteriziden Serums vorgenommen war. Die prophylaktische Schutzwirkung war also in diesem Falle verschwunden, zum mindesten stark herabgesetzt, worauf vielleicht der relativ leichte Charakter der Erkrankung hindeutete. Am 6. Tage nach dem ersten Auftreten der Krankheitssymptome war das Agglutinationsvermögen des Serums, das vorher bei 1:50 *B. dysenteriae* (Stamm Kruse, Shiga, Müller) unbeeinflusst ließ, Stamm Flexner noch in Spuren agglutinierte, auf 1:100 gestiegen, nach 12 Tagen betrug es 1:330, war in dieser Verdünnung noch nach ca. 8 Wochen schwach wirksam, um dann plötzlich abzusinken. Nach 10 Wochen betrug die Agglutinationskraft wieder 1:100, nach 4 Monaten war das Serum in einer Verdünnung von 1:50 gegenüber dem Kruseschen Bacillus nicht mehr wirksam.

Analog meinen zahlreichen Untersuchungen des Ruhrrekonvaleszenten-serums sank auch in diesem Falle die nur mäßig ausgesprochene Agglutinationsfähigkeit etwa innerhalb eines Vierteljahres rapid, um danach zu den normalen Verhältnissen wieder zurückzukehren.

Injektionen von sterilisierten Kulturen beim Menschen wurden von Kruse vorgenommen, der sich selbst mit einem Assistenten am hygienischen Institut zu Bonn mit je 1 ccm einer bei 55° abgetöteten Bouillonkultur subkutan injizieren ließ. Als nächste lokale Erscheinung traten noch am Abend desselben Tages Schwellung und Schmerzen auf, die nach 24 Stunden ihren Höhepunkt erreichten. Nach 3 Tagen nahmen die örtlichen Erscheinungen an Intensität ab, um am 4. Tage wieder zuzunehmen. Dieser unbequeme Zustand hielt etwa eine Woche lang an, danach trat sehr allmählich Besserung ein. In dem einen Falle erfolgten auch geringe fieberhafte Allgemeinsymptome. Die Agglutinationskraft des Serums, die vor der Impfung gar nicht oder nur sehr schwach ausgeprägt war, erhöhte sich bereits am 5. Tage um ein geringes, stieg am 8. Tage in dem einen Fall auf 1:100, im anderen betrug sie nur 1:50. In den folgenden Tagen wurde als Maximum eine agglutinierende Wirkung des Serums in einer Verdünnung von 1:200 erreicht.

Leider fehlen in beiden Fällen Untersuchungen über die bakterizide Wirkung des Blutserums. Aus der mittelstarken Agglutinationsreaktion, die das Blut nach der Injektion einer abgetöteten Kultur erhielt, ließ sich jedoch erkennen, daß die Impfung mit einer geringen Kulturmenge

auch bei der Ruhr eine beträchtlichere Produktion von Reaktionsstoffen hervorrief.

In zweiter Linie lehrten nach Kruses Ansicht diese Immunisierungsversuche, daß den Ruhrbakterien stärker toxisch wirkende Substanzen innezuwohnen scheinen, als wir dieselben bei Typhus- und Cholerabacillen kennen.

Fast analog dem Kruseschen Selbstversuch verlief die Immunisierung, die Shiga an sich anstellte. Shiga injizierte sich etwa  $\frac{1}{12}$  abgetötete Agarkultur subkutan. An demselben Tage noch trat eine Temperatursteigerung bis  $38,6^{\circ}$  C auf, Mattigkeit, Spannungsgefühl an der Injektionsstelle zeigte sich, die Stelle schwell an, ebenso die zugehörigen Achseldrüsen. In den beiden folgenden Tagen nach der Injektion erfolgte eine geringe Abnahme dieser Beschwerden; vom 3. Tage ab trat wieder eine Steigung auf; Temperatursteigerung am 8. Tage auf  $38,9^{\circ}$  C. Die lokale Schwellung war sehr stark, Fluktationsgefühl stellte sich ein. Es erfolgte eine Incision, die eine sehr derbe Infiltration des Unterhautbindegewebes ergab. Die tieferen Schichten waren eiterig infiltriert; der Eiter erwies sich als steril. Am 10. Tage trat deutliches Agglutinationsvermögen des Blutserums auf.

Wir haben diese Versuche am Menschen etwas ausführlicher zitiert, einmal, da nur sehr spärliche Mitteilungen einer aktiven Immunisierung vorliegen, ferner um einen Vergleich mit den analogen Versuchen bei der Immunisierung gegen Typhus und Cholera zu gewinnen. Einige neuere Experimente am Menschen wurden von russischen Autoren in jüngster Zeit publiziert. Zeitlin (4) beobachtete auf Anregung Gabrithschewskys die Agglutinationsreaktion im Blut nach Einführung bei  $60^{\circ}$  abgetöteter eintägiger Agardysenteriekulturen per os.

Nach einer Einverleibung steigender Dosen innerhalb eines Zeitraumes von 4 Wochen trat nur eine ganz geringfügige Steigung des Agglutinationsvermögens auf (von 1:40 vor dem Versuch auf 1:60 nach ca. 4 Wochen), die bakterizide Fähigkeit war überhaupt nicht gesteigert worden. Nach diesem Experiment, das übrigens von keinerlei subjektiven oder objektiven Erscheinungen begleitet war, scheint also eine Immunisierung durch den Digestionstraktus zur Erzielung einer aktiven Immunität wenig aussichtsreich.

Ueber zwei weitere Vaccinationsversuche gegen Dysenterie berichtet Rosenthal (5); dieselben wurden an ihm selbst und einem Diener des bakteriologischen Instituts zu Moskau vorgenommen.

Nach der ersten Methode (cf. Kruses Versuch) wurde 1 ccm einer abgetöteten Bouillonkultur subkutan injiziert. Auf die Injektion stieg die Temperatur bis  $37,8^{\circ}$  C; Unbehagen, Kopfschmerzen und Gelenkschmerzen stellten sich ein. An der Injektionsstelle bildete sich ein großes, schmerzhaftes Infiltrat. Im Verlauf von 48 Stunden klang die Allgemeinreaktion ab, die lokalen Erscheinungen schwanden binnen einer Woche. 2 Wochen nach der Injektion trat jedoch keine Agglutinationsfähigkeit gegenüber dem Bacillus auf.

Nach der zweiten Methode (Shiga) wurden zunächst 0,5 ccm einer Emulsion einer Dysenterieagarkultur in Kochsalzlösung ( $\frac{1}{2}$  Oese in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung) zusammen mit 0,5 ccm Dysenterieheilserum injiziert. Ein kleines Infiltrat an der Impfstelle, Fieber bis  $37,8^{\circ}$  C, Mattigkeit trat danach ein. Nach 24 Stunden Wiederherstellung. Am 4. Tage wurde dann 1 Oese abgetötete Dysenterieagarkultur zu 1 ccm in Kochsalzwasser gelöst ohne Serumzusatz injiziert.

Die Reaktion hiernach war stärker; Fieber bis zu  $38,8^{\circ}$ ; jedoch verschwanden die Erkrankungssymptome nach 24 Stunden; während das Erythem und schmerzhaftes Infiltrat an der Injektionsstelle allmählich innerhalb von 2 Wochen zurückging.

Das Agglutinationsvermögen war von 1:40 (vor der Injektion) auf 1:300 gestiegen.

Leider war es mir nicht möglich, Injektionen von verschiedenartig gewonnenem Ruhrbacillenimpfstoff bei Menschen vorzunehmen; ich kann daher nur über eine größere Anzahl von Immunisierungen an Tieren, die speziell an Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen, in einigen Fällen an Hunden und an einer Ziege vorgenommen wurden, berichten.

Das Tierexperiment kann uns auch hier wertvolle Aufschlüsse über die Produktion von Schutzstoffen durch den lebenden Organismus liefern; analog den die Krankheit verursachenden Infektionen mit einem Infektionsstoff spielen sich die gleichen Zellreaktionen ab, Lysine, Agglutinine werden sezerniert, die Empfindlichkeit der Antikörper produzierender Zellen nach einer Richtung hin excessiv gesteigert und eine für längere Zeit anhaltende Zellsekretion in Funktion gesetzt. Die passendste, schonendste Impfmethode, die Höhe des Schutzwertes des Immunserums, die zu diagnostischen Zwecken dienende Agglutinationsfähigkeit, die Dauer des Schutzes, alle diese für die Immunisierung von Menschen wichtigen Momente können durch das Tierexperiment vorbildlich erläutert werden.

Allerdings können Tierversuche nicht ohne weiteres auf ähnliche Experimente am Menschen übertragen werden. Es gelingt zunächst bei Tieren nicht, das Symptombild einer echten bacillären Dysenterie mit ihrer typischen Lokalisation im Darm und den entsprechenden pathologischen Veränderungen zu erzeugen; allein die im Blut des Menschen wie der Tiere auftretenden Schutzstoffe lassen einen Vergleich zu. Außerdem müssen individuelle Differenzen, das Phänomen der verschiedenen starken Resistenz unter differenten Tierklassen, eine vollkommene Paralelisierung erschweren.

Nach intravenöser Einverleibung von etwa  $\frac{1}{20}$  Oese (Oese zu 2 mg) lebender Kultur erfolgte bei Kaninchen der Exitus innerhalb 24 Stunden bis 3 Tagen unter den Erscheinungen hochgradiger Abmagerung, starken Temperaturabfalls und Lähmungen erst der hinteren, dann der vorderen Extremitäten. Subkutan vertragen Kaninchen öfter noch  $\frac{1}{10}$  Oese lebender Reinkultur. Meerschweinchen scheinen häufiger durch größere Dosen — bis etwa 1 mg — zu Grunde zu gehen. Durchfälle konnte ich nur in wenigen Fällen konstatieren; öfter traten Diarrhöen bei Behandlung mit autolytisch gewonnenen, keimfreien Filtraten auf.

Durch intravenöse oder intraperitoneale Injektionen kleinerer Dosen — bei kräftigen Kaninchen von durchschnittlich  $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{50}$  Oese — gelang es jedoch meist, bereits nach einer einmaligen Einspritzung höhere Agglutinationswerte und einen mäßigen bakteriziden Schutzwert des Serums zu erhalten. Bei den höchsten Agglutinationswerten, die ich durch intravenöse Injektion von Kaninchen erhielt, war das Serum noch in einer Verdünnung von 1:1000 wirksam. P. Th. Müller (6), Dombrowski (7) erzielten durch subkutane Injektion bei Kaninchen einen Agglutinationstitre von höchstens 1:250, Dörr (8) einen solchen von 1:400. Diese mäßig hohen Agglutinationswerte dürften wie die enorme Empfindlichkeit kleinerer Tiere auf Rechnung der hohen Toxizität der Ruhrkulturen zu setzen sein.

Gewöhnlich trat eine erhöhte Agglutinationsfähigkeit nach einer einmaligen intravenösen Injektion bei Kaninchen am 3.—5. Tage auf; sie stieg meist innerhalb von 5—10 Tagen auf den Maximalwert, der durchschnittlich eine Wirksamkeit des Blutserums in einer Verdünnung von 1:300 bis 1:600 ergab. Nach ungefähr  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Jahr verschwand diese Agglutinationsfähigkeit nach der Einverleibung einer einzigen, niedrigen Dosis. Der bakterizide Schutzwert, der bei diesen dysenterie-immunen Kaninchen in einigen Fällen geprüft wurde, betrug im Durchschnitt nicht über eine Verdünnung von 1:100 gegenüber der einfachen tödlichen Dosis. Während die Agglutinationsfähigkeit des Immunsersums relativ schnell zurückging, war in einzelnen Fällen der bakterizide Titre nach  $\frac{1}{2}$  Jahr fast unverändert geblieben, in der Mehrzahl der Fälle jedoch stark gesunken bis auf die geringe bakterizide Wirkung normalen Serums.

Auf subkutane wie intraperitoneale Injektionen von abgetöteten Bakterien zu 1—2—3 Oesen antworteten Meerschweinchen und Kaninchen ebenfalls mit äußerst starken Reaktionen. Gewöhnlich starben Kaninchen nach intravenösen Injektionen von Dosen zu 2 mg. Hunde reagierten auf ungefähr die gleichen Dosen, wie diese bei Kaninchen angewandt wurden, mit gleich schweren Erscheinungen.

Bei einer Ziege, die subkutan mit abgetöteten Kulturen, beginnend bei 2 Oesen, injiziert wurde, trat 10 Tage nach der Einspritzung eine Steigerung des normalen Agglutinationsvermögens des Serums, das nur in einer Verdünnung von 1:30 ausgesprochen war, bis zu einer Verdünnung von 1:400 auf; 12 Tage nach dem Injektionstermin agglutinierte das Ziegenserum schon bei 1:660. Nach intravenöser Einspritzung der doppelten Dosis abgetöteter Ruhrbacillen 23 Tage nach der ersten Injektion trat schließlich eine Agglutinationsfähigkeit von 1:1000 noch deutlich auf. Martini und Lentz (9), die ebenfalls eine Ziege mit dem Stamm Shiga immunisierten, erhielten nach längerer Immunisierungsdauer sehr großer Dosen abgetöteter wie lebender Ruhrbacillen eine Agglutinationskraft von 1:1000; die Quantität der einverleibten Dosis trägt also nicht zur Gewinnung eines höheren Agglutinationswertes bei.

Versuchen wir einen Ueberblick über die Versuche am Tier zu gewinnen, so müssen wir zunächst die starke Empfindlichkeit, die kleinere Versuchstiere, speziell Meerschweinchen und Kaninchen, gegenüber dem meist zur Verwendung gelangten Dysenteriestamm Kruse von Ruhrkranken in Barmen, der aus den Dejektionen gezüchtet wurde, zeigen, hervorheben. In einzelnen Parallelversuchen, die an dieser Stelle nicht weiter erläutert werden sollen, wurde auch der Stamm Shiga zu Immunisierungszwecken bei Kaninchen benutzt; die kleinen Differenzen in den beiden Immunisierungstabellen waren jedoch eher auf eine geringere Virulenz resp. auf eine geringere Fähigkeit, Ambozeptoren auszulösen, bei dem Stamm Shiga zurückzuführen; im wesentlichen erwiesen sich bei einem Vergleich der beiden Immunsere, die mit diesen beiden Stämmen erhalten wurden, Stamm Kruse und Stamm Shiga als identisch.

Anders verhielt es sich mit dem mir von Herrn Prof. Kruse freundlichst zur Verfügung gestellten Stamm Flexner. Nicht allein relativ größere Dosen von diesem Stamm wurden von den Versuchstieren anstandslos ertragen, auch durch Erzielung höherer Agglutinationswerte (meist bis zur Verdünnung von 1:1000 erwies sich ein von Ka-

ninchen gewonnenes Immunserum wirksam) differenzierte sich dieser Dysenteriestamm deutlich vom Typus Kruse-Shiga. Ueber die speziellen Absorptionsversuche zur Identifizierung der 3 Stämme soll noch näher berichtet werden.

Jedenfalls ging aus zahlreichen Versuchen einwandsfrei hervor, daß der Stamm Flexner mit dem echten, der deutschen Ruhr charakteristischen Stamm Kruse und dem japanischen Erreger der Ruhr nicht identisch sein kann, sondern als eine besonders durch die Agglutination wohl zu unterscheidende Abart des echten Dysenterieerregers anzusehen ist.

Die gleiche starke Reaktion, die überaus große Empfindlichkeit selbst gegen kleinste Dosen von Ruhrbacillen erkennen wir auch in den spärlichen Mitteilungen, die über Immunisierungen an Menschen berichteten.

Im Kontrast zu dieser intensiven Reaktionsfähigkeit steht die relativ gering ausgesprochene agglutinierende Wirkung eines Immunserums gegen den zur Immunisierung verwandten Bacillus. Wir sahen auch hier, daß kein proportionales Verhältnis zwischen Virulenz und Agglutinationsfähigkeit besteht; wiederholt fiel mir bei meinen Immunisierungsversuchen auf, daß Stämme von geringer Virulenz eine höhere Agglutinationsfähigkeit eines Serums hervorbrachten, wie weit virulentere Stämme.

Leider stehen noch Prüfungen des bakteriziden Schutzwertes von Ruhrrekonvaleszenten aus; diesbezügliche Versuche hoffe ich noch nachträglich bringen zu können.

Bei kleinen Tieren, Meerschweinchen und Kaninchen, war jedenfalls der bakterizide Titre nicht besonders stark ausgeprägt.

Die allgemeine Reaktion auf die subkutane wie intravenöse Einverleibung von bacillenhaltigem Material war in den allermeisten Fällen sehr stark; nach den Injektionen trat eine stärkere Abmagerung auf, häufiger wurden auch bei Kaninchen höhere Temperaturen beobachtet. Am besten schien sich die Reaktionsfähigkeit des tierischen Organismus nach meinen Versuchen in den Leukocytenwerten wiederzugeben: wenige Stunden nach der Einspritzung einer gut wirksamen, weit unter der tödlichen Minimaldosis liegenden Bakterienmenge erfolgte eine stärkere Hypoleukocytose, der sich bald darauf eine intensivere Hyperleukocytose anschloß. Im Verlauf von 2—4—5 Tagen war das ursprüngliche Blutbild meist wieder hergestellt.

Wir versuchten nun, einzelne, in den letzten Jahren vorgeschlagene Immunisierungsmethoden auf den Dysenteriebacillus anzuwenden. Einmal konnte bei vergleichenden Untersuchungen der biologischen Blutzusammensetzungsverhältnisse der in den einzelnen Versuchen gewonnenen Immunsera der Wert dieser Methode bis zu einem gewissen Grade einer Kritik unterzogen werden, andererseits dürfte bei einer Konkurrenz der brauchbarsten Methoden eine Uebertragung des Tierversuchs auf den menschlichen Organismus unter gebotenen Umständen erleichtert werden.

Wir wissen, daß dieselben spezifischen Reaktionselemente im Serum immuner Tiere auftreten, welche im menschlichen Blut nach der Infektion nachzuweisen sind.

Bei der bacillären Dysenterie erscheint ein Vergleich der biologischen Blutbilder beim Tier und Menschen vielleicht noch eher angebracht als bei anderen infektiösen Erkrankungen, die ähnliche, wechselseitige Schlüsse zuließen.



Die Höhe des Agglutinationswertes tierischer wie menschlicher Sera nach der Dysenterieinfektion bewegt sich annähernd in den gleichen Grenzen. Die Empfindlichkeit ist, wenigstens nach den wenigen Mitteilungen einer Infektion mit Ruhrbacillen bei Menschen zu urteilen, etwa fast die gleich hohe, auch in Bezug auf die Dauer der Immunität scheinen ungefähr übereinstimmende Verhältnisse vorzuwalten. Immerhin dürfen solche Versuche nicht bedingungslos vom Tier auf den menschlichen Organismus übertragen werden; wie sich in derselben Tierklasse öfter tiefergehende Differenzen in der cellulären Antikörpersekretion geltend machen, die zum Teil durch individuelle Verhältnisse veranlaßt sind, resultieren bei Versuchen an verschiedenen tierischen Organismen weit größere Unterschiede, welche wieder zu vorsichtigen Schlußfolgerungen raten und nur einen relativen Wert beanspruchen dürfen.

Ein größeres statistisches Material ließe erst eine abschließende Beurteilung zu.

Die Ergebnisse der Versuche mit lebenden und abgetöteten Kulturen führten zu der Konsequenz, daß minimale, weit unter der tödlichen Dosis liegende Bakterienmengen wohl im stande waren, einen Organismus gegen die nachträgliche Infektion mit virulentem, bei Kontrolltieren tödlich wirksamen Material zu schützen. Die spezifischen Schutzkörper traten in den meisten Fällen in der gleichen Stärke auf wie nach der Einverleibung großer Dosen, die den Organismus stärker schädigten.

Bei den einzelnen Versuchsmethoden, die wir zur Erzeugung aktiver Immunität mit dem Dysenteriebacillus vornahmen, konnten jedoch die Momente, welche im Versuch beim Menschen hauptsächlich noch außer dem Auftreten von Schutzstoffen im Blut ins Gewicht fallen, nicht berücksichtigt werden.

Mit der aktiven Immunisierung sind meist Reaktionserscheinungen allgemeiner und lokaler Natur verbunden, die solche Versuche am Menschen störend beeinflussen und bisweilen bei Massenimpfungen sehr schwierig, ja unmöglich machen können. Die allgemeinen Reaktionserscheinungen äußern sich nach den Schilderungen der vorher zitierten Versuche in allgemeinem Krankheitsgefühl, Kopfschmerzen und gesteigerter Temperatur. Die lokalen Erscheinungen bestehen vornehmlich in Schmerzen und Spannungsgefühl an der Injektionsstelle wie einer stärkeren Schwellung derselben.

Subkutane Injektionen von Ruhrbacillen bei den kleineren gewöhnlichen Versuchstieren riefen nun in den meisten Fällen kaum nennenswerte Erscheinungen hervor; sehr selten wurden Schwellungen, Eiterungen oder Nekrotisierungen beobachtet.

Die Injektionen bei Tieren erfolgten daher in der größten Mehrzahl der Fälle intravenös, seltener intraperitoneal.

Von den Allgemeinsymptomen nach erfolgter Einspritzung wurden besonders die Temperaturverhältnisse, Gewichtsbeefunde und Leukocytenwerte notiert; immerhin einigermaßen brauchbare Schlüsse auf die allgemeinen Reaktionserscheinungen im Tierkörper konnten sich hieraus ergeben.

Von weit größerer Bedeutung waren aber die Untersuchungen des Serums der Versuchstiere auf Prüfung ihres bakteriziden Schutzwertes.

Von den Methoden, die zu Impfpurposes herangezogen wurden, kamen bei unseren Experimenten die Anwendung von durch Autolyse der

Ruhrbakterien gewonnenen bakterienfreien Filtraten (Methode Neisser-Shiga) in Betracht, ferner die trockenen, abwägbaren Impfpulver, die von Wassermann, nach einer anderen Herstellungsweise von Löffler in letzter Zeit zu derartigen Immunisierungsversuchen empfohlen wurden. Schließlich wurde noch der Wert der von Besredka empfohlenen Methode, der Immunisierung von mit Immunkörpern beladenen Bakterien, geprüft.

Um gleichmäßige Versuchsergebnisse zu erhalten, wurde stets derselbe Dysenteriestamm Kruse verwandt; sämtliche Experimente erfolgten an Kaninchen von ungefähr gleichen Gewichtsverhältnissen; die Prüfung des bakteriziden Schutzwertes der erhaltenen Immunsera wurde durch den Pfeifferschen Versuch ausgeführt; die Agglutinationsreaktion im hängenden Tropfen mikroskopisch beobachtet. Die Virulenz des Dysenteriestammes betrug  $\frac{1}{10}$  Oese lebender Kultur bei kräftigen Kaninchen von einem Gewicht von 2500—3000 g. Agglutiniert wurde dieser Ruhrstamm von einem kräftig wirksamen Kaninchenimmunserum noch in einer Verdünnung von 1:1000.

Zunächst erwähnen wir 4 Versuche, in denen Kaninchen mit dem von Neisser und Shiga hergestellten Impfstoff injiziert wurden.

Die Herstellung der Neisser-Shigaschen Impfflüssigkeit erfolgte nach der Vorschrift dieser Autoren: 24-stündige, schräge Agarkulturen wurden mit 5 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, 1 Stunde lang bei 60° C im Wasserbade erhitzt und danach 2 Tage im Brutschrank der aseptischen Autolyse überlassen. Nach Beendigung der Autolyse wurde die erhaltene, trübe Flüssigkeit durch sterile Tonfilter (Silberschmidt oder Reichel) gesogen und das Filtrat auf seine Sterilität geprüft.

Nach Neisser und Shiga (11) erwies sich ein derartiges Filtrat für Kaninchen äußerst giftig, indem bei intravenöser Injektion von 0,5 und 0,2 ccm unter Kollapserscheinungen, stärkster Abmagerung, Tem-

#### Experiment I.

Ein kräftiges, männliches, weißschwarzes Kaninchen wird intravenös am 14. XI. 1904 mit 0,3 ccm des Filtrats injiziert.

Datum	Gewicht	Temperatur	Leukocyten	Agglutination
14. XI.	2380 g	38,6° C	5 600	1:20 schwach + 1:40 —
15. XI.	2125 „	37,8° „	24 800	1:20 —
16. XI.	1980 „	38,4° „	26 300	1:20 — 1:40 —
17. XI.	2205 „	38,8° „	14 000	1:20 —
18. XI.	2150 „	39,2° „	14 000	1:50 + 1:100 + 1:200 —
19. XI.	2325 „	38,9° „	7 500	1:200 schwach + 1:400 —
22. XI.	2560 „	38,4° „	13 500	1:100 + 1:200 —
25. XI.	2500 „	38,6° „	8 200	1:200 schwach + 1:400 —

Der bakterizide Titre wurde am 8. Tage nach der Injektion geprüft. Gegen die tödliche Dosis ( $\frac{1}{10}$  Oese lebender Kultur) schützte das Immunserum in einer Verdünnung von durchschnittlich 1:50 ein 280 g schweres Meerschweinchen.

peraturabfall und Darmkatarrhen innerhalb von 2 Tagen der Exitus eintrat. In ähnlichen Versuchen, die Verf. mit einem durch Zertrümmerung der Ruhrbakterien in der Temperatur der flüssigen Luft und gleichzeitiger Autolyse gewonnenen Ruhrgift anstellte, tötete eine Dosis von 0,05—0,1 ccm kräftige Kaninchen in 1—2 Tagen. Schon vor Neisser und Shiga war dieses „Darmgift“ der autolytisch gewonnenen Dysenteriekulturen von Conradi (11) näher studiert; Conradi benutzte zur Gewinnung seiner Gifte lebende, aufgeschwemmte Bakterien.

Im Prinzip wurde bei diesen Versuchen im Gegensatz zu den früheren Methoden von aktiven Immunisierungen mit den intakten Bacillenleibern eine sterile Flüssigkeit benutzt, welche infolge der Autolyse der Bakterien die freien Rezeptoren derselben enthielt.

Die Proteinsubstanzen der Bakterienleiber waren somit größtenteils ausgeschaltet und damit vielleicht leichter resorbierbares, weniger lokal giftig wirkendes Impfmateriel gewonnen. Im ganzen wurden 4 Kaninchen mit dem Neisser-Shigaschen Impfstoff immunisiert.

### Experiment II.

Ein weibliches mausgraues Kaninchen erhält intravenös am 16. XI. 1904 0,3 ccm des Filtrats injiziert.

Datum	Gewicht	Temperatur	Leukocyten	Agglutination
16. XI.	2155 g	38,9° C	8 000	1 : 20 —
17. XI.	2090 „	38,5° „	32 400	1 : 20 —
18. XI.	1975 „	39,2° „	16 000	1 : 20 —
19. XI.	2215 „	39,2° „	16 000	1 : 60 +
				1 : 100 schwach +
20. XI.	2180 „	38,9° „	10 200	1 : 100 +
25. XI.	2290 „	38,7° „	7 600	1 : 50 +
				1 : 100 schwach +

Der bakterizide Titre wurde am 11. Tage nach der Einspritzung geprüft. Wirksamkeit in Verdünnung 1 : 50 bis 1 : 100.

In zwei weiteren Versuchen, in denen die Tiere zwischen 0,2 bis 0,5 ccm intravenös injiziert wurden, ergaben sich ähnliche Verhältnisse, so daß eine tabellarische Aufzeichnung nichts Neues böte.

Die erhaltenen Resultate entsprechen im großen und ganzen dem Bilde, daß bei Injektionen von lebenden wie abgetöteten Kulturen zur Beobachtung kommt. Die Temperaturverhältnisse ergeben kaum Beachtenswertes, das Gewicht der Tiere nahm bei den mittelstarken Dosen zunächst ab, um innerhalb weniger Tage wieder zum Anfangsgewicht zurückzukehren oder dasselbe häufiger zu überschreiten. Die Leukocytenwerte des normalen Tieres machten gleich nach der Injektion einer Hypoleukocytose Platz (so wurden im Experiment I 2 Stunden nach der Einspritzung 760, im Experiment II 1200 Leukocyten gezählt), auf die innerhalb 12—24 Stunden eine intensive Hyperleukocytose folgte. Das Allgemeinbefinden der Tiere nach der Einführung von 0,5 ccm Filtrat war sichtlich gestört; sie bewegten sich weniger lebhaft, ihre Freßlust nahm ab. Der bakterizide Titre, am 8.—12. Tage nach der Injektion geprüft, hob sich auf einen mäßig hohen Wert. Im Durchschnitt schützten, wie mehrere Versuche lehrten, Verdünnungen des Immunserums von 1 : 50 bis höchstens 1 : 100 Meerschweinchen von mittlerem Gewicht vor der einfachen tödlichen Dosis. Die Steigerung des Agglutinationsvermögens des Serums derart vorbehandelter Tiere setzte gewöhnlich am 3.—6. Tage

nach erfolgter Einspritzung ein und stieg in den nächstfolgenden Tagen rasch auf den Maximalwert, der nicht über eine Verdünnung von 1:200 hinaus wirksam war. Der Agglutinationstitre war bei einer neuen Prüfung nach ca.  $\frac{1}{4}$  Jahr rapid gesunken; das Serum erwies sich nur noch in einer Verdünnung von 1:50 schwach wirksam, der bakteriolytische Titre dagegen war nicht nennenswert gefallen.

Wassermann (12) schlug nun bei der aktiven Immunisierung gegen Typhus eine wesentliche Verbesserung der zuletzt ausgeführten Immunisierungsmethode vor. Das nach der Autolyse gewonnene Filtrat wurde im Vakuum zum Trocknen eingedampft, so daß eine geringe Menge eines keimfreien, grauweißen Pulvers resultierte, das die bei der Autolyse in Lösung gegangenen Körpersubstanzen der Bakterien enthielt. In Glasröhren steril eingeschmolzen, bot dieses Impfpulver den großen Vorzug der Abwägbarkeit und einer auf längere Wochen und Monate sich erstreckenden Haltbarkeit. Außerdem ergibt sich bei der Verwendung dieses Impfpulvers der weitere Vorteil, daß die entzündungserregende Eigenschaft, die das Protoplasma der Bakterien auf das Gewebe bei subkutanen Injektionen ausübt, hier fortfällt.

In analoger Weise behandelte ich meine autolytisch gewonnenen Dysenterieflüssigkeiten und konnte an 2 Impfversuchen bei Kaninchen ungefähr die gleichen Resultate verzeichnen, die bei Verwendung der frisch erhaltenen, rezeptorenhaltigen Lösung eintreten. Der Agglutinationstitre war jedoch in beiden Fällen höher gestiegen als bei den nach der Methode Neisser-Shiga injizierten Tieren; das Serum war hier noch in einer Verdünnung von 1:400 bis 1:500 wirksam; der bakteri-zide Titre war der gleiche geblieben.

Die praktischen Vorzüge der genauen Dosierbarkeit und der Haltbarkeit dieses Impfpulvers (nach Wassermann hatte das Typhus-trockenpulver noch nach 3 Monaten seine volle Wirksamkeit bewahrt) sichern dieser Immunisierungsmethode einen ersten Platz unter den bisher gebräuchlichen Methoden der aktiven Immunisierung.

Ueerblicken wir die bisherigen praktischen Versuche und Methoden der künstlichen Immunisierungen gegen einzelne Infektionskrankheiten, so sehen wir den Bestrebungen aller Experimentatoren das Ziel zu Grunde liegen, einen möglichst unschädlichen, gut dosierbaren und haltbaren Impfstoff zu gewinnen, dessen immunitätsauslösende Kraft im Organismus möglichst gut ausgeprägt ist. Von lebenden virulenten Bakterien ging man zu abgeschwächtem oder abgetötetem Kulturmaterial über, man kombinierte passive mit aktiver Immunisierung, die Technik der Darstellung des Impfmateri-als wurde mehr und mehr vervollkommenet, an Stelle von weniger gut haltbaren Impfflüssigkeiten schlug man die Verwendung von haltbarem und dosierbarem Impfpulver vor. Die Beziehungen der Virulenz zur Auslösung reichlicher Mengen spezifischer Schutzstoffe wurden eingehends studiert, der Verlauf, Dauer und Höhe der Immunität genauen Beobachtungen am Tier und Menschen unterzogen, die quantitativen Bindungsverhältnisse zwischen Bakterienrezeptoren und Antikörpern gesetzmäßig klargelegt.

In allen praktischen Versuchen, aktive Immunität zu erzeugen, erkennen wir übereinstimmend das Prinzip ausgesprochen, daß die Vitalität der Bakterienzellen für die Auslösung von Antikörperreaktionen nicht maßgebend ist.

Ein weiterer Gesichtspunkt war der, dem Organismus die Bewältigung der Mikroorganismen im Blut dadurch zu erleichtern, daß man

gelöste Bakterienzellprodukte einzuführen versuchte. Statt ganzer, intakter Zellen wurden mit guten Erfolgen autolytisch gewonnene, sterile Zerfallsprodukte von Bakterien, die freien Rezeptoren derselben, injiziert.

Der Auflösungsprozeß der Zellen, der sich zunächst im Blut bei der Infektion oder Injektion fremdartiger Zellsubstanzen abspielt, war durch den Prozeß der aseptischen Autolyse imitiert; eine Auflösung von Bakterien wie anderer Zellen (Erythrocyten) vor der Einspritzung löste ebenso gut die spezifischen Reaktionsprodukte aus den bildungsfähigen Zellkomplexen aus wie die Verwendung ganzer intakter Zellen.

Derselbe Prozeß der Auflösung von Zellen und des Freiwerdens ihrer Endotoxine spielt sich ferner in älteren Typhus- und Cholera-kulturen ab. Wir begegnen so bei den Bestrebungen, antitoxische oder bakterizide Heilsera zu schaffen, häufiger solchen Angaben, daß die durch Injektion steigender Dosen keimfreier Bouillonkulturfiltrate gewonnenen Tiersera neben antitoxischen Schutzstoffen auch bakterizide Antikörper enthalten sollten.

Wir müssen jetzt zu der Folgerung gelangen, daß in solchen älteren Filtraten durch Zersetzungs Vorgänge lösliche Endotoxine mit durch die Tonzelle gelangten und eine spezifische Wirkung im tierischen Organismus entfalten konnten. Die autolytische Extraktionsflüssigkeit enthält ebenso lösliche Zellbestandteile wie ihre Absonderungsprodukte, präzipitogene Substanz, Toxine und Endotoxine. Aehnlich extrahiert das die Gewebszellen des Körpers umspülende Serum diesem die beständig frei von den Zellen sezernierten Reaktionskörper.

Alle Versuche zur Gewinnung brauchbarer Impfstoffe mußten jedoch unter gewissen Kautelen verlaufen: Einmal mußten höhere Temperaturgrade bei ihrer Darstellung vermieden werden, andererseits durften keine zu energisch auf die Zellen wirksamen chemischen Substanzen verwendet werden, da durch beide Manipulationen die Wirksamkeit der Antikörper auslösenden Substanzen herabgesetzt oder gänzlich aufgehoben wurde.

Der Verwendung rein mechanischer Kräfte zur Erzeugung geeigneter Immunisierungssubstanzen bediente sich Koch bei der Darstellung seines Tuberkulins; Macfadyen arbeitete nach dem gleichen Prinzip bei der Verreibung der Bakterien unter hohen Kältegraden.

Die Tatsache, daß trockene, bis über 100° erhitzte Enzyme ihrer Aktivität nicht verlustig gehen, wurde von Löffler (13) in jüngster Zeit zur Darstellung brauchbarer Impfpulver verwendet.

Mit trockenem Hühnereiweiß, das auf 150° erhitzt wurde, ließ sich bei Kaninchen ein wirksames präzipitierendes Serum hervorrufen.

Durch Injektion bei 120° während 2—3 Stunden abgetöteter, getrockneter Bakterien ließ sich ein agglutinierendes wie bakterizides Serum bei Tieren erzeugen.

In drei Versuchsreihen habe ich das Loefflersche Verfahren zur Gewinnung von agglutinierenden und bakteriziden Seris gegenüber dem *Bac. dysenteriae* einer Nachprüfung unterzogen.

Von 3—4tägigen Dysenterieagarkulturen wurde der Bakterienrasen sorgfältig abgestrichen und die gewonnenen, feuchten Bakterienmassen auf sterile Glasplatten gebracht, abgewogen und getrocknet. Danach kamen die getrockneten Massen in den Trockenschrank, in dem sie durchschnittlich 2 Stunden lang bei 110—130° erhitzt wurden.

Vor den Injektionen wurden stets größere, getrocknete Bakterienmengen in Bouillon ausgesät; die Bouillon erwies sich steril. Die ge-

trockneten Bakterien wurden dann im Achatmörser zerrieben, bis ein feines, graues, spärliches Pulver resultierte. In einzelnen Gewichtsmengen abgewogen wurde es in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zu Injektionen benutzt.

0,005 g Bakterienpulver in 1 ccm steriler, 0,875-proz. Kochsalzlösung verrieben und aufgeschwemmt, werden einem kräftigen, weiblichen, grauweißen Kaninchen von 2815 g intravenös injiziert. Das Agglutinationsvermögen des Blutserums dieses Kaninchens war vor der Injektion in einer Verdünnung von 1:30 dem bei Dysenteriae-Kruse gegenüber noch schwach wirksam, die Leukocytenzahl des normalen Tieres betrug 5600, 0,5 und 0,75 ccm Serum schützten Meerschweinchen nicht vor der einfachen tödlichen Dosis. Während der ersten 4 Tage nach der Injektion trat eine Gewichtsabnahme um 235 g ein; die Temperatur blieb annähernd die gleiche. Direkt nach der Injektion trat eine stärkere Hypoleukocytose ein (1100 Leukocyten), die Leukocytenzahlen stiegen dann nach ca. 20 Stunden rapid auf 16800, um allmählich in den folgenden Tagen wieder zur Norm zurückzukehren. Am 5. Tage wurde dem Tier Blut entnommen, das Serum agglutinierte Ruhrbacillen noch bei einer Verdünnung von 1:100 deutlich. Nach 12 Tagen erwies sich das Serum noch bei einer Verdünnung von 1:200 gut wirksam. Die bakterizide Fähigkeit des Serums wurde am 15. Tage nach der Injektion geprüft; 0,05 ccm Serum schützten Meerschweinchen vor der tödlichen Minimaldosis. 3 weitere Experimente verliefen ohne besondere Abweichungen von dem erstbeschriebenen Versuch ähnlich.

Eine kleinere Reihe von Tieren ging bei diesen Experimenten zu Grunde, zum Teil weil zu hohe Dosen verwandt worden waren. Bei anderen Versuchen wieder wurde keine bakterizide wie agglutinierende Wirkung erzeugt, sehr wahrscheinlich weil die Bakterien vor dem Erhitzen nicht genügend getrocknet waren. Im allgemeinen waren die Erfolge, wie sie bei 4 Tieren beobachtet und kontrolliert wurden, relativ gute; nur wurde durchschnittlich ein etwas geringerer Schutzwert als bei Verwendung lebender oder abgetöteter Bacillen erreicht.

Jedenfalls geht aus diesen Versuchen hervor, daß es gelingt, mittelst trocken erhitzter Bakterien, die zu einem abwägbaren, feinen Pulver verrieben sind, Antikörper im Blut der damit behandelten Tiere auszulösen. Die Verwendung eines solchen sterilen Impfpulvers verfolgt weiter den praktischen Zweck des persönlichen Schutzes des Immunisators bei seinen Impfungen.

Wir haben darauf hingewiesen, daß nur durch eine celluläre Reaktion im Organismus, die auf den Reiz von Bakterien wie von ihren Giftstoffen ausgelöst wird, eine für monate- bis jahrelange Schutzdauer gegen die Infektion geschaffen wird.

Wir erkannten weiter, daß die Einverleibung von Bakterien in den menschlichen Organismus nur unter gewissen Kautelen stattzufinden hat, die eine Ausschaltung oder wenigstens eine möglichst große Abschwächung der Wirkungen der Protoplasmasubstanzen der Bakterien betrafen. Die Einverleibung minimaler Quantitäten von sterilisiertem Impfstoff in höchstens 2—3, einige Wochen auseinanderliegenden, Impfterminen ergab bei den bisherigen praktischen Versuchen, die in größerem Umfang bei Impfungen gegen Typhus angestellt wurden, relativ gute Erfolge.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Anaerobe Bakterien als Ursache von Nekrose und Eiterung beim Rinde.

Von **Louis Roux**,

Dr. med. vet. in Lausanne (Schweiz), gew. Assistenten am veterinär-pathologischen Institute in Bern.

Die anaeroben Bakterien haben bei den Tieren eine sehr große Bedeutung. Rauschbrand, Starrkrampf, malignes Oedem kommen häufig vor und werden durch Keime dieser Art verursacht. Daneben spielen auch zahlreiche, bis jetzt wenig untersuchte Anaeroben eine Hauptrolle bei manchen Eiterungen und gangränösen Prozessen. Der am meisten genannte dieser Erreger ist sicher der Nekrosebacillus. Seit den Untersuchungen von Bang (1), Schmorl (20), Jensen (9), Ernst (4) gilt er als das spezifische Bakterium des tiefgehenden, geschwürigen und nekrotischen Zerfalles der verschiedenen Gewebsarten. In der Haut, im subkutanen Bindegewebe, in den Schleimhäuten ruft er die gefährlichsten Nekrosen hervor. Ganz besonders veranlaßt er die multiplen Lebernekrosen beim Rinde. Dank seiner ziemlich typischen Gestalt, ist er verhältnismäßig leicht in einem mikroskopischen Strichpräparate von erkranktem Gewebe zu erkennen. Indessen beschrieben ihn manche Autoren (Schmorl, Jensen, Ernst) als höchst polymorph und legen mehr Gewicht auf die besondere Art der Gewebsveränderungen, die nach den Genannten als spezifisch zu betrachten sind. Daher führt man jedesmal, wenn Nekrose auftritt, dieselbe auf den genannten Bacillus zurück. Dementsprechend wird er als sehr pathogen angesehen, trotzdem die Impfversuche, die man mit Reinkulturen anstellte, öfters nicht das erwartete Resultat lieferten. Imminger (8) ist der Ansicht, daß man eine Virulenzsteigerung infolge Symbiose anzunehmen hat. Anderweitige Erkrankungen oder der Uebertritt von nekrotisierenden Toxinen in das Blutserum haben zweifelsohne auch eine Bedeutung, indem sie durch Schwächung der Resistenz des Organismus den Eintritt der Nekrose erleichtern. Frank (5) stellt ebenfalls fest, daß der Nekroseerreger die Anwesenheit anderer Mikroben erheischt, um sich ansiedeln zu können. Bis jetzt hat man gewöhnlich Kaninchen oder Mäuse zu Impfversuchen mit Reinkulturen gewählt, bei denen die Impfergebnisse öfters ergebnislos bleiben. Braucht man dagegen nekrotisches Rohmaterial zum Impfen, so erhält man mit Sicherheit ein Krankheitsbild, das den spontanen Störungen entspricht. Aus den Arbeiten von französischen Forschern, insbesondere von Rist (22), ersieht man von neuem die hervorragende Wichtigkeit der anaeroben Bakterien. Dieselben sind schuld an dem üblen Geruch des Eiters. Im folgenden sind einzelne Fälle von tiefgehenden Nekrosen und Abscessen des Rindes genauer auf ihren Bakteriengehalt und die Virulenz der einzelnen isolierten Arten untersucht.

Fall No. I. Bösartiges Klauengeschwür. Sehnen- und Sehnencheidenentzündung mit fibrinös-jauchigem Exsudat bei einer Kuh. Mikroskopisch sind feinste Stäbchen festzustellen. Einzelne sind Gram-positiv, andere nur mit den gewöhnlichen Methoden zu färben, noch andere sind nicht färbbar und deshalb wohl abgestorben. Gelatineplatten von diesem Material blieben völlig steril. Somit sind nur anaerobe Arten vorhanden.

Fall No. II. Rechter Fuß einer Kuh mit bösartigem Klauengeschwür, Durchbruch nach dem Klauengelenke. Viel breiähnliche Jauche von deutlicher, alkalischer

Reaktion. Dieselbe enthält viele Streptokokken, feine Stäbchen, teilweise nach Gram färbbar, teilweise nicht. 2 Jahre später wurde das Material nochmals untersucht. Es konnten nur noch eine spärliche Zahl von Bacillen gefärbt werden und die Kulturen bleiben erfolglos.

Fall No. III. Bösartige Klauengeschwüre an 2 Füßen mit Durchbruch nach den Klauengelenken bei einer Kuh. Die mikroskopische Untersuchung ergibt im Eiter viele feine Kokken, große Streptokokken, beide nach Gram färbbar. Ferner dicke und sehr dünne Stäbchen, die nur mit Methylenblau gefärbt werden können. Die Reaktion des Eiters ist eine deutlich alkalische. Die Kulturen auf Gelatineplatten ergeben nur *Bacterium vulgare*.

Fall No. IV. 2 Füße einer Kuh mit bösartigen Klauengeschwüren, mit nekrotischen Herden im subkutanen Bindegewebe und Durchbruch nach den Klauengelenken. Sehr viele feine Stäbchen, auch einige größere und drittens wenige nach Gram färbbare Kokken. Die Kulturen werden erst nach 2 Jahren gemacht und ergeben nur einen anaeroben *Bacillus* mit Köpfchensporen.

Fall No. V. Fuß einer tuberkulösen Kuh mit bösartigem Klauengeschwür und Durchbruch in das Klauengelenk. Zwischen den Leukocyten nur feinste Stäbchen. 18 Monate später enthalten die aufbewahrten Proben feinste Stäbchen und Fäden, daneben vereinzelte Gram-positive Streptokokken. Die Kulturen ergeben ein aërobes, Gelatine verflüssigendes Bakterium, nämlich *Bacterium vulgare*, zweitens einen typischen anaeroben *Necrophorus* und drittens eine spärliche Anzahl Streptokokken.

Fall No. VI. Wegen eines bösartigen Klauengeschwüres wird die äußere Klaue hinten links bei einer Kuh exartikuliert. Bei dieser Gelegenheit können Stücke der Beugeschneide, die nekrotisch sind, zur Untersuchung verwendet werden. Sie enthalten zahlreiche Fäden mit hellen Lücken und feine Stäbchen, daneben spärliche Gram-positive Stäbchen und Kokken. In den anaeroben Kulturen entwickelt sich nur ein Sporenbacillus, der infolge seines stürmischen Wachstums die anderen verdrängt.

Fall No. VII. Bösartiges Zwischenklauengeschwür mit bedeutender Schwellung der Krone bei einer Kuh. Geruch des nekrotischen Gewebes sehr übel. Mikroskopisch sind feine Bacillen und Fäden zu erkennen. Sie sind Gram-negativ. Auf Gelatineplatten wächst nichts. In anaeroben Serumagarkulturen entwickeln sich ein Coccus und ein typischer *Necrophorus*. Der Coccus wird nicht weiter untersucht.

Fall No. VIII. Bösartiges Zwischenklauengeschwür mit Tenosynovitis bei der Kuh. Die mikroskopischen Strichpräparate enthalten ein Gemisch von sehr verschiedenartigen Bacillen und Kokken, ziemlich viele Fäden. Die Gelatine- und Agarplatten ergeben nur *Bacterium vulgare*. Im anaeroben Serumagar wächst aber ein typischer *Necrophorus*.

Fall No. IX. Infizierte Ballenwunde und Tenosynovitis bei der Kuh. Mikroskopisch konstatiert man die Gegenwart feiner Stäbchen, die nach Gram unregelmäßig färbbar sind. In den Kulturen entwickelt sich nur ein feines anaerobes Stäbchen mit sehr dürftigem Wachstum.

Fall No. X. 150 erbsen- bis haselnußgroße nekrotische Herde kommen in der Leber einer Kuh vor. Sie enthalten feine Stäbchen und ferner einige dickere Stäbchen.

Fall No. XI. Multiple Lebernekrosen bei einer Kuh. In den Herden kommen feine Stäbchen und einzelne Streptokokken vor. Die aëroben Kulturen ergeben Streptokokken und die anaeroben feinste Stäbchen in Gemeinschaft mit Streptokokken.

Fall No. XII. Multiple Lebernekrosen bei einer Kuh. Viel feine Stäbchen, Kokken, größere Stäbchen mit abgerundeten Enden. In den aëroben Kulturen wächst ein *Staphylococcus* und ein *Colibacillus*, in den anaeroben auch ein typischer *Nekrosebacillus*.

Fall No. XIII. Multiple Lebernekrosen der Kuh. Im abgestorbenen Gewebe kommen feine Gram-negative Stäbchen, Streptokokken und größere Diplokokken, die beiden letzten Gram-positiv, vor. In den anaeroben Kulturen wächst ein Köpfchensporenbacillus und ein kleines, nach Gram färbbares Stäbchen.

Fall No. XIV. Multiple Lebernekrosen bei der Kuh. In den Herden sehr wenig Bakterien, Stäbchen und schlanke Fäden mit hellen Lücken; in den Kulturen Streptokokken und *Coli commune*, anaerob ein typischer *Necrophorus*.

Fall No. XV. Zirkumskripte Nekrose in der Herzwand einer Kuh. Feine Stäbchen, nach Gram am besten zu färben, die bald gekrümmt, bald fadenförmig auftreten. Die Kulturen in Gelatineplatten bleiben resultatlos, die anaeroben Röhrrchen enthalten zahlreiche Rasen des oben beschriebenen Bakteriums.

Fall No. XVI. Diphtheritische Abscesse in der Maulhöhle eines Kalbes, das an Kälberdiphtherie zu Grunde ging. Mikroskopisch ist die Gegenwart zahlreicher feiner



Stäbchen und Fäden festzustellen. Das Material, in Bouillon anaerob aufbewahrt, enthält nach 3 Wochen Gram-negative feine Bacillen und Fäden, Streptokokken, feine Gram-positive Stäbchen und viertens einige größere mit Köpfchensporen versehene Stäbchen.

Fall No. XVII. Kopfgroßer Absceß in der Nabelgegend beim Kalbe, der operativ eröffnet wird. Im rahmähnlichen, sehr übelriechenden Eiter eine große Zahl von Stäbchen und Fäden mit hellen Lücken, die dicker als der gewöhnliche *Necrophorus* sind. In den Kulturen ein streng anaerober Köpfchensporenbacillus und ein Coccus. Der letztere wurde nicht weiter untersucht.

Fall No. XVIII. Infizierte Stichwunde der Ellenbogengegend bei der Kuh. Ausgedehnte Nekrose der Muskulatur, die in einen graurötlichen, übelriechenden Brei verwandelt ist. Viele verschiedenartige, lange, oft gekrümmte, Gram-positive Stäbchen, Gram-positive Kokken. Die angelegten Gelatineplatten bleiben steril, auch solche mit Serumzusatz. Die anaeroben Serumagarkulturen geben ein Spirillum, das auch ein sehr dürftiges aerobes Wachstum zeigt.

Fall No. XIX. Eiter eines operativ geöffneten Abscesses im Hinterschenkel einer Kuh. Dieselbe ist seit 4 Monaten in tierärztlicher Behandlung. Dieser Eiter hat einen sehr üblen Geruch und enthält eine Unmasse von feinen, oft krummen Stäbchen, die sich am besten nach der Methode Gram-Claudius färben. (Diese Modifikation der Gramschen Methode besteht in der Verwendung von Pikrinsäurelösung anstatt der Jodkalilösung und des Chloroforms an Stelle des Alkohols). Durch Kulturen wird ein Spirillum festgestellt.

Fall No. XX. Kuh. Absceß der Haube. Notschlachtung. Das Fleisch ist sehr ödematös und wird zur Abdeckerei geschickt. Im Eiter befinden sich Gram-positive Kokken und Stäbchen, zweitens sehr viel feine Gram-negative Stäbchen. Auf Gelatineplatten wächst ein *Coli commune*. Die anaeroben Serumagarkulturen ergeben Streptokokken, Spirillen und mehrere anaerobe Stäbchen.

Fall No. XXI. Kuh. Pericarditis traumatica. Der Eiter und das nekrotische Gewebe der Fistel haben einen sehr scharfen, üblen Geruch. Die mikroskopische Untersuchung ergibt Gram-negative Stäbchen und schlanke Fäden, zweitens Gram-positive Kokken, Streptokokken und ein feines, oft gekrümmtes Stäbchen. Die anaeroben Kulturen liefern einen typischen *Necrophorus* und ein Spirillum.

Fall No. XXII. Kuh. Uteruswunde, Metritis, Arthritis, Tenosynovitis, allgemeine Septikämie. Im Material des Uterus vorwiegend kleine Gram-negative Stäbchen, daneben Gram-positive Stäbchen und Streptokokken. Anaerobe Kulturen ergeben einen Köpfchensporenbacillus.

Fall No. XXIII. Kuh. Metritis. In dem sehr übelriechenden Uterusbelag sind feine Stäbchen, Kokken und Streptokokken wahrzunehmen. Gelatineplatten liefern *Coli commune*, *Staphylococcus* und *Bacterium vulgare*, anaerobe Kulturen ergeben einen Köpfchensporenbacillus.

Fall No. XXIV. Kuh. In der hinteren Hohlvene kommt über dem dorsalen Rande der Leber ein Thrombus vor, zahlreiche nekrotische Herde finden sich auch in den Lungen. Ueberall nebst anderen Bakterien feine Stäbchen und schlanke Fäden, die nach Gram nicht färbbar sind. Anaerobe Kulturen ergeben einen typischen *Necrophorus* mit sehr dürftigem Wachstum.

Fall No. XXV. Rückenabscesse beim Schweine. Im übelriechenden Eiter zahllose feinste Gram-positive Stäbchen. Anaerobe Kulturen ergeben einen Streptococcus, einen Köpfchensporenbacillus und ein feines Stäbchen.

Fall No. XXVI. Bulle. Orchitis. In den Strichpräparaten des frischen Materials sind keine Bakterien wahrzunehmen. Auf Gelatineplatten wachsen nur Streptokokken. In Agarserumkulturen feine Stäbchen mit Endverdickungen, Köpfchensporenbacillus.

Fall No. XXVII. Schlachtochse. Multiple Lebernekrose. In dem Eiter sehr spärliche feinste Stäbchen. Gelatineplatten bleiben völlig steril. Anaerobe Serumkulturen ergeben einen Köpfchensporenbacillus und feine Stäbchen. Die letzteren sind nach Gram nicht färbbar.

In den aufgezählten Fällen sind fast immer mehrere Bakterienarten vorhanden, nur ausnahmsweise kann es vorkommen, daß zur Zeit der Untersuchung eine einzige Bakterienart zugegen ist. In den meisten Fällen ist es mit der geeigneten Behandlung schon in den Strichpräparaten des Rohmaterials möglich, mehrere Arten festzustellen. Unentbehrlich dazu ist die Anfertigung von folgenden Präparaten. Das erste wird mit gewöhnlichem Karbolthionin gefärbt, das zweite mit Ziehlschem Fuchsin

unter mäßigem Erwärmen und mit Wasser abgespült. Das dritte wird nach Gram gefärbt. Für das vierte bringt man die Modifikation Gram nach Claudius zur Durchführung, die in folgendem besteht: 2 Minuten lang Gentiana Kutscher, 30 Sekunden konzentrierte Lösung von Pikrinsäure in Wasser, Abtrocknen mit Fließpapier, Abspülen bis zur genügenden Entfärbung mit Chloroform. Mittels dieser Färbungen ergibt sich, daß stets mehrere Bakterienarten zugegen sind und der so oft hervorgehobene Polymorphismus des Nekroseerregers erfährt dadurch eine namhafte Einschränkung. In einzelnen Fällen sind natürlich Kulturen nötig, um die verschiedenen Keime nachzuweisen. Ja, es kann sogar vorkommen, daß in den mikroskopischen Präparaten des Rohmaterials Bakterien völlig fehlen und daß die Kulturen doch mehrere Infektionserreger ergeben (Fall XXVI). Die Fälle IX, XV und XIX scheinen in Widerspruch mit dem eben Angeführten zu stehen. Der erste aber betrifft eine Stichwunde des Ballen, die sehr lang in tierärztlicher Behandlung stand; und es ist wohl anzunehmen, daß gewisse Bakterien unter dem Einflusse der gebrauchten antiseptischen Mittel zu Grunde gegangen sind. Der zweite Fall nimmt eine ganz besondere Stellung ein und wird später eine genauere Besprechung finden. Der dritte betrifft ebenfalls eine lang behandelte Wunde. Aërobe Gelatineplatten wurden verhältnißhalber nur in 14 Fällen mit dem Rohmaterial angelegt. Sie ergaben 6mal kein Wachstum, 2mal nur *Bacterium vulgare*, 1mal nur *Coli*, 2mal nur Streptokokken, 1mal Kokken und *Coli commune*, 1mal Kokken, *Coli* und *Bacterium vulgare* und 1mal Streptokokken und *Coli*. In 24 Fällen wurden anaërobe Kulturen in hohem Agar angelegt; in 18 Fällen wurde ein Anaërobier festgestellt, 4mal 2, 1mal 3 und 1mal mehrere Arten. 11mal wurde der typische *Necrophorus*, 10mal Köpfchensporenbacillen, 5mal anaërobe Gram-positive Stäbchen, 4mal Spirillen gefunden. Die zwei letzten Arten zeigen auch ein dürftiges und unsicheres aërobes Wachstum.

Ziehen wir nun die Wirkung unserer Bakterien auf den Organismus in Betracht, so ist festzustellen, daß die untersuchten Fälle in pathologischer sowie bakteriologischer Hinsicht viele gemeinsame Punkte aufweisen. Gewöhnlich liegt eine lokale Erkrankung vor, die sich nur langsam ausbreitet. Eine tödliche Toxämie oder Septikämie ist sehr selten, wird jedoch beobachtet, wenn der primäre Herd in lymph- oder blutreichen Gebieten sitzt. Tiefe Stichwunden in der Muskulatur, ausgedehnte Schürfwunden und Wunden der inneren Beckenorgane bei Kühen bringen immer eine solche Gefahr mit sich. Demgegenüber können bösartige Klauengeschwüre und Panaritien wochenlang dauern, ohne daß der allgemeine Zustand ernstlich darunter leidet. Die multiplen Lebernekrosen werden meistens als ein schweres Leiden angesehen. Nach Berndt (2), der das klinische Bild am genauesten schildert, wäre der Zustand immer rasch tödlich. Wir haben dagegen diese pathologischen Veränderungen der Leber bei Kühen gefunden, die zwar notgeschlachtet wurden, aber niemals konnten wir anamnestisch eine rasche, bedenkliche Krankheit feststellen. In 4 der untersuchten Fälle hatte man vielmehr ein chronisches Siechtum vor sich. Endlich betrafen 2 unserer Fälle Schlachtochsen in bestem Ernährungszustande. Hier war das makroskopische Bild der Herde ein etwas abweichendes, indem die Leberknoten von einer dicken Bindegewebskapsel umgeben waren. Der bakteriologische Befund stimmte aber mit den gewöhnlichen Fällen überein. Insbesondere war die Diagnose Leberaktinomykose auszuschließen.

In allen Fällen handelte es sich um eine Nekrose in Verbindung mit Eiterung. Die Nekrose tritt fast immer in den Vordergrund. Der Eiter hat oft einen sehr üblen Geruch, derjenige der multiplen Lebernekrose ist indessen geruchlos.

### I. Impfversuche mit Rohmaterial.

Wichtig für die wissenschaftliche Erforschung eines pathologischen Zustandes erscheint das Auffinden einer Impfmethode, die gestattet, das natürliche Krankheitsbild experimentell zu erzeugen. Zu diesem Zwecke wird ein haselnußgroßes Stück nekrotischen Gewebes mit sterilisiertem Wasser oder Bouillon in einem sterilen Mörser verrieben. Dieser Brei wird durch ein weitmaschiges Tuch geseiht, um eine Verstopfung der Impfkannüle zu vermeiden. Von der so erhaltenen Flüssigkeit spritzt man 1—2 ccm ein. Mit so vorbereitetem Impfmaterial wurden 12 Tauben intramuskulär an der Brust geimpft. Davon starben 4 Stück in einem Zeitraume von 18—50 Stunden, somit  $\frac{1}{3}$ , 1 Stück blieb völlig gesund und die anderen wurden getötet. Man schritt zur Tötung, weil es sich sehr bald zeigte, daß selbst eine deutliche Nekrose im Muskel nicht notwendigerweise letal ist, sondern manchmal rasch abheilt. Nach 12 Stunden zeigen die Tauben ein deutlich gestörtes Allgemeinbefinden, sie sind apathisch, fressen nicht und man beobachtet an der Impfstelle eine deutliche Anschwellung. Der weitere Verlauf ist aber ein verschiedener, bald sterben die Tiere sehr rasch, nämlich in 1—3 Tagen, bald erholen sie sich sichtbar. Das Sektionsbild war mit geringen Abweichungen ein konstantes.

1. Versuch. Eine Taube wird mit Material des Falles No. VIII intramuskulär geimpft. Tod nach 50 Stunden. Muskel von der geimpften Seite hellgrau, morsch; etwas subkutanes Oedem. Der Muskel der anderen Seite und die inneren Organe ergeben einen negativen Befund. Im kranken Muskel kommen verschieden große Stäbchen, im Blute vereinzelte große Gram-positive Stäbchen vor. Kulturen des Muskels ergeben typische Nekrosebacillen und Gelatine verflüssigende Stäbchen in geringer Zahl, die als *Bacterium vulgare* erkannt werden.

2. Versuch. Eine Taube wurde mit Material des Falles No. XII geimpft. Sie erkrankte schwer und wurde nach 5 Tagen getötet. Muskulatur von der geimpften Seite hochgradig geschwollen, die Umgebungen des Impfstiches in eine trockene, gelbliche Masse verwandelt. In der Tiefe des Muskels befindet sich eine nußgroße Höhle, die mit breiigen, zerfetzten, nekrotischen Muskelstücken angefüllt ist. Kein Eiter, nur etwas röthliches Serum. Die nekrotische Muskulatur verbreitet einen sehr üblen Geruch. An der Brustwand befinden sich zwei nekrotische kleine Stellen. Herz normal, Leber groß und blaß, Milz sehr groß, weiß verfärbt, nekrotisch. Der Muskel enthält eine sehr große Zahl von feinen Stäbchen, einzelne größere Bacillen und plumpe, ovoide Bakterien. Diese letzten sind auch in der Milz vorhanden. Anaerobe Kulturen des Muskels ergeben Stäbchen und schlanke Fäden, typischer *Necrophorus*.

Jedesmal wurde das frische Rohmaterial aufbewahrt, um später etwaige Kontrollkulturen und Versuche machen zu können. Zu diesem Zwecke wurde das mit Bouillon verriebene Rohmaterial in sterile Pipetten aufgesaugt, die Pipetten wurden dann luftleer gemacht und zugeschmolzen. So aufbewahrtes Rohmaterial erwies sich noch nach 18 Monaten virulent, wenn auch in etwas vermindertem Grade.

3. Versuch. Einer Taube werden  $3\frac{1}{2}$  ccm  $1\frac{1}{2}$ -jähriges Material in die Sternalmuskulatur gespritzt. Nach einigen Tagen wurde das Tier getötet und bei der Sektion findet man nur eine geringgradige Muskelverfärbung sowie Infiltration des Muskels.

Durch Verimpfung von Taube zu Taube kann eine Virulenzsteigerung beobachtet werden.

4. Versuch. Mit dem Eiter aus dem Gelenke von Fall III wird eine Taube in den Brustmuskel geimpft. Die Taube ist unwohl, erholt sich sichtbar. Nach 24 Stunden

wird sie getötet. Ausgedehnte Kluftbildung im Muskel. Auf der Wand letzterer ein dünner, fibrinöser Belag, in dem mikroskopisch 2 Arten Stäbchen vorkommen.

5. Versuch. Eine zweite Taube wird mit 1 ccm Fleischabreibung obiger Taube geimpft. Tod nach 18 Stunden. Muskel blaß, wie gekocht, mürbe, enthält 2 Arten von Bakterien.

6. Versuch. Eine dritte Taube wird mit 1 ccm Fleischabreibung der vorigen Taube geimpft. Tod nach 18 Stunden. Muskel geschwollen, hellgrau, wie gekocht. Subkutanes Gewebe etwas ödematös. Im Muskel 2 Arten von Stäbchen.

Somit ist in dieser Versuchsreihe die Virulenzsteigerung infolge Verimpfung von Taube zu Taube eine offenkundige. Aber das Gegenteil kann auch vorkommen.

7. Versuch. Eine Taube wird mit frischem Material von Fall IV geimpft. Sie bleibt gesund, nach 2 Tagen wird sie getötet. Wenig fibrinöses Exsudat, im Muskel viel feine Stäbchen und einige dickere.

8. Versuch. Mit 1 ccm Fleischabreibung des vorigen Tieres wird ein zweites geimpft. Es bleibt gesund, wird aber getötet. Bei der Sektion findet man nur einen kleinen, abgekapselten Sequester im Muskel. Derselbe enthält mikroskopisch feine und gröbere Stäbchen. Durch Kulturen ist nur *Bacterium coli commune* nachweisbar.

Diesmal war die Abschwächung eine evidente. Gelatineplatten, die häufig mit dem Rohmaterial oder mit dem Muskel der Tauben gemacht wurden, erlaubten *Coli commune* und *Bacterium vulgare* als gewöhnliche aërobe Begleiter der Nekroseerreger festzustellen.

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, daß man mit der angewandten Methode das natürliche Krankheitsbild künstlich erzeugen kann. Neben der Taube sind noch das Kaninchen und wahrscheinlich viele andere Tiere geeignet, das gleiche Resultat zu liefern.

9. Versuch. Intramuskuläre Impfung beim Kaninchen. Dasselbe wird mit  $\frac{1}{4}$  ccm Eiter geimpft.  $4\frac{1}{2}$  Tage nach der Impfung geht das Tier zu Grunde. Sehr magerer Kadaver, die inneren Organe zeigen keine Veränderungen. An der Impfstelle ist ein nekrotischer Herd entstanden. Derselbe ist im Zentrum erweicht. Die Randzone besteht aus weißlicher, nekrotischer Muskulatur. Um den Herd ist die Muskulatur hyperämisch. Mikroskopisch enthält dieses Material zahlreiche typische schlanke Stäbchen und Fäden, öfters mit hellen Lücken (*Necrophorus*), daneben noch eine größere Zahl von Gram-positiven Spirillen.

#### Subkutane Impfversuche.

Dieselben haben bei verschiedenen Tieren entweder keine Folgen oder es tritt eine Eiterung in den Vordergrund, wie die folgenden Versuche beweisen.

10. Versuch. Es werden 3 ccm verdünnter Jauche von Fall II in die Ballen einer Kuh eingespritzt. Nach 1 Tage sehr starke Schwellung bis zum Ellenbogen. Nach 3 Tagen seröse Ausschwitzung in der Klauenspalte, im ganzen Umkreise der Krone bis zum Fesselgelenke; 24 Stunden später deutliche Abschwellung, bei welcher alles verhornte Epithel abfällt. Die Cutis darunter fleischrot, glänzend, die Haare nicht lockert. Am 10. Tage verhältnismäßig weiter Gang. Aus Gründen, die außerhalb des Versuches liegen, wird das Tier an diesem Tage getötet. Bei der Sektion findet man die Einstichstelle in einen 5 mm breiten Fistelgang mit granulierenden Rändern verwandelt. Derselbe führt in einen subkutanen, mehr nach der plantaren Seite der rechten Phalanx gelegenen Absceß, dessen Eiter graurötlich, flüssig ist. Die Sehnscheide der Strecker noch intakt bis auf etwas Oedem, das bis zum Metatarsus reicht. Die Sehnscheide der Beuger auf der medialen Seite in einen 3 cm breiten, grünen Eiterstrang verwandelt. Alle Gelenke intakt.

Bei derselben Kuh werden 2 ccm verdünnter Jauche eines Abscesses in die rechte Rippenwand eingespritzt. Nach 3 Tagen Schwellung, am 8. Tage Fluktuation. Bei der Sektion am 10. Tage ein Absceß mit eitrig-jauchiger Flüssigkeit. Beschaffenheit des Stichkanales wie an dem Ballen.

Dieser Doppelversuch bedingt während 6 Tagen Fieber. Die Temperatur steigt am 2. und 3. Tage auf  $39,7^{\circ}$  C, von da ab regelmäßiges Sinken. Die Freßlust nimmt bedeutend ab, der Milchertrag sinkt auf 1 l. Das Eutersekret ist zäh und schleimig.

11. Versuch. Meerschweinchen. Dasselbe wird mit einigen Tropfen von alkalisch reagierender Flüssigkeit vom Fall No. I geimpft. Nach 12 Stunden mäßig schmerzhafte, ausgedehnte Phlegmone, das Tier bleibt munter. Nach 6 Tagen wird dasselbe getötet. An der Impfstelle befindet sich ein Absceß mit dickem Eiter, der viele nach Gram nicht färbbare, feinste Stäbchen und einige Streptokokken enthält.

Eine weitere 3-malige Wiederholung des Versuches erzielt dieselben Ergebnisse.

12. Versuch. Kaninchen. Dasselbe wird subkutan mit  $\frac{1}{2}$  ccm verdünntem Eiter geimpft. Tod nach 3 Monaten. Sehr magerer Kadaver, im Magen und Darm viel Inhalt, Schleimhaut blaß, Kot im Dickdarm sehr hart. Am linken Oberschenkel zwei hühnereigroße, subfascial gelegene Abscesse, der eine sitzt in der Regio poplitea, der andere, größere, in der Gegend der Vastusgruppe; ein dritter, länglich-ovaler Absceß kommt in der linken Nierengegend, subperitoneal, vor. Das Peritoneum überall glatt und glänzend, nirgends gerötet. Die Leber ist durch und durch mit weißlichen hirse-korn- bis erbsengroßen Abscessen gespickt. In den Lungen sind ebenfalls unter der Pleura stecknadelkopfgroße, harte, weißgraue Knötchen vorhanden. Alle Abscesse enthalten einen weißen, etwas übelriechenden rahmähnlichen Eiter. In den Leber- und Lungenknoten ist er konsistenter, oft fast hart. Im Eiter sind nur große Kokken vorhanden.

13. Versuch. Huhn. Ebenfalls subkutan  $\frac{1}{2}$  ccm Eiter eingespritzt. Nach 21 Tagen Tötung desselben, wobei festgestellt wird, daß gar keine Veränderungen eingetreten sind.

Wie schon eingangs erwähnt wurde, stimmen die Resultate der subkutanen Impfungen mit dem klinischen Befunde nicht überein. Man beobachtet nur Eiterung, aber keine Nekrose. Deshalb sind die oben erwähnten Versuche bei den Tauben, bei denen nur Nekrose auftrat, viel höher zu bewerten.

Frühere Bearbeiter dieser Frage haben allerdings andere Ergebnisse gehabt. Loeffler und Bang beschreiben eine progressive, öfters tödliche Nekrose bei Kaninchen und Mäusen. Ernst hat 2 Kaninchen mit Rohmaterial geimpft und dabei große Abscesse beobachtet. Bei einem dritten entwickelte sich dagegen eine nicht tödliche, typische Nekrose der Ohren. Meyer beobachtete ebenfalls nebst der Nekrose große Abscesse. Schmorl sah bei spontan erkrankten Kaninchen typische Nekrose und konnte sie experimentell bei demselben Tiere erzeugen.

## II. Beschreibung der Bakterienarten.

Nachdem gezeigt wurde, daß die Nekrose zu den überimpfbaren Krankheiten gehört und daß stets mehrere Bakterienarten zugegen sind, erwächst die Aufgabe, diese Mikroorganismen in Reinkulturen zu untersuchen und ihre Virulenz zu bestimmen. Die zu verfolgende Technik muß von vornherein besondere Rücksichten auf die anaerob wachsenden Bakterien nehmen, da bekanntlich der Nekrosebacillus zu dieser Gruppe gehört. Die meisten für anaerobe Plattenkulturen empfohlenen Apparate sind so umständlich, daß die Kultivierung in hohem Agar, Methode von Liborius, immer noch als die einfachste erscheint. Wenn man dazu die speziellen Röhren von Buri verwendet, so wird sie recht bequem und erlaubt ein sehr rasches Arbeiten. Dieselben sind 25 cm lang, cylindrisch und an einem Ende mit einem Kautschukzapfen verschlossen, während das andere Ende einen gewöhnlichen Wattepfropfen bekommt. Zur Hälfte mit Nähragar gefüllt, werden sie wie gewöhnliche Reagenzgläser sterilisiert; man muß nur Achtung geben, daß kein Unterdruck in den Autoklaven entsteht, sonst werden die Wattepfropfe naß und es ist sogar ein Fortschleudern derselben zu befürchten. Es empfiehlt sich somit, die Autoklaven sofort zu öffnen, wenn der Ueberdruck aufhört. Vor der Einsaat werden die Agarröhren etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde bis

zur Verflüssigung und Luftverdrängung in kochendem Wasser gehalten. Dann kommen sie in ein auf 45—48° C reguliertes Wasserbad und nach der Wärmeausgleichung werden die Keime in dieselben übertragen. Der Gebrauch der Platinöse für die Verimpfung in so lange Röhrchen ist unbequem, besser ist folgendes Verfahren. Die üblichen Verdünnungen werden in gewöhnlichen, 6—8 ccm Flüssigkeit enthaltenden Reagenzgläsern vorgenommen. Dabei ist das Röhrchen zur Verteilung der Keime und zur Vermeidung der Beimischung von Luft nur etwas zwischen den Fingern zu rollen. Man gießt nachher die keimhaltige Flüssigkeit in die langen Agarröhrchen und stürzt dieselben 2mal um; dann bringt man sie unter einen kalten Wasserstrahl, bis der Inhalt erstarrt ist. Für die Untersuchung der Kolonien läßt man den Agarcylinder in eine sterile Petri-Schale gleiten, wo er in dünne, den Kolonien entsprechende Scheiben zerlegt wird. Will man eine Kolonie überimpfen, so ist das Verfahren von Rist zu empfehlen. Man nimmt ein gewöhnliches Reagenzglas mit Bouillon, treibt die Luft durch Kochen aus, kühlt es rasch ab und setzt eventuell Blutserum zu. Dann sticht man mit einer Spitzenpipette eine Kolonie an, wobei etwas Agar in die Spitze eintritt. Nun vervollständigt man die Beschickung der Pipette mit Nährflüssigkeit und schmilzt die Spitze zu. Das andere Ende wird erst zugeschmolzen, nachdem die Luft mittels der Wasserstrahlpumpe abgesaugt worden ist. Der im Reagenzglas zurückgebliebene Rest von Bouillon dient als aërobe Kultur und eine anaërobe ist in der Pipette angelegt. Für gewöhnlich wird das Reagenzglas, wenn das untersuchte Bakterium streng anaërob ist, kein Wachstum zeigen, manchmal indessen doch. Dies ist möglich, weil die Bouillon durch Kochen luftleer gemacht worden ist. Gewöhnlich ist es aber unmöglich, bei Anaëroben durch weitere Uebertragung auf Reagenzgläser Wachstum zu erzielen und letzteres beschränkt sich durchaus auf die erste Aussaat. Das erwähnte Verfahren gelingt bei Rauschbrand, Tetanus, malignem Oedem, *Bacillus enteritidis sporogenes* des Menschen.

Die Nährböden. Weil der Nekroseerreger nach den Literaturangaben spezielle Nährboden erheischt, so erschien es notwendig, einleitend einige vergleichende Versuche mit einem typischen Nekroseerreger zu machen. Es wurden folgende Agarnährböden geprüft:

Fleischwasseragar, Pepton	1 Proz., NaCl 0,5 Proz.
Milchagar, Pepton	1 " " 0,5 "
Fleischwasseragar, Somatose	1 " " 0,5 "
Fleischwasseragar, Heyden-Nährstoff	1 " " 0,5 "
Agar vorbereitet mit Bouillon Martin.	

Auf diesen sämtlichen Nährböden findet nur ein sehr langsames und dürftiges Wachstum statt. Ein Zusatz von  $\frac{1}{5}$  Blutserum dagegen ergibt bei sämtlichen Untersuchungen viel bessere Resultate. Serumhaltige Nährböden sind unbedingt als die zuverlässigsten zu bezeichnen und ich habe deshalb systematisch mit denselben gearbeitet.

Als Bouillon wurden Bouillon Martin, Rinderbouillon oder Pferdebouillon ebenfalls mit Serumzusatz verwendet. Ferner wurde der Gehirnnährboden nach v. Hibler mit gutem Resultate gebraucht. Für die aëroben Bakterien wurden die gewöhnlichen, üblichen Kulturmethoden zur Anwendung gebracht. Als streng anaërob haben wir 2 Arten festgestellt und als vorwiegend anaërob ebenfalls 2 Arten.

1) *Bacillus necrophorus* (Flügge).

Schlankes Stäbchen von 1–3  $\mu$  Länge, das sehr oft zu langen Fäden von 100  $\mu$  und mehr auswächst. Die Breite beträgt 0,6–0,8  $\mu$ . Die Fäden zeigen öfters helle Lücken und besser gefärbte Körnchen. Im hängenden Tropfen untersucht, zeigen sie keine Beweglichkeit. Eine Geißelfärbung gelang mir nicht. Dieser Bacillus ist färbbar mit den gewöhnlichen Anilinfarben, aber öfters nur schlecht. Die Gramsche Methode und ihre Modifikationen ergaben mir nur negative Resultate. Streng anaerobes Bakterium, wächst am besten bei 37° C, oberhalb 39° C scheint das Wachstum zu sistieren. Die Entwicklung kann nicht unter 35° C beginnen, nach Einleitung des Wachstums kann aber dasselbe sich bei Zimmertemperatur fortsetzen. Schöne Kulturen in flüssigen Nährböden sind nur in Serumbouillon möglich, wo man nach 48 Stunden eine Koagulation des Serums bemerkt. In der Milch und ebenso in Gelatine ist kein Wachstum zu beobachten. In Serumagar hat man nach 30–40 Stunden kleine, punktförmige Kolonien, die nie die Oberfläche erreichen, sondern gewöhnlich 2–3 ccm unter derselben aufhören. Nach 1. Woche treten sehr große Kolonien mit einem homogenen Hofe auf. Um diese Zeit erreichen die Kolonien, wenn eine genügende Verdünnung vorhanden ist, 6–8 mm Durchmesser. In Zucker- und Glycerinserumagar ist ein Wachstum möglich, aber weniger schön. Die Gasbildung ist immer eine sehr mäßige. In hohem, koaguliertem Serum zeigt der Bacillus ein glasbürstenähnliches Wachstum wie der Rotlaufbacillus im Gelatinestich. Eine Sporenbildung muß ich verneinen. Wenige Minuten Erhitzung auf 70° C genügen, um ihn abzutöten. Seine Reinkulturen sind für das Kaninchen und die Taube pathogen. Das Kaninchen bekommt nach meinen Erfahrungen eine enorme zirkumskripte Nekrose, aber keine Metastasen, wenn intramuskulär geimpft wird. Bei der Taube tritt eine leichtgradige Nekrose auf. Beim letzten Impflinge bemerkt man, daß die Fäden besonders schön ihre hellen Lücken und Körnchen zeigen.

14. Versuch. Eine Taube bekommt intramuskulär 1 ccm Agarserumkultur mit Bouillon verrieben. Nach 2 Tagen wird das Tier getötet. Bei der Sektion nur eine Spur Eiter, in dem keine Bakterien mikroskopisch festzustellen sind.

15. Versuch. Eine Taube wird mit 1 ccm Serumreinkultur geimpft. Sie bleibt völlig gesund, zeigt keine Schwellung und wird aus dem Versuche als geheilt entlassen.

16. Versuch. Einer Taube werden 3 ccm 12 Tage alter Reinkultur in Bouillonserum eingespritzt. Sie erkrankte sichtbar und wird nach 2 Tagen getötet. Bei der Sektion sind die inneren Organe normal. Lokal ist nur eine mäßige, ausgedehnte Nekrose zu bemerken. In dem nekrotischen Muskel eine sehr große Zahl typischer Stäbchen und Fäden.

17. Versuch. Ein Kaninchen bekommt  $1\frac{1}{2}$  ccm von der gleichen Kultur wie Taube 16. Die Impfung wird in die hintere Schenkelmuskulatur gemacht. 6 Tage nachher beginnt das Tier schlecht zu fressen und zeigt eine deutliche Anschwellung der geimpften Extremität. Dieselbe ist sehr schmerzhaft bei der Palpation. Das Tier magert sichtbar ab. Nach 14 Tagen kann es kaum mehr stehen, hat Atemnot, liegt gelähmt in einer Ecke des Stalles. Am 18. Tage geht es zu Grunde. Bei der Sektion findet man einen stark abgemagerten Kadaver. Die inneren Organe sind normal, mit Ausnahme der Leber und der Milz, die etwas vergrößert sind. Die geimpfte hintere Extremität ist um das 4-fache vergrößert. Sie ist in eine faustgroße, nekrotische, weiße Masse verwandelt, die einen verkästen Eiter darstellt. Mikroskopisch findet man nur Stäbchen und Fäden, die nach Gram nicht färbbar sind.

In der bakteriologischen Diagnostik von Lehmann und Neumann wird dieses Bakterium *Actinomyces necrophorus* benannt. In dessen erscheint uns seine Zugehörigkeit zu dieser Gruppe sehr fraglich. Echte Verzweigungen in den verschiedensten Kulturen, wie Ernst die-

selben beschreibt, Kornbildung und Kolben, die im Tierkörper entstanden sind, konnten wir nie nachweisen. Es fehlen somit diesem Bakterium die typischen Merkmale der Aktinomyceten. Deshalb werden wir demselben seinen Prioritätsnamen *Bacillus necrophorus* (Flügge) belassen. Er ist übrigens identisch mit: *Bacillus diphtheriae vitulorum* (Loeffler), *Nekrosebacillus* (Bang), *Bacillus necroseos* (Salomonsen), *Streptothrix cuniculi* (Schmorl), *Actinomyces cuniculi* (Gasperini), *Actinomyces necrophorus* (Neukirch) und *Streptothrix necrophora* (Ernst).

### 2) Anaërober Köpfchensporenbacillus.

2—3  $\mu$  lange Stäbchen, 0,8  $\mu$  dick, auch zu Fäden auswachsend, ohne Vakuolen und Kapsel, beweglich. Mit den gewöhnlichen Farbstoffen sehr gut zu färben. Die Färbbarkeit durch die Gramschen Methoden verschieden. Es sind streng anaërobe Stäbchen. Sie wachsen bei einer Temperatur von 20° C sehr schlecht und langsam, bei 37° C dagegen sehr rasch. Serumbouillon wird getrübt und es bildet sich ein dicker, grülicher Bodensatz. Der Geruch der Kulturen ist ein intensiv übler. In Milch wachsen sie nicht. Im Gelatinestich, unter Paraffin, bekommt man punktförmige, strahlige Kolonien. Nach 2 $\frac{1}{2}$  Monaten wird eine langsame Verflüssigung beobachtet. In hohem Serumagar ist das Wachstum ein sehr rasches und nach 48 Stunden sind große, strahlige oder flockige Kolonien sichtbar. Die Gasbildung ist eine intensive, und ferner sei hervorgehoben, daß Gehirnnährboden nach v. Hibler sehr langsam oder gar nicht geschwärzt wird. In Agar besser als in flüssigen Nährsubstraten ist eine rasche Sporenbildung zu beobachten. Letztere sind oval und bleiben sehr lang an den Stäbchen hängend. Sie sitzen immer an einem Ende der Stäbchen, nie im Innern derselben oder in den Fäden. Die Sporulation beginnt mit einer endständigen Verdickung der Stäbchen, die sich intensiver färbt als der übrige Teil. Die Sporen sind sehr resistent, sie ertragen eine Wärme von 80° C während 15 Minuten.

18. Versuch. Eine weiße Maus bekommt subkutan 1 ccm Agaraufschwemmung in Bouillon. Sie erkrankt nicht und wird aus dem Versuche entlassen.

19. Versuch. Ein Kaninchen wird mit 1 $\frac{1}{2}$  ccm einer 8-tägigen Serumbouillonkultur intramuskulär geimpft. Das Tier bleibt munter, es fehlen allgemeine sowie lokale Symptome. Nach 1 Monate ist sein Befinden immer noch ein ungetrübtes.

Diese Sporenbacillen sind kaum von den Pseudotetanusbacillen (Tavel) verschieden. Letztere werden manchmal bei perityphlitischen Abscessen des Menschen gefunden. Die Tatsache, daß die Sporen immer terminal sind und das Fehlen der Schwärzung des Gehirnnährbodens sowie der Mangel an Virulenz gestatten die Annahme, daß sie von dem *Bacillus* des malignen Oedems auf jeden Fall getrennt werden müssen. Ich wage nicht, zu entscheiden, inwiefern dieser Köpfchensporenbacillus mit dem *Bacillus putrificus coli* (Bienstock) und *Bacillus saprogenes carnis* (Salus) verwandt ist oder von ihnen getrennt werden muß.

### 3) Gram-positive, vorwiegend anaërobe Stäbchen.

Sehr kleine Bacillen und ganz kurze Fäden, 0,5  $\mu$  breit, 1,2—1,5  $\mu$  lang, unbeweglich, öfters zu kurzen Ketten angeordnet. Mit den gewöhnlichen Anilinfarben schlecht zu färben, liefern sie nach den Gramschen Methoden sehr schöne Bilder. Bestes anaërobes Wachstum bei 37° C. Bei Zimmertemperatur keine Vermehrung. Auf aëroben Serumagarplatten



hat man nur sehr kleine oder öfters keine Kolonien, in den Agarröhrchen dagegen kleine, punktförmige Kolonien, die sich rasch entwickeln, aber nie sehr groß werden. Anaerobe Serumbouillon wird getrübt. Aerob tritt in diesem Substrat in den meisten Fällen kein Wachstum ein, ebensowenig wie in Gelatine und Milch. Keine Sporenbildung.

20. Versuch. Subkutane Impfung eines Kaninchens mit einer 8-tägigen Serumkultur. Nach 3 Tagen ist ein subkutaner Absceß sehr gut durchzufühlen. Nach 1 Monate geht das Kaninchen plötzlich zu Grunde. Die Sektion ergibt völlig normale Zustände bis auf einen haselnußgroßen Absceß an der Impfstelle. Dieser ist sehr gut abgekapselt und der Eiter geruchlos. Letzterer enthält nur feinste Stäbchen, die in koaguliertem hohem Serum eine bürstenförmige Stichkultur ergaben. Dieses Stäbchen, das ich vorzugsweise anaerob züchtete, weil die aeroben Kulturen zu unsicher sind, ist wahrscheinlich identisch mit dem Künemannschen *Bacillus pyogenes bovis*. Doch ist hervorzuheben, daß dem genannten Forscher die aerobe Kultur glückte.

#### 4) Spirillum.

Dasselbe zeigt die verschiedensten Kommaformen, deren Breite  $0,3-0,5 \mu$ , deren Länge  $1-10 \mu$  beträgt. Beweglich, gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben zu färben, am schönsten jedoch nach der Methode Gram-Claudius. Wachstum nur bei Brutofentemperatur, am besten bei  $37^{\circ} \text{C}$ , vortrefflich in hohem Serumagar, wo nach 2-3 Tagen kleine, punktförmige, ganzrandige Kolonien auftreten. In anaerober Serumbouillon ein dicker Bodensatz, darüber leise Trübung. In der Milch sehr typisches Wachstum: Nach 30 Stunden beobachtet man eine Gerinnung und hierauf beginnt sofort eine Lösung des Niederschlages. Am 10. Tage bleibt nur noch ein haselnußgroßes Koagulum am Boden des Reagenzglases zurück. Ueber demselben ein klares Serum. Dasselbe enthält freie Peptone, nach Fällung der übriggebliebenen Eiweißkörper mit Ammonsulfat gibt es die Biuretreaktion.

21. Versuch. Eine Taube bekommt 3 ccm einer aeroben, 8 Tage alten Serumbouillonkultur. Nach 2 Tagen wird das Tier getötet. Längs des Stichkanales ein weißer Belag von Fibrin. Der Muskel hat seine normale Farbe behalten. Im Belag zahlreiche Spirillen, keine anderen Bakterien mikroskopisch nachweisbar. Die inneren Organe sind in normalem Zustande.

Kommabacillen und Spirillen wurden im Darne eines Schweines von Th. Smith in kleinen Geschwüren des Dickdarmes festgestellt. Verf. konnte das Spirillum nicht züchten. Ferner hat Hugo Salomon Spirillen im Säugetiermagen gefunden und ihre Anwesenheit in den Belegzellen nachgewiesen. Kulturen glückten nicht. In zweien unserer Fälle ging die Infektion von dem Vormagen aus, somit können wir den Mikroorganismus als eine Pansenbakterie betrachten. Sein Verhalten gegenüber der Milch erlaubt uns sogar die Annahme, daß er bei der Verdauung eine wichtige Rolle spielen kann.

### III. Versuche mit Kulturgemischen.

In meinen Versuchen tritt zwischen den Ergebnissen der Impfungen der Reinkulturen und des Rohmaterials ein auffallender Unterschied hervor. Hier in der Regel Nekrose, dort meist nur ein kalter Absceß. Nur den wissenschaftlichen Regeln, nach welchen einer Parasitenart nur dann Pathogenität zugesprochen werden darf, wenn die Uebertragung des Mikroorganismus auf Versuchstiere, das betreffende Leiden in Wirklichkeit zu erzeugen, im stande ist, wird nicht Genüge geleistet. Zur Erklärung dieser Verhältnisse liegt die Annahme einer Mischinfektion am nächsten. In der Jauche der offenen Geschwüre, wie sie der Praktiker sieht, und auch in den tiefer gelegenen Krankheits-

herden findet man stets mehrere Arten von Bakterien, wie es übrigens nicht anders zu erwarten ist. Manche im Stalle untergebrachten Tiere stehen und liegen fortwährend in ihren Darmausscheidungen, mit denen sie über und über bedeckt sind. Dies berechtigt die Vermutung, daß die äroben Darmbakterien, *Coli commune*, Streptokokken und *Bacterium vulgare*, das überall vorkommt, als Mitursache der Infektion zu betrachten sind. Versuche in dieser Richtung sind selbstverständlich in der Weise anzustellen, daß man die Wirkung der zu verwendenden äroben Bakterien gleichzeitig für sich und in der Mischung mit den Anaëroben prüft.

#### A. Versuche mit Coli-Bacillen und Anaëroben.

22. Versuch. Eine Taube wird intramuskulär mit 1 ccm Bouillonkultur vom *Colibacillus* geimpft. Etwas getrübe Gesundheit. Nach 2 Tagen Tötung. An der Impfstelle beschränkte fettige Entartung. In der Injektionshöhle ein fibrinöser Belag mit sehr viel Coli-Bacillen.

Dieser Versuch wurde 2mal wiederholt und ergab den gleichen Sektionsbefund, trotzdem in einem Falle  $3\frac{1}{2}$  ccm Coli-Kultur zur Impfung verwendet wurde. Durch Verimpfung von Taube zu Taube kann man wohl die Virulenz des Coli-Stammes erhöhen, aber nicht eine Nekrose hervorrufen. So starb nach der Verimpfung eines Coli-Stammes nach zweiter Passage eine Taube schon nach 18 Stunden und bei der Sektion waren die Veränderungen wie bei Versuch 22.

Ganz anders wird das Bild, wenn man eine Mischung von Coli und *Necrophorus* verwendet.

23. Versuch. Eine Taube bekommt intramuskulär eine Mischung von 1 ccm 30-stündiger Coli-Kultur in Bouillon + 1 ccm einer 8-tägigen Serumbouillonkultur von *Necrophorus*. Deutliche Erkrankung und Schwellung der geimpften Seite. Nach 2 Tagen wird das Tier getötet. Längs des Impfkanales etwas fibrinöser Belag. Der Muskel ist durch und durch verfärbt, grau-gelblich, nekrotisch. Mikroskopisch werden im Muskel die beiden Bakterienarten festgestellt. In den normalen inneren Organen, Herz, Milz, Leber sind keine Bakterien vorhanden. Ein Stück des nekrotischen Muskels wird gehärtet, in Paraffin eingebettet und die mikroskopische Untersuchung der Schnitte ergibt:

Der Zerfall der Muskelfibrillen beginnt mit Anschwellung und setzt sich weiter zunächst als wachsartige Entartung und später als Zerbröckelung in große, trockene, nicht färbare, glasartige Schollen. Um diese Schollen eine deutliche Leukocytenansammlung, die zur Bildung einer Demarkation führt.

Dieser Versuch wurde mit anderen Coli- und Nekrophorenstämmen 3mal gemacht, bei den nach 2 Tagen getöteten Tieren beobachtete man ebenfalls eine deutliche und typische Nekrose des Muskels. In 2 Fällen wurden Verimpfungen von Taube zu Taube vorgenommen, die bei den neuen Tieren ebenfalls Nekrose veranlaßten.

24. Versuch. Ferner wurde eine Taube mit einer Reinkultur des Köpfchen-sporenbacillus, in Serumbouillon vermischt mit Coli-Bacillenreinkultur, zusammen in der Menge von 1 ccm, geimpft. Das Tier erkrankt sichtbar und wird nach 2 Tagen getötet. Bei der Sektion starke Schwellung des Muskels, der von weißen nekrotischen Streifen und reichlichen Blutergüssen durchsetzt ist. Mikroskopisch sind die zwei geimpften Bakterien im Muskel festzustellen.

Bei Wiederholung der Versuche konnten wir in allen 4 Fällen das gleiche Bild, d. h. eine typische Nekrose, bemerken. Eine 3 Monate alte Kultur in Serumbouillon vom gleichen Bacillus konnte zur Toxin-gewinnung verwendet werden. Sie wurde mittels des Chamberlandschen Apparates filtriert.

25. Versuch.  $3\frac{1}{2}$  ccm der so erhaltenen klaren Flüssigkeit wird einer Taube intramuskulär eingespritzt. Nach 4 Tagen Tötung. Bei der Sektion gar keine Veränderungen.

26. Versuch. Eine Taube bekommt intramuskulär 3 ccm Coli-Kultur + 7 ccm Toxin. Deutliche Erkrankung. Nach 4 Tagen Tötung. Bei der Sektion Schwellung der Muskulatur von der geimpften Seite. Ausgedehnte, graugelbe, typische Nekrose

derselben. Mikroskopisch werden nur Coli-Bacillen festgestellt. Schnitte aus dem nekrotischen Gewebe ergeben dieselben Veränderungen wie bei Versuch 23.

Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß der *Necrophorus* oder die Köpfchensporenbacillen oder das Toxin dieser Bacillen in Gemeinschaft mit *Coli commune* eine typische Nekrose hervorzurufen vermögen. Die gebrauchten Coli-Bacillen sowie die anaeroben Bakterien waren verschiedener Herkunft. Nebst den in Herden gefundenen Coli-Stämmen wurden noch andere gebraucht. Der eine wurde einfach aus Kuhmist herausgezüchtet, andere waren virulente Stämme, die man bei Mastitis parenchymatosa von Kühen gefunden hatte. Trotzdem erhielt man immer gleichartige Befunde. Somit hat die Virulenz des gebrauchten Coli-Stammes nur wenig Bedeutung. Diese Tatsache erlaubt uns, die anaeroben Bakterien als die Träger der Hauptursache der Nekrose anzusehen. Die Versuche 25 und 26 mit Toxinen sprechen sogar dafür, daß man es in letzter Instanz einfach mit einer Toxinwirkung zu tun hat.

#### B. Versuche mit Anaeroben und *Bacterium vulgare*.

27. Versuch. Eine Taube wird mit 1 ccm Reinkultur vom *Bacterium vulgare* (Fall No. X) in Bouillon geimpft. Ist am 1. Tage gesund, am 2. etwas unwohl, am 3. wird es getötet. Anschwellung des Muskels, Oedem unter der Haut und Blutung um den Einstich. Der Muskel ist von normaler Farbe und Konsistenz. An der Injektionsstelle eine Kavernenbildung mit ganz wenig Belag. In demselben so gut wie keine Bakterien. Eine Verimpfung von Fleischabreibung dieser Taube auf eine zweite ergibt das gleiche Resultat.

28. Versuch. Eine Taube bekommt eine Mischung von  $\frac{1}{4}$  ccm *Bacterium vulgare* und  $\frac{1}{2}$  ccm *Necrophorus*. Tötung nach 2 Tagen. Nur etwas fibrinöses Exsudat in Form einer Membran, in dem feine Stäbchen zugegen sind.

Die Verimpfung auf eine weitere Taube ergibt einen gleichen Sektionsbefund. Mit *Bacterium vulgare* ist somit nur etwas Schwellung und leichtgradige Blutung und fibrinöse Exsudation hervorzurufen.

#### C. Versuche mit Streptokokken und Anaeroben.

Es wurde mit Material des Falles No. XI eine Kultur in Gallenbouillon angelegt. Nach 10 Tagen enthält sie viele Streptokokken und feine Stäbchen.

29. Versuch. Mit 1 ccm obiger Kultur wird eine Taube geimpft. Sie erkrankt schwer und geht nach 10 Tagen zu Grunde. Die Sektion ergibt eine starke Abmagerung. In dem Muskel eine geringgradige Nekrose in Form einer Membran. Durch das Mikroskop und die Kulturen können im Muskel Streptokokken und Nekrophoren festgestellt werden.

Dieser Sektionsbefund in Gemeinschaft mit der Tatsache, daß wir bei den mit Rohmaterial geimpften Tauben sehr selten und in geringster Zahl Streptokokken fanden, ließ uns von weiteren Versuchen in dieser Richtung Abstand nehmen.

#### D. Versuch mit einer Mischung von *Necrophorus* und *Spirillum*.

30. Versuch. Eine Taube bekommt eine Mischung von 1 ccm Reinkultur in Bouillonserum des *Spirillum* + 1 ccm Reinkultur des *Necrophorus* in Bouillonserum. Taube erkrankt schwer und geht nach  $2\frac{1}{2}$  Tagen zu Grunde. Bei der Sektion findet man die Muskulatur von der geimpften Seite geschwollen, grau verfärbt, nekrotisch, intensiv übelriechend. Herz und Lungen sowie Gedärme normal. Leber morsch, grünlich verfärbt und blutreich. Milzkapsel gespannt. In den inneren Organen keine Bakterien, im Muskel die beiden injizierten Arten.

Dieser Versuch erlaubt uns, auch dem *Spirillum* eine große Rolle als Begleiter des Nekroseerregers zuzusprechen.

### Zusammenfassung.

- 1) Bei den häufig vorkommenden spontanen Nekrosen der Rinder sind immer mehrere Bakterien als Krankheitsursache vorhanden;
- 2) unter den aëroben sind Coli-Bacillen, Streptokokken und *Bacterium vulgare*;
- 3) unter den anaëroben *Bacillus necrophorus* (Flügge), Köpfchensporenbacillen, eine anaërobe Varietät des *Bacillus pyogenes bovis* (Künnemann) und ein *Spirillum* von Bedeutung;
- 4) die experimentelle Nekrose gelingt am besten, wenn man ein Bakterium der ersten Gruppe mit einem der zweiten oder auch Toxin der Köpfchensporenbacillen intramuskulär bei Tauben einspritzt;
- 5) wegen der vorhandenen Mischinfektion ist es klar, daß die Impfversuche und Verimpfungen von Taube zu Taube Unterschiede in dem Grade der Nekrose ergeben müssen.

Vorliegende Arbeit wurde im veterinär-pathologischen Institute der Hochschule Bern gemacht. Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Prof. Dr. Guillebeau, für die Ueberlassung des Materials und insbesondere für die zu jeder Zeit in zuvorkommenster Weise mir geleistete Hilfe bei der Durchführung dieser Arbeit meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen.

### Literaturverzeichnis.

- 1) Bang, Om Aarsagen til lokal necrose. (Maanedsskrift for Dyrlæger. Vol. II. 1891/92. Zit. nach den Ref. von Jensen.)
- 2) Berndt, Lebernekrose bei Rindern. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1895. p. 451.)
- 3) Burri, R., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1902. p. 533.
- 4) Ernst, Ueber Nekrosen und den Nekrosebacillus. [Inaug.-Diss.] Bern 1902.
- 5) Francke, Der Nekrosebacillus als Krankheitserreger bei unseren Haustieren. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1899. p. 299.)
- 6) Flügge, Mikroorganismen. 1896.
- 7) Gasperini, Versuch über das Genus *Actinomyces*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. 1894. p. 684.)
- 8) Imminger, Ueber den sogenannten Klauenkrebs. (Wochenschr. f. Tierheilk. u. Viehzucht. Bd. XLII. p. 377.)
- 9) Jensen, Die vom Nekrosebacillus hervorgerufenen Krankheiten. (Ergebn. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat. d. Menschen u. d. Tiere. 1897.)
- 10) — —, Die vom Nekrosebacillus hervorgerufenen Krankheiten. (Kolle-Wassermann. Bd. II. p. 693.)
- 11) Künnemann, Ein Beitrag zur Kenntnis der Eitererreger des Rindes. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXIX. 1903. p. 129.)
- 12) Lachner-Sandoval, Ueber Strahlenpilze. [Inaug.-Diss.] Straßburg 1898.
- 13) Lehmann u. Neumann, Bakteriologische Diagnostik.
- 14) Loeffler, Untersuchungen über die Bedeutung von Mikroorganismen. (Mitteil. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. II. 1884. p. 489 ff.)
- 15) Meyer, Untersuchungen über die multiple Nekrose der Leber des Rindes. [Inaug.-Diss.] Gießen 1903.
- 16) Neukirch, Ueber Strahlenpilze. II. [Inaug.-Diss.] Straßburg 1903.
- 17) Salomon, Ueber das *Spirillum* des Säugetiermagens und sein Verhalten zu den Belegzellen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. 1896. p. 433 ff.)
- 18) Salus, Zur Biologie der Fäulnis. (Arch. f. Hyg. Bd. LI. p. 97.)
- 19) Smith, Spirillen im Darne eines Schweines. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. 1894. p. 324.)
- 20) Schmorl, Ueber ein pathogenes Fadenbakterium. (Dtsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. XVII. 1891. p. 375.)
- 21) Tavel, Ueber den *Pseudotetanusbacillus* des Darmes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 538.)
- 22) Rist, Etudes bactériologiques sur les infections d'origine otique. [Thèse.] Paris 1898.
- 23) — —, Anaërobes pathogènes et suppurations gangréneuses. (Bull. de l'Inst. Pasteur. T. III. p. 1.)

Nachdruck verboten.

## Ueber Hühnerpest bei Gänsen.

[Aus dem königl. Institute für Infektionskrankheiten in Berlin (Direktor:  
Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky).]

Von Stabsarzt Dr. F. K. Kleine und Oberarzt Dr. B. Möllers.

Mit 2 Kurven.

Vor einiger Zeit konnte einer von uns nachweisen<sup>1)</sup>, daß bei jungen Gänsen das unbekannte, filtrierbare Virus der Hühnerpest ins Gehirn und Rückenmark einwandert, wo es Reizerscheinungen und andere klinische Symptome auslöst. Diese Lokalisation im Gehirn ließ die Hühnerpest in Parallele zur Lyssa treten und die an sich schon interessante Krankheit gewann eine allgemeine Bedeutung. Wir sind deshalb bestrebt gewesen, jene Beobachtungen zu bestätigen und zu erweitern.

Alte Gänse sind gegen Hühnerpest wenig, junge, etwa  $\frac{1}{2}$  Jahr alte, dagegen recht empfänglich und sterben nach ca. 7 Tagen unter schweren Krämpfen. Maggiora und Valenti stellten schon früher fest<sup>2)</sup> und heben nochmals<sup>3)</sup> wieder hervor, daß das Blut gestorbener Gänse nicht infektiös ist, während das an der gleichen Krankheit verendeter Hühner bekanntlich noch in millionenfacher Verdünnung ansteckt.

Das Virus ist aber keineswegs aus dem Körper der Gänse vollkommen verschwunden, sondern man kann es, wie gesagt, im Gehirn oder Rückenmark der Verendeten leicht durch Verimpfen nachweisen. Der Weg, auf dem es in das Zentralnervensystem gelangt, ist das Blut. Einige ausgewählte Beispiele erläutern am besten die einschlägigen Verhältnisse.

Versuch 1. Junge Gans, am 14. Juni intramuskulär am r. Bein mit 0,2 ccm verriebelem Gehirn von einer an Hühnerpest gestorbenen Gans infiziert, bekommt am 19. Juni Krämpfe, in denen sie verendet. Aus der Flügelvene wurde täglich Blut entnommen und durch Verimpfen auf seine Infektiosität geprüft.

15. Juni	2 ccm Blut	verimpft auf Huhn,	Exitus am 17. Juni,
16. "	2 "	" " " "	" " 18. "
17. "	2 "	" " " "	" " 19. "
18. "	2 "	" " " "	bleibt am Leben,
19. "	2 "	" " " "	" " "
	1 Stück Milz	" " " "	" " "
	1 " Leber	" " " "	" " "
	r. N. ischiadicus	" " " "	" " "
	l. " "	" " " "	" " "
	1 Stückchen Rückenmark (Halsteil),	Exitus am 21. Juni	
	1 Oese Gehirn,	" " 21. "	

Versuch 2. Eine 1 Jahr alte Gans, am 14. Juni mit 0,5 ccm verriebelem Gehirn von einer an Hühnerpest verendeten Gans unterhalb

1) Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. LI. 1905.

2) Maggiora, Arnaldo, und Valenti, Gian Luca, Ueber eine Seuche von exsudat. Typhus bei Hühnern. (Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. XLVIII.)

3) Maggiora, Arnaldo, e Valenti, Gian Luca, Sulla sieroprofilassi del tifo essudativo dei gallinacei. Modena 1904.

des r. Auges intramuskulär geimpft, bekommt am 20. Juni Krämpfe. Exitus am 21. Juni.

15. Juni	2 ccm	Blut	verimpft	auf	Huhn,	Exitus	am	17. Juni,
16. "	2	"	"	"	"	"	"	18. "
17. "	2	"	"	"	"	"	"	19. "
18. "	2	"	"	"	"	"	"	bleibt am Leben,
19. "	2	"	"	"	"	"	"	"
20. "	2	"	"	"	"	"	"	"
21. "	2	"	"	"	"	"	"	"
	1	Stück	Milz	"	"	"	"	"
	1	"	Leber	"	"	"	"	"
		beide	N. ischiadici	"	"	"	"	"
	1	Stückchen	Rückenmark (Halsteil),	Exitus	am	23. Juni		
	1	Oese	Gehirn	"	"	23.	"	"

Wie in den angeführten beiden Versuchen, so benutzten wir in der Regel 2 ccm Blut zur Prüfung der Infektiosität. Es hat sich diese Quantität als am meisten empfehlenswert herausgestellt. In der früheren Arbeit wurde allerdings ein Beispiel angeführt, wo in den ersten Tagen jedesmal nur 0,1 ccm zur Verimpfung kam und trotzdem die Hühner starben, während späterhin 2 ccm nicht mehr infizierten. Zweifellos ist jener Versuch sehr instruktiv, da er zeigt, wie plötzlich und vollständig die Parasiten das Blut verlassen. Aber bei dem Verimpfen von nur 0,1 ccm ist doch die Gefahr vorhanden, daß uns die Erreger, deren Zahl in kranken Gänsen bei weitem nicht die stets im Hühnerblut vorhandene zu erreichen scheint, vollkommen entgehen.

Dies sehen wir an nachstehendem Beispiel.

Versuch 3. Junge Gans, am 31. Mai mit 0,3 ccm verriebenen Gehirn intramuskulär am r. Bein infiziert, bekommt am 6. Juni sehr heftige Krämpfe. Exitus am 7. Juni.

1. Juni	0,1 ccm	Blut	verimpft	auf	Huhn,	bleibt	am	Leben,
2. "	0,1	"	"	"	"	"	"	"
3. "	0,1	"	"	"	"	"	"	"
4. "	0,1	"	"	"	"	"	"	"
5. "	2,0	"	"	"	"	"	"	"
6. "	2,0	"	"	"	"	"	"	"
7. "	1	Oese	Gehirn	"	"	Exitus	am	9. Juni

Nach unseren früheren Erfahrungen ist es sicher, daß das Blut auch dieser Gans in den ersten Tagen nach der Infektion die Parasiten mit sich führte, nur die Quantität des entnommenen Blutes war zu gering, um es zu zeigen. Daß dies der wahre Grund des anscheinenden Fehlens der Infektiosität ist, konnten wir durch vergleichende Impfungen mit 0,1 und 2 ccm Blut einige Male feststellen. Die mit 0,1 ccm geimpften Hühner blieben bisweilen am Leben, während die mit der 20-fachen Dosis behandelten stets eingingen.

Wegen des plötzlichen Verschwindens der Parasiten aus dem Blut nach ihrer Einwanderung in bestimmte Organe sprachen wir die Vermutung aus, daß wir es mit Protozoen zu tun haben. Wir dachten damals an Analogien, welche die Malariaplasmodien und die Rekurrens-spirochäten bieten. Jene Ansicht hat seitdem eine Stütze erhalten. Das Blut gestorbener Gänse ist nämlich keineswegs in allen Fällen frei vom Virus. Nicht selten kehren die Parasiten wie die Erreger der Malaria und des Rückfallfiebers nach einer Pause ins Blut zurück.

**Versuch 4.** Junge Gans, am 18. Juni subkutan an der Brust mit 0,2 ccm verriebenen Gehirn infiziert, bekommt am 23. Juni Krämpfe und stirbt am 25. Juni.

19. Juni	2	ccm	Blut	verimpft	auf	Huhn,	Exitus	am	21. Juni,
20.	"	2	"	"	"	"	"	"	23. "
21.	"	2	"	"	"	"	"	"	23. "
22.	"	2	"	"	"	"	"	"	bleibt am Leben,
23.	"	2	"	"	"	"	"	"	"
24.	"	2	"	"	"	"	"	"	"
25.	"	2	"	"	"	"	"	"	Exitus am 27. Juni

Je häufiger wir unser Virus durch Gänse schickten, desto öfter sahen wir die Infektion in der zuletzt angegebenen Weise verlaufen. Ist das Blut infektiös, so sind es natürlich auch sämtliche Organe. Um nicht unnütz Hühner zu opfern, empfiehlt es sich, deshalb nach dem Tode der Gänse erst das Blut allein zu verimpfen und die Organe in Glycerin im Eisschrank zu bewahren. Zeigt sich dann, daß die Parasiten nicht mehr oder besser noch nicht wieder anwesend sind, so werden die Organe auf ihre Infektiosität geprüft.

Seit dem Beginn unserer Untersuchungen hat sich die Natur des Hühnerpestvirus infolge der Gänsepassage für diese Tiere insofern verändert, als die Zeit, für welche die Parasiten das Blut verlassen, kürzer geworden ist. Sie fehlen bisweilen nur noch einen einzigen Tag; ja in einem Falle blieb das täglich entnommene Blut infektiös. Ob das Virus nicht doch auf Stunden abwesend war, möchten wir dahingestellt sein lassen, halten es aber für nicht unwahrscheinlich. Dafür spricht die lange Inkubationszeit, nach welcher (s. Vers. 6 den 17. Juli) das verimpfte Blut den Exitus des Huhnes herbeiführte. Es enthielt also (noch?) nicht viele Parasiten.

**Versuch 5.** Junge Gans, am 3. Juli intram. mit 0,2 ccm verriebenen Gehirn am r. Bein infiziert, kommt am 9. Juli zum Exitus. Während der ersten 3 Tage wurde das Blut auf seine Infektiosität nicht geprüft, da solche mit voller Sicherheit als vorhanden angesehen werden konnte.

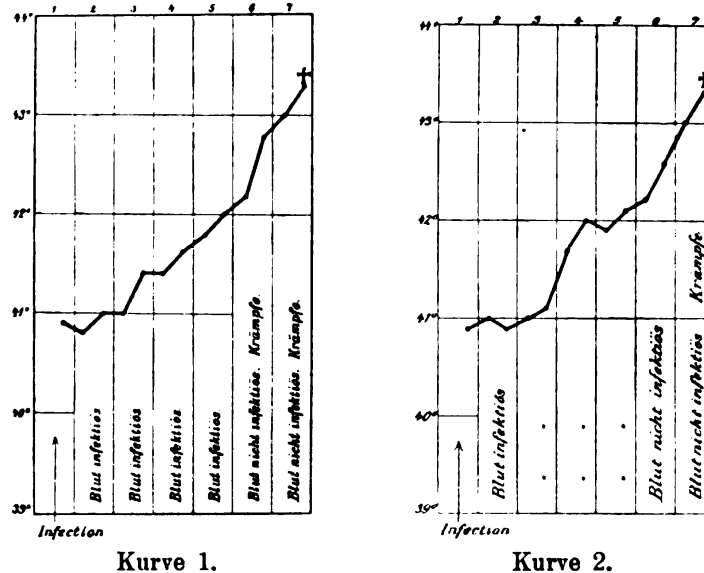
7. Juli	2	ccm	Blut	verimpft	auf	Huhn,	Exitus	am	10. Juli,
8.	"	2	"	"	"	"	"	"	bleibt am Leben,
9.	"	2	"	"	"	"	"	"	Exitus am 11. Juli.

**Versuch 6.** Junge Gans, am 12. Juli intram. mit 0,2 ccm verriebenen Gehirn an der Brust infiziert, kommt am 18. Juli zum Exitus. Während der ersten 3 Tage wurde das Blut auf seine Infektiosität (s. o.) nicht geprüft.

16. Juli	2	ccm	Blut	verimpft	auf	Huhn,	Exitus	am	19. Juli,
17.	"	2	"	"	"	"	"	"	21. "
18.	"	2	"	"	"	"	"	"	20. "

Die Anwesenheit der Parasiten im Blute bedingt keine erhebliche Temperaturerhöhung. Ein energischer Anstieg setzt erst kurz vor Beginn der Krämpfe ein. Ob er eine Folge ist von direkter Reizung der Wärmezentren durch die Einwanderung der Mikroben oder ob er sekundär abhängt von der bei den Krämpfen geleisteten Muskelarbeit, muß dahingestellt bleiben. Doch sind wir geneigt, das erstere anzunehmen, denn wir sahen jene Temperatursteigerung eintreten auch bei geringen Krämpfen und einmal da, wo sie überhaupt fehlten. Erfolgt der Tod nicht, wie in den beiden nachstehenden Kurven, plötzlich, sondern hält die Agone

viele Stunden an, so pflegt die Temperatur unter die Norm herabzusinken.



Es ist in hohem Grade wahrscheinlich, daß die Erreger der Hühnerpest sich für junge Gänse durch Passage so anzüchten lassen, daß sie während der Krankheit kaum noch aus dem Blute verschwinden und daß somit die Seuche ihre charakteristischen Unterschiede zwischen dem Verlauf bei Hühnern und dem bei jungen Gänsen wieder völlig verlieren kann.

Bei Tauben und Enten glückte eine Anzüchtung nicht. Aus der Literatur wissen wir, daß die Forscher, welche die Beobachtungen Centanni<sup>1)</sup> über den Labyrinthwindel der Tauben wiederholen wollten, hierbei häufig auf Schwierigkeiten stießen. In der Tat lassen sich selbst junge Tauben nicht leicht infizieren. In einem Falle, wo es uns gelang, betrug die Krankheitsdauer 10 Tage. Nach Weiterimpfung des Virus auf eine neue Taube erkrankte sie zwar in der von Centanni beschriebenen Art, wir konnten aber nicht mehr mit der Gehirnschubstanz weitere junge Tauben infizieren und so die Reihe fortsetzen. Uebrigens beobachteten wir die gleiche Erscheinung, wenn alte Gänse — was recht selten geschieht — der Hühnerpest erliegen. Auch bei ihnen gelang es uns dann nicht immer, das Virus im Cerebrospinalsystem nachzuweisen, selbst wenn wir größere Quantitäten Gehirnschubstanz auf Hühner verimpften.

Die Mehrzahl der Parasiten geht zweifellos in dem ungeeigneten Organismus zu Grunde. Ob eine Abschwächung der überlebenden stattfindet, ist recht ungewiß. Jedenfalls konnten wir mit der Gehirnmasse alter Gänse oder Tauben Hühner nicht immunisieren. Entweder sie starben oder sie wurden nicht geschützt. Zwar besitzen wir ein in angedeuteter Weise vorbehandeltes, immunes Huhn; doch da es nicht glückte, das Experiment zu wiederholen, und besonders, da Ostertag

1) Centanni, E., Die Vogelpest. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. 1902.)



und Wolffhügel<sup>1)</sup> unter 95 Hühnern 7 trafen, die auch bei wiederholter Inokulation nicht starben, so spricht die Wahrscheinlichkeit dafür, daß unser Huhn — aus unbekannter Ursache — von vornherein immun war. — Enten, auch junge, erkrankten selbst bei intraperitonealer Injektion von 10 ccm infektiösem Blut nicht sichtbar.

Als interessante, wenn auch nicht überraschende Beobachtung erwähnen wir, daß das Virus vom unverletzten Konjunktivalsack aus schnell infiziert. Wahrscheinlich<sup>2)</sup> gelangt es durch den Tränen-Nasengang auf die Nasenschleimhaut, wo es resorbiert wird. Wiederholt starben Hühner, denen wir vorsichtig 1 Tropfen dünner Gehirnemulsion auf die Conjunctiva gebracht hatten, nach 2 Tagen. Um sicher zu gehen, daß die infizierte Flüssigkeit nicht etwa in den Darmtraktus hinabgeflossen war und die Ansteckung von dort aus erfolgte, führten wir per Schlundsonde Kontrollhühnern die dreifache Menge der für die Infektion vom Auge aus benutzten Quantität in den Magen ein. Diese Tiere erkrankten überhaupt nicht.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Pyelonephritis diphtherica bovis und die Pyelonephritisbacillen.

[Aus dem bakteriologischen Institute der tierärztlichen Hochschule in München (Vorstand: Prof. Dr. med. Th. Kitt).]

Von Dr. med. vet. **Wilhelm Ernst**, I. Assistenten am Institute.

Mit 14 Figuren.

Ueber Pyelonephritis bacillosa (diphtherica) bovis findet sich ein ausführlich zusammenfassendes Referat über die Ergebnisse bisheriger Forschung auf diesem Gebiet von Fr. Glage in Wassermann und Kolles Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (8). Eine genaue Wiedergabe des Inhaltes für überflüssig haltend, fasse ich nur diejenigen Hauptpunkte zusammen, welche in bisherigen Untersuchungen zu verschiedenen Ansichten führten oder deren Bedeutung, unklar, zu weiterer Bearbeitung zwang.

Die Pyelonephritis bacillosa ist eine beim Rinde nicht selten vorkommende Erkrankung mit dem Bilde der fortschreitenden Entzündung der Schleimhäute der Nierenkelche, des Nierenbeckens in allen Stadien unter gleichzeitiger Miterkrankung des Nierenparenchyms, das bald nur lokal in einzelnen Renculis, bald in seiner Gesamtausdehnung sich verändert. Eitrig nekrotische Einschmelzung der Marksicht von unten und chronisch-eitrig Entzündung der Rindenschicht wurden als Folgezustände der Infektion beschrieben, als deren ursächliches Moment ein Aufsteigen des Prozesses von der Blase her angesehen wurde. Zu dieser Auffassung der urogenen Entstehung und Ausbreitung in contiguo glaubte man sich bekennen zu müssen wegen der Häufigkeit der Entwicklung

1) Ostertag und Wolffhügel, Untersuchungen über die „Hühnerpest“ etc. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. XIV.)

2) Römer, P., Ueber Infektionen vom Konjunktivalsack aus. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXII. 1899.)

des Leidens nach Geburten, bei Verletzungen der Geburtswege, bei Zurückbleiben der Nachgeburt, dem gleichzeitigen Vorhandensein derselben Veränderungen in Harnleiter und Blase. (S. 12, p. 471; 6, p. 411; 8, p. 809 u. 813; 10, p. 374; 11, p. 394 u. 395.)

Andererseits wieder spricht die oft nur geringe Intensität der Erkrankung des Pyelon bei gleichzeitig mehr oder weniger ausgebreiteter typischer Nephritis mit zum Teil rein embolischem Charakter und Freisein der Harnleiter und der Blase, sowie auch das Auftreten der P. bei Kälbern, Stieren und Ochsen; das Ergriffensein nur einer Niere dafür, daß der Krankheitserreger auf hämatogenem Wege Eingang genommen hat (2, p. 346; 11, p. 394, Bang).

Klarheit in die Frage zu bringen, ob die urogene oder hämatogene Infektion die Krankheit hervorruft, und die Pathogenität des bisher als Erreger beschriebenen Keimes (s. später) festzustellen, war Grund, frühere Arbeiten zu wiederholen und erneute Untersuchungen über die P. bovis anzustellen.

Ich muß eingangs der Arbeit erwähnen, daß nur solche Krankheitsfälle zu weiteren Experimenten und Impfungen Verwendung fanden, bei denen der als Erreger der Krankheit bislang betrachtete *Bacillus renalis s. pyelonephritidis* sich kulturell nachweisen ließ; waren andere Keime ohne das sehr charakteristische Stäbchen zugegen, so wurde die Bearbeitung eingestellt, da sich die bakteriologische Experimentalreihe auf genannten *Bacillus* beschränken sollte. Aus der Gesamtheit des vorgelegenen Materiales muß ich einzelne Fälle, die betreff des pathologischen Bildes Verschiedenheiten von dem gewöhnlichen Befund der Pyelonephritis bieten oder wegen der Bakterienflora für das Verständnis der Genese und des Weiterverlaufs wichtig erscheinen, herausgreifen und trotz der schon viel beschriebenen variablen pathologischen Anatomie der P. für meine Folgerungen näher beleuchten.

#### Beschreibung der Fälle und deren Bakterienbefunde im allgemeinen.

Fall I. 10 Febr. 1904. Eine Niere: Schlachthof München. Gewicht 754 g, nicht vergrößert; weißgelb bis lehmfarben; Parenchym hart; narbig; induriert; durchzogen von einem feinmaschigen fibrösen, derben Interstitium. Die einzelnen Renculi sind dickwandige Cysten aus vernarbender Rindensubstanz, die Markschrift größtenteils zerstört, diphtherischer Nekrose anheimgefallen. Reste der Marksubstanz flottieren als faserige Fetzen in dem schleimigen, mit Gerinnseln und Eiter trüb vermischten Harn. Nierenbecken erweitert. Schleimhaut bindegewebig verdickt, Harnleiter, soweit vorhanden, intakt. Blase ohne Veränderung (laut Anfrage).

Mikroskopische Untersuchung des Harngemisches: Tripelphosphat, Nieren, Epithelien, Leukocyten, Detritus. *B. renalis* scheinbar in Reinkultur (Photogr.). Kultur: Pyelonephritisstäbchen in zwei Kulturstämmen s. sp., Staphylokokken (St. p. aur.?).

Fall II. 1. März 1904. Schlachthof München. Gewicht 775 g; Organ etwas vergrößert, mit strangförmigen narbigen Einziehungen an der Oberfläche; einzelne Renculi stellenweise oder ganz heller verfärbt; durch feine kapillare Blutungen oder vereinzelte Harnzysten ausgezeichnet. Ein einzelner Nierenlappen ist vollständig mit bis erbsengroßen, embolischen Knötchen gespickt, die ihm ein Aussehen, wie von embolischer Tuberkulose oder, da jedes Knötchen eine festerbe Bindegewebskapsel umschließt, von embolischer knotiger Aktinomykose geben. Die einzelnen Nierenkelche enthalten teils schleimig flockige, teils gelbe, zähe, eitrige Entzündungsprodukte. Das Nierenbecken ist in eine große Eiterblase umgewandelt. Im gelbschleimig zähen Inhalt sind größere und kleinere, rotbraune, käsige Gerinnselbrocken suspendiert. Die Spitzen der Papillen sind zerfasert, mit nekrotischem Saum gegen die Eitermassen des Pyelon und derbspeckigem Bindegewebe gegen die gesunde Markschrift abgegrenzt. Besprochene Knötchen enthalten trocken käsigen Detritus in dicker, weißer, derber Bindegewebshülle.

Mikroskopische Untersuchung: Vereinzelte Kristalle von Tripelphosphat, Nieren-

epithelien, Eiterkörperchen, Detritus und zu Nestern und Drusen vereinigte Bakterienhaufen. Im käsigen Zentrum der Knötchen feine Stäbchen verschiedener Größe, morphologisch sonst ähnlich. Kultur ergab *B. renalis*, Streptokokken (kurze).

Fall III. Tierarzt Vogel, Jettingen: Nach Angabe des Einsenders sind beide Nieren verändert gewesen. Die vorliegende wiegt 1972 g. Nierenkapsel schwer abziehbar, mit der Nierenrinde verwachsen; an den Verwachungsstellen erheblich verdickt. Oberfläche unregelmäßig höckerig, einzelne Renculi narbig eingezogen, Interstitium, zu millimeterbreiten Faserzügen vermehrt, schließt graubraune Parenchymreste ein. Ueber diese netzartig gezeichnete Nierenoberfläche erheben sich einzelne bald nur hirsekorngroße, bald bis zur Größe einer Haselnuß auswachsende Abscessknoten, deren Wand zum Teil so innig mit der Propria verwachsen ist, daß beim Abziehen der letzteren sich der Abscess öffnet und der Inhalt als dicker, gelbgrüner Eiter zu Tage tritt. Die Nierenkelche sind zu großen Kavernen erweitert. Die Knoten sind als stark abgekapselte Herde hauptsächlich in der Rindensubstanz verteilt, die außerdem gelbweisse nekrotische Streifen und Flecke aufweist. Marksubstanz ist stark injiziert, gegen die Nierenkelche durch breites Schwielenewebe abgegrenzt oder in einzelnen Abteilungen zuvor nekrotisch zerfallen. Nierenbecken stark erweitert; Schleimhaut des Pylon und Harnleiters bindegewebig verdickt, beide mit zähem Eiter gefüllt.

Mikroskopische Untersuchung: Im frischen Präparat Eiterzellen, Detritus, wenig Epithelien der Hauptsache nach von Pylon, haufenweise Stäbchen zu Nestern vereinigt. Kultur: Wenige Kolonien von *B. renalis* und Coli-Bakterien, viele *Bac. pyogenes bovis* Künnemann.

Fall IV. Nierenteile vom Rind (12. April 1904 eingesandt aus Ansbach vom Kollegen Scherzer). Parenchym der eingeschickten Stücke bleich, gelbrot, mit vereinzelten stecknadel- bis linsengroßen Eiterherden, die von keilförmiger Gestalt maligne Emboli darstellen, von rotem Demarkationssaum umgeben; Marksubstanz stark hämorrhagisch injiziert. In den zum Teil eröffneten Nierenkelchen sind Reste schleimigen Harnes mit vereinzelten flockigen Gerinnseln. Die Sammelröhren zeigen sich als erweiterte gelbweiße Streifen mit ebensolchen Gerinnseln angefüllt, die sich pfropfartig aus der Papillenspitze herausdrängen und kappenartig die Papille umhüllen, die zum Teil aufgefasert im Zustand der zerstörenden Entzündung sich befindet. Die Schleimhaut des Nierenbeckens ist geschwellt, ödematös, mit vereinzelten Injektionspunkten und kleinsten gelbdiphtherischen Belägen besetzt.

Mikroskopische Untersuchung: Frisch. Nierenepithelien aller Teile, Leukocyten, Haufen von Stäbchen, ähnlich dem *B. renalis*, nicht viel kleiner.

In diesem Fall bestand bei demselben Tiere eine Endocarditis valvularis fibrinosa verrucosa der schwielig verdickten Tricuspidalis. Mikroskopisch war das Luginersche Stäbchen nachweisbar (*Streptothrix valvulas destruens bovis*, das übrigens dem *Bacillus pyogenes bovis* Künnemanns identisch zu sein scheint).

Kulturversuche aus dem Herzen und den veränderten Nierenteilen, sowie den Fibrinflocken der Papillen ergaben in Reinkultur Stäbchen, die sicher dem *B. pyog. bovis* K. entsprechen. Dabei ist hervorzuheben, daß die Bacillen in den Harnflocken so erheblich verdickt und gequollen waren daß eine Unterscheidung vom *Bacillus* der Pyelonephritis morphologisch nicht möglich war. Kulturversuch ergab die Zugehörigkeit dieser Formen zu den schlanken, zarten, rotlaufähnlichen des Herzens.

Infektionspforte dürfte ohne Zweifel der Uterus gewesen sein. Nach Angabe des Einsenders litt die Kuh an Endometritis infolge Retentio secundinarum, später an Endocarditis, Milzabscess, embolischer Pyelonephritis. Intra vitam war die palpierbare Niere etwas vergrößert. Harn dunkelrot, mit gallertigen, blutig eitrigem Gerinnseln in großer Menge. Die linke Niere soll am Sektionstisch dreimal, die rechte zweimal so groß als normal gewesen sein; der Inhalt des Nierenbeckens war gelbbrauner, eitrig, übelriechender Harn.

1) Der Erreger der Weeksschen Conjunctivitis des Menschen, der *Bac. pyog. bovis* Künnemann, der *Bac. pyog. suis* Grips, die *Streptothrix valvulas destruens bovis* destruens, erscheinen morphologisch identisch. Es ist notwendig, durch erneute kritische Arbeit die Identität oder Stammverwandtschaft dieser Bacillen zu beleuchten. Auch Kulturvergleiche nach Angaben der Autoren und die Pathogenität sprechen für hohe Verwandtschaft oder Identität, wenn auch Unterschiede angegeben sind. Jedenfalls sind es Vertreter weitverbreiteter Eitererreger einer Gruppe (Pseudo-Influenzabacillen). Verzweigungen habe ich häufig bei den von mir gezüchteten Stämmen beobachtet.

Fall V. 26. Febr. 1904 Schlachthof München. Niere eines Rindes; Gewicht 955 g. Oberfläche durch käsig trockene Infarkte gefleckt, die von Stecknadelkopf- bis Hanfkorngröße massenweise zusammengelagert der Niere ein griesig rauhes, granuliertes Aussehen geben. Durch die roten Demarkationssäume um die malignen Infarkte und teilweise hämorrhagische Entzündung ganzer Nierenlappen erhält das Organ ein buntscheckiges Aussehen: Markzone streifig gerötet; Papillen nicht nekrotisch, nur stark injiziert; Sammelröhren mit gelblichen Cylindern erfüllt, stark erweitert. Mucosa des erweiterten Beckens und der Kelche fleckig gerötet; Harnleiter ohne Veränderungen. Der schleimige Harn enthält wenig Flocken.

Mikroskopische Untersuchung, frisch: Kein Tripelphosphat. Nierenepithelien, Leukocyten, Erythrocyten, Leukocytencylinder, Bakterienhaufen. Kulturell: *B. renalis* Enderlen und *B. pyog. bovis* K. Vereinzelt Streptokokken, sowohl aus den veränderten Rindenpartieen wie aus dem Pyelon.

Fall VI. Nieren einer Kuh aus der chirurgischen Klinik. 30. Aug. 1904. Fragliche Kuh wurde zu Operationsübungen benützt. Irgend welche Erscheinungen einer Erkrankung der Nieren oder sonst der Harnwege war weder nach Ankauf noch längere Zeit danach bemerkt worden. Nach mehrmaligem Troikarieren erkrankte die Kuh unter Erscheinungen einer Peritonitis (mündliche Mitteilung des Kollegen). Bald nachher veränderte sich der Harn, wurde trüb, flockig, rotbraun. Im Spitzbecherglas setzte sich reichlich Sediment zu Boden, bestehend aus Tripelphosphat, Fibrin, Leukocyten, Detritus und Massen der Enderlen-Höflichen Bacillen. Kulturversuche ergaben Staphylokokken und den *B. renalis*. Derselbe Befund konnte eine Woche lang bei jeder durch Explorieren und Druck auf die Blase öfters entnommenen Probe konstatiert werden. Späterhin waren nur mehr vereinzelt Sargdeckelkristalle nachweisbar, die Sedimente verminderten sich, immer aber waren noch reichlich Gerinnsel und stets massenweise Bakterien, besonders die als spezifische Erreger der Pyelonephritis beschriebenen Stäbchen neben anderen zu mikroskopieren.

Nach dreiwöchentlicher Untersuchungsdauer wurde das Tier zwecks einer Sektionsübung getötet. Der Befund ergab: Als Residuen einer lokalen, abgeheilten Peritonitis am Pansen Verwachsungen und zottige Wucherungen, besonders in der Gegend des Operationsfeldes für den Pansenstich, links, seitlich vom Schaufelknorpel in der Muskulatur ein apfelgroßer Absceß [*B. p. K.*; Streptokokken (Kultur)].

Gewicht der Nieren 875 bzw. 720 g. Einzelne Renculi gelbweiß verfärbt, nicht fluktuierend, durch starke, breite, strahlig in Bänder auslaufende Narbenzüge vor den rotbraunen normalen Nierenlappen ausgezeichnet. Inhalt der veränderten Teile, die derbfibröse Kapseln darstellten, sind körnige oder steinig feste Harnkonkremente (Nephritis und Pyelitis calculosa). Harnleiter, Blase sind frei von Veränderungen.

Kulturen aus den Konkrementkapseln ergaben P.-Stäbchen und kurze Streptokokken.

Fall VII. 25. Jan. 1905. Die zwei Nieren eines Rindes (ingesandt aus Berchtesgaden), die eine 875 g schwer, dunkelrot, mit einigen kleinen Harncystchen, die andere ist zu einer 16,700 kg schweren, fluktuierenden, sinuösen Blase geworden. Die einzelnen Nierenläppchen zu Faust- bis Kindskopfgröße gebläht. Das Nierenparenchym ist bis auf geringe, bandartig am Zusammentritt der Renculi sich hinziehende Reste verschwunden, durch gelbes, schwieliges Gewebe verdrängt. Beim Durchschneiden der bis 1 cm dicken Schwielenwand entquollen der Niere 13—14 l dünnflüssigen gelbgrauen Eiters, in dem bis kartoffelgroße schmierig käsige Pyokonkremente suspendiert sind. Mit gleichen Käsemassen oder braunen diphtheroiden Belägen sind die Innenflächen der Nierenreste und Schwielenkapsel tapeziert.

Mikroskopische Untersuchung: Haufen von Margarinkristallen, Detritus, Leukocyten, nach Gram färbbare Stäbchen. In Kulturen: *Bac. Künnemann*, vereinzelt *Coli*-Kolonieen, kurze Streptokokken.

Außer diesen näher beschriebenen Fällen, in denen die Verschiedenheit der einzelnen Erkrankungsstadien geschildert werden soll, oder die verschiedene Typen des pathologischen Bildes der Erkrankung darstellen, wurden alle seit Oktober 1903 bis jetzt am Institute anfallenden Pyelonephritisfälle mikroskopisch und kulturell auf vorkommende Bakterienarten untersucht und ergaben folgende Resultate:

Fall VIII. 22. Dez. 1903. Nieren ähnlich Fall I. *B. renalis*, vereinzelt Streptokokken.

Fall IX. 13. Jan. 1904. Niere wie Fall V. Nierenbecken mehr erweitert, Nierenkelche ausgebuchtet, mit schleimigem gerinnselhaltigen Harn gefüllt: *B. renalis* in Massen; daneben *B. pyogenes Künnemann*.

Fall X. 26. Jan. 1904. Niere mit pathologischem Befund zwischen III und V und vielen kleineren und größeren Abscessen in der Rinde: *Staphylococcus (pyog. aureus)*.

Fall XI. 9. Febr. 1904. Niere wie Fall I: Streptokokken in Reinkultur.

Fall XII. 13. Sept. 1904. Zwei Nieren zwischen Fall V und I. Nierenbecken stark erweitert: *Bac. pyog. Künnemann*, vereinzelte *Coli*-Bakterien.

Fall XIII. 3. Okt. 1904. Embolische Nephritis, miliare dicht gesäte Knötchen. *Pyelitis cavernosa serofibrinosa*: *Bacillus renalis*, Streptokokken.

Fall XIV. 2. Jan. 1905. Ebenso: Staphylokokken, Streptokokken.

Fall XV. 12. Jan. 1905. Embolische, teils weiße, teils hämorrhagische Infarkte der Nierenrinde, Marksubstanz hämorrhagisch, *Pyelitis cavernosa*: Staphylokokken, *Coli*-Formen. *Bac. pyog. Künnemann*, *Bac. renalis*.

Fall XVI. 11. Febr. 1905. Nephritis purulenta et haemorrhagica, embolica, *Pyelitis purulenta cavernosa*: *Bac. pyog. Künnemann*, *Coli*-Bacillen.

Fall XVII. 11. Febr. 1905. Nephritis indurativa, *Pyelitis cavernosa*. In Massen lange Fäden wie malignes Oedem: Ein aërob wachsender (für Mäuse apathogener) Heubacillus, Streptokokken, *Coli*-ähnliche Stäbchen.

Fall XVIII. 12. Febr. 1904. Nephritis indurativa, *Pyelitis purulenta cavernosa*: *Bac. renalis*, *Coli*-Bakterien, Streptokokken, Staphylokokken.

Fall XIX. Embolische Miliartuberkulose der Rinde, *Pyelitis serofibrinosa haemorrhagica* mit destruirendem Prozeß in der Papillenspitze, Tuberkelbacillen in Reinkultur.

Fall XX. Käsigc Nekrose der Rinde (disseminierte große, keilförmige Infarkte). Käsigc Zerfall der Marksubstanz. Destruierende Nekrose der Papillenspitzen. Schleimhaut des Nierenbeckens frei; Inhalt detritushaltiger schleimiger Harn: Tuberkelbacillen in Reinkultur.

Außer den angegebenen Fällen, von erwachsenen Rindern stammend, wurden Fälle von Kälbern eingesandt und gaben wegen ihres typischen pathologischen Bildes Anlaß zur Untersuchung.

15. März 1904. Gewicht je 530 g, beide bedeutend vergrößert. *Propria* teilweise stark verwachsen; zwischen *Propria* und Rinde und in der Rinde zahlreiche Abscesse; *Renculi* daher nach Abzug der *Propria* rauh, zerfressen, höckerig. In der Rinde sind die Abscesse mit rotem Demarkationssaum umgeben. In normal rötlich gelbem Parenchym stechen die bis linsengroßen weißlichen Abscesse neben den dunkelroten embolischen Blutungsherden gut ab. In der Marksubstanz sind einzelne streifige Abscesse bemerklich.

Schleimhaut der Nierenkelche weist Injektionen und einige mit fibrinösen Belägen zugedeckte Geschwürchen auf.

Papillen aufgefasert, mit feinem Nekrosesaum eingefasßt.

Harnleiter mäßig geschwellt, Schleimhaut verdickt, mit vereinzelt hämorrhagischen Punkten besetzt.

Mikroskopisch finden sich Epithelien aller Harnwege, Detritus, Eiterzellen, Erythrocyten und Haufen feiner schlanker Stäbchen mit Verzweigungen und Kolbenbildung, dünner als *B. renalis*.

In Kultur: *B. pyogenes Künnemann* in Reinkultur.

Im zweiten Fall vom Kalbe war neben der embolischen Nephritis eine typische diphtherische Cystitis vorhanden, wobei Nierenkelche, Becken und Harnleiter von pathologischen Veränderungen frei waren.

Schleimhaut der Blase orange, sulzig geschwellt, mit zahlreichen kapillaren Blutungspunkten und starker Gefäßinjektion. Im vorderen Teil, am Blasenscheitel, wird die Mucosa trocken, blaurot, zum Teil mit grüngrauen krupösen Lagen bedeckt. Gegen den Blasenhalsschwindet die Ramifikationsröte, einige wenige diphtherische Geschwürchen sind noch sichtbar.

Dazu gehörige Nieren sind 575 bzw. 325 g schwer, höckerig, graugelb mit zahlreichen Abscesse und eiterigen Infarkten in der Rinde neben narbigen Einziehungen der *Propria*; daran befindliche Harnleiterteile sind normal wie auch an den Einmündungsstellen derselben in die Blase diphtheroide Prozesse nach oben sich nicht verfolgen lassen.

Der geringe Inhalt der Nierenkelche enthält Leukocytenzylinder, Epithelien des Parenchyms und der Kelchschleimhaut. Die Bacillen im Blaseninhalt, Kelchschleim und den Abscessen der Niere sind denen des Falles I identisch.

In Kulturen wachsen *B. pyog. K.* gleichgeartete Stäbchen in feinen tautropfenähnlichen Kolonien in Reinkultur.

### Histologie der Pyelonephritis bovis.

#### a) Entstehungsstadium. Ausscheidung und Anschoppung in den Harnkanälchen.

Aus der Beschreibung der Fälle I—VII und der kurzen Erwähnung der übrigen geht hervor, welch variables Bild die Pyelonephritis liefert. Kitt (12, p. 475) unterscheidet zwischen einem akuten, subakuten, hypertrophischen und kavernösen Stadium. Fall V und IV sind akute Formen. Im ersten Falle sind nur wenig Veränderungen im Pyelon zu sehen: Etwas fleckige Rötungen, Schwellung der Schleimhaut, trüb flockiger Harn als Inhalt, Harnleiter noch ohne Veränderung.

Im Schnitte sieht man das Interstitium der Rinde durch zellige Infiltration dunkel punktiert. Die Epithelien der Harnkanälchen erscheinen kernlos, zum Teil losgelöst, ins Lumen abgestoßen, oder das Lumen ist mit homogenem Sekret und Zerfallsmassen ausgefüllt. An einzelnen Stellen markiert sich die Leukocytenanhäufung in Gestalt kleinerer und größerer eitriger Infarkte. Die Bowman'sche Kapsel ist entweder durch homogene, kolloidähnliche Produkte von den Gefäßknäueln des Malpighischen Netzes abgedrängt oder durch Bakterien und Leukocytenhaufen ausgefüllt, die halbmondförmig oder schalig die stark gepreßten Gefäßschlingen decken. Daneben sind strei-



Fig. 1. Schnitt durch die Papillenspitze bei Fall V. Stauung der ausgeschiedenen Bakterien in den Sammelröhren (Gram). Zeiss, Apochr. 35,0 mm, Ok. 2.

fige Abscessen besonders in Umgebung der Gefäße erkenntlich, welche letztere Thrombosen und entzündliche Infiltration der Wandung zeigen.

Auch in der Marksicht ist enorme Ansammlung von Leukocyten zu konstatieren, jedoch sind die Kerne der Epithelien der abführenden Harnwege noch größtenteils erhalten, die Lumina der Henleschen Schleifen, besonders aber der Sammelröhren durch homogene und Leukocytencylinder ausgefüllt.

Bei Gramscher Färbung sind in den Infarkten und Abscessen regellos angehäuften Bakterien färbbar, die sich in der Bowmanschen Kapsel über den Glomerulus zu kappenförmigen Gebilden konglomerieren. In den gewundenen Harnkanälchen und H.-Schleifen bilden sie Kugeln und Cylinder, immer seltener gegen die mittlere Zone der Marksicht auftretend. In den Gefäßthromben sind nur ganz vereinzelte Bakterienhäufchen sichtbar. Die unteren Teile der Marksicht sind wie gestreift durch die in den Sammelröhren sich massig stauenden Bakterien-cylinder. Die Vereinigung der Ductus papill. erscheint frei; jedoch ist die Schleimhaut wie die der Papille und des Pyelon durch starke Zellproliferation, Leukocytendurchwanderung und an einzelnen Stellen durch Ansatz feiner Fibrinauflagerungen in deutlicher Entzündung begriffen erkenntlich, auch Bakterienhäufchen sind zu sehen.

Es handelt sich hier also um eine typische Ausscheidungs-nephritis durch Bakterienembolie, verursacht mit all ihren Folgeerscheinungen im Interstitium, in den Epithelien. Charakteristisch ist die Anstauung der Bakterien in den Sammelröhren und die Entzündungsfolgen in der Schleimhaut der Papille, des Pyelon und dem vereinigten Duct. Papill., die, wenn auch erst schwach auftretend, doch deutlich erkennbar sind<sup>1)</sup>.

Gerade solche Stadien waren mir zur Erforschung der Genese wichtig. Es hat wenig Sinn, aus einem pathologischen Befunde eines ausgeprägten Krankheitszustandes die Entstehung des Prozesses folgern zu wollen. Gerade die Fälle, die makroskopisch wenig typische Veränderungen boten, waren mir hier von Wichtigkeit. Das histologische Bild der Schnitte liefert dann häufig pathologische Bilder, die, aneinandergereiht, das Entstehen der Prozesse deutlich verfolgen lassen.

#### b) Weitere Folgen im akuten Verlauf. Papillennekrose.

Geht der in Fall V hier beschriebene Prozeß weiter, so werden wir ein Bild bekommen, wie es Schnitte aus Fall IV liefern. Aus dem Vorberichte des einsendenden Kollegen ist zu entnehmen, daß es sich um typische Pyelonephritis im Anschluß an Zurückbleiben der Nachgeburt handelt.

Die histologische Untersuchung der Rinde zeigt hier ein ähnliches Bild wie im vorhergehenden Falle. Die Zelleninfiltration jedoch ist eine mehr zirkumskripte. Es tritt deutlich Absceßbildung auf. Die in diesen Infiltrationsbezirken liegenden Harnkanälchen zeigen

1) Siehe die Arbeit Orths (23) über Ausscheidung korpuskulärer Elemente durch die Niere. Orth fand Bakterien-cylinder in den Harnkanälchen (nicht der Blutgefäße) bei Endocarditis. Auch Bollinger (Nachtrag zu Enderlens Arbeit über Pyelonephritis) hält die Krankheit für eine hämatogene, bacilläre Nephritis papillaris (2, p. 346).

vollständige Degeneration der Epithelien. In stark gefärbten, dunkel granulierten Nestern liegen die farblosen, vielfach gebogenen und gewundenen Harnschläuche. In Umgebung der Abscesse ist starke Gefäßinjektion bemerkbar, das übrige Parenchym leicht zellig infiltriert, die Interstitien merklich durch Bindegewebszubildung verbreitert. Leukocytenzylinder und Detritus in den Harnkanälchen zahlreich, aber seltener wie im Falle V. Auch hier ist Gefäßthrombose in der Nähe der Infarkte nachzuweisen.

In der Mitte der Markschicht ist das histologische Bild nur durch die breiteren Interstitien unterschieden von dem der Ausscheidungs-nephritis. Gegen die Papillenspitze zu verschiebt sich die regelmäßige Anordnung der Harnröhrchen, Leukocyten und Infiltration im Bindegewebe drängen sie voneinander ab, die Epithelien der wellig zusammengedrängten Sammelröhren werden durch Leukocyten durchsetzt und verlieren sich; die Sammelröhrchen fasern förmlich auf in einem nekrotischen Zerfallsgewebe, das aus Bakterienhaufen, Zelldetritus, Leukocytenhaufen und Fibrin in regel-

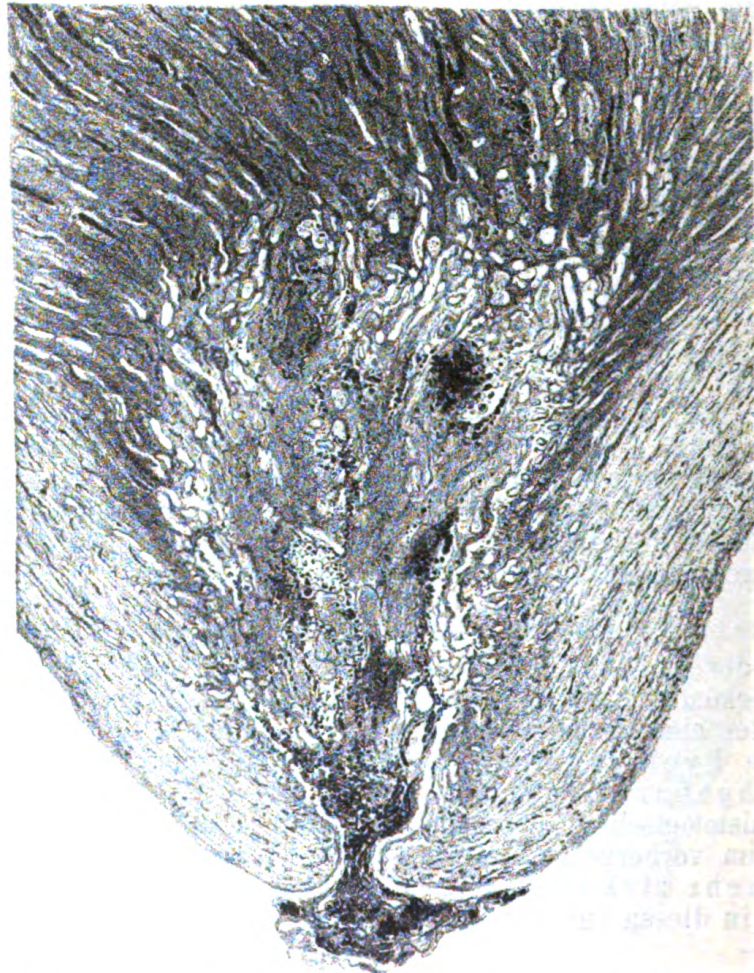


Fig. 2. Nekrosesequester in der Papillenspitze, aus Fibrin, Koagulationsmassen, Erythrocyten, Leukocyten und Bakterienhaufen bestehend, aus der Vereinigung der D. papill. ragt ein pilzähnlicher Detrituspfropf. Um den Sequester Ansammlung von Leukocyten, oben vereinzelte Leukocytenzylinder in den Harnröhrchen.



losèm Durcheinander besteht und, die Papille im Zentrum ausfüllend, als Sequester von noch gesundem oder wenigstens erhaltenem Gewebe umschlossen ist, so daß erkenntlich wird, daß der Nekroseprozeß nicht durch Angriff der Bakterien vom Pylon her ascendierend, sondern durch die von der Embolie herabgeschwemmten und in den Sammelröhren aufgestauten Keime hervorgerufen wurde. Es wäre sonst nicht gut das Erhaltenbleiben eines Gewebemantels um den Nekrosesequester erklärlich.

Dieser Fall liefert den Beweis für die Ansicht Bollingers, die eine hämatogene Bakterienembolie für die Entzündung der Papille verantwortlich macht.

### c) Weiterer Verlauf. Subakute Stadien und Chronicität.

Das histologische Bild der nun folgenden Prozesse wird natürlich durch mannigfache Reparations- und Substitutionsvorgänge und je nach dem Prävalieren der Degenerations- oder der interstitiellen Erscheinungen und je nach der Dauer der Erkrankung wesentlich verändert. Die Abscesse und Infarkte des Parenchyms bilden schließlich nekrotische Einschlüsse, im Schnitt als feinkörniger, dunkelgefärbter Detritus mit Fibrinfäden und Netzen ausgezeichnet, die sich entweder scharf von den übrigen Partien ohne besondere Bindegewebskapsel abgrenzen (Fall III), und in dem die Form der früheren Harnkanälchen durch homogene helle Konturen gekennzeichnet ist (diese Kanälchen sind ebenso mit Detritus oder Bakterienhäufchen gefüllt), oder der Zerfall der Gewebsteile geht bis zur vollständigen Verkäsung mit Kalkinkrustation (Fall II) und mächtiges Schwielenewebe umschließt diese alten Abscesse.

Die desquamierten und degenerierten Epithelien ersetzen sich wieder durch niedere Zelllagen, so daß die Lumina erweitert erscheinen, oder an anderen Stellen geht der Zerstörungsprozeß weiter und homogene, kolloide Massen nehmen die Stelle der Harnkanälchen ein und grenzen ohne Epithelzweischicht oder mit wenigen Resten derselben an das Interstitium, dessen zellige Infiltration nunmehr einer Bindegewebsvermehrung Platz gegeben hat (Fälle I, II, III, VI und VII), oder aber an anderen Stellen ist diese Verbreiterung des Interstitiums um die Gefäße beschränkt.

In der Marksicht gehen dieselben Prozesse vor sich.

Ist in der Papillenspitze zentral Nekrose erfolgt, so wird durch eitrigem Demarkierung natürlich die nekrotische Papillenspitze abgestoßen (Fall I, IV). In Fall I ist durch mächtige Bindegewebszubildung eine weitere Abgrenzung des lebenden Gewebes erfolgt. Den Uebergang zwischen beiden bildet Fall II, in dem lediglich eitrigem Demarkation und III, in dem noch dazu mäßige Narbenzubildung stattgefunden hat. Zuletzt umschließt ein breiter Schwielenmantel ohne eitrigem Infiltration die eingedickten und mit Kalksalzen inkrustierten Konkreme. Der Heilprozeß im Parenchym hat zur Bildung einer „Schrumpfniere“ Veranlassung gegeben.

Während dieser Vorgänge im Nierenparenchym oder in einzelnen, der Embolie unterliegenden Renculis waren natürlich auch die Schleimhäute des Pylon, überhaupt der abführenden Harnwege der Schädigung der Bakterien ausgesetzt und erkrankten. Das rasche Durchschwemmen des Harnes durch die Ureteren wird die Schleimhaut derselben vorerst vor intensiverer Erkrankung schützen, wenn nicht stecken-

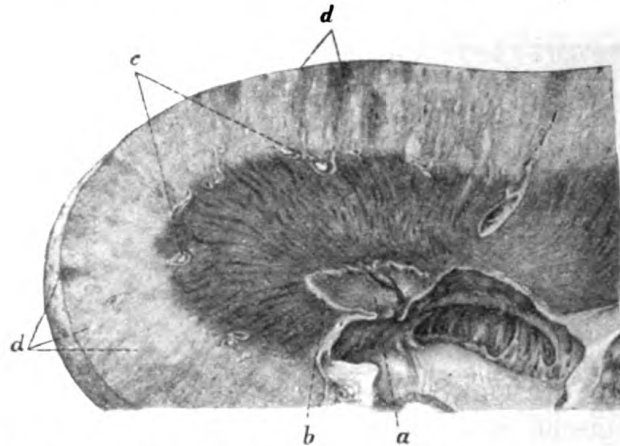


Fig. 3. 2 Nierenkeile mit gemeinsamem Nierenkelch. Aus dem im Nachsatz beschriebenen Falle. Die den Kelch ausfüllenden Eitermassen sind zur Demonstration der Erweiterung herausgenommen. Die Papillenspitze (*a*) wird durch einen breiten Demarkationssaum (*b*) abgestoßen. Die rechts liegende Papillenspitze ist bereits zerstört. *c* Thrombosen; *d* Absceßchen und Infarkte.

bleibende gröbere Partikel dies verhindern, während die Blase dem Einfluß der Entzündungserreger erheblich stärker ausgesetzt ist (langes Verweilen in diesem Reservoir). So wird es möglich, daß Blase und Niere erheblich erkrankt sind, während der Harnleiter noch frei erscheint.

Sind die abgestoßenen Partikel einigermaßen groß, so werden nicht nur lokale Entzündungserscheinungen am Orte des Festlagerns, sondern Stauungen in dem ganzen oberen Harngebiet eintreten und schließlich das Bild der Pyelonephritis „cavernosa“ entstehen lassen; dabei erweitern sich die Hohlräume und Schläuche und bindegewebige Verdickungen und Muskelhypertrophie lassen die oft beschriebenen typischen Fälle entstehen.

Die in den Nischen und Falten des Pylon festliegenden Entzündungsmassen werden hier die diphtherischen Veränderungen hervorrufen und die Papillenspitzen in den Zerstörungsprozeß einbeziehen, auch von Renculis, die bisher nicht den Entzündungsursachen ausgesetzt waren. Der Stauungsdruck der eitrigen Harnmassen bedingt außerdem durch bloß mechanische Ursachen wie der gestaute Harn bei Hydronephrose eine Abflachung des Nierenkegels. In letzterem Falle, auch wenn der Renculus nur mehr als derbfibröse Kapsel den ehemaligen Nierenkelch umwölbt, ist der Epithelbelag noch größtenteils erhalten als innerste Schicht der absceßähnlichen Höhlung (einzelne „Renculi“ von Fall III, VI und VII), kleinzellige Infiltration, Schwund des Parenchyms bis auf wenige cystenartig erweiterte Reste oft mit kolloiden Einschlüssen, Bindegewebswucherung charakterisieren die histologischen Merkmale dieser chronischen Entzündung (VI, VII).

Teils werden wohl nun die Erreger in die Markröhrchen eingepreßt, der destruierende Prozeß beginnt nach Zerstörung der Schleimhaut von unten her, und eine ascendierende Nephritis ist in bisher nicht in die Erkrankung einbezogenen Parenchymschichten ersichtlich, wodurch uns die so verschiedenen Veränderungen in verschiedenen Nierenteilen, die auf große Zeitunterschiede des Erkrankungsbeginns deuten, leicht erklärlich werden (typisch Fall II).

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Staphylokokkeninfektion bei den Hasen.

Von Dr. med. vet. **Moritz Bürgi**, Bern.

Mit 4 Figuren.

Im Jagdgebiet von Gränichen (bei Aarau) in der Schweiz gingen in den Jahren 1903 und 1904 zahlreiche Hasen an einer enzootisch auftretenden Krankheit zu Grunde. Die Jagdpächter gerieten in nicht geringe Besorgnis. Sie glaubten, die Verwendung künstlicher Düngemittel auf den Feldern stehe in einem ursächlichen Zusammenhange mit dem Eingehen der Tiere, und regten eine Untersuchung nach dieser Richtung hin an. Die außerordentlich sorgfältige Beaufsichtigung des genannten Revieres ermöglichte es, die fragliche Krankheit an 24 Kadavern der in der erwähnten Zeit verendeten Hasen zu erforschen.

Aehnliche Enzootien bei *Lepus vulgaris* wurden schon öfters beobachtet und es ist die Literatur hierüber in den Jagdzeitschriften eine sehr große. Das seuchenhafte Aussterben der Hasen wird unter den verschiedenartigsten Benennungen beschrieben, so z. B. als: „Hasenseuche“, „seuchenhaftes Eingehen der Hasen“, „Hasenkrankheit“, „Hasenvenerie“ und „Syphilis der Feldhasen“. Als hauptsächlichste Merkmale dieser Krankheiten werden Eiterungen in der Haut, den Muskeln und den Organen genannt. So lesen wir häufig die Bemerkung, daß Jäger Hasen gefunden haben, die über und über mit großen dicken Beulen bedeckt waren, welche stinkenden Eiter enthielten. Wieder andere beschreiben neben diesen Symptomen noch zahlreiche große Absceßbildungen im Herzen, in den Lungen, in der Milz, Leber und in den Nieren, sowie in den übrigen Organen. Bisher fehlt diesen Mitteilungen die Grundlage genauer anatomischer und bakteriologischer Untersuchungen. Alle in den erwähnten Zeitschriften angeführten Ursachen des seuchenhaften Eingehens der Hasen hier aufzuzählen, würde mich zu weit bringen und daher beschränke ich mich auf diejenigen Momente, welche ganz besonders in den Vordergrund gerückt werden. Sehr häufig beschuldigt man die künstlichen Düngemittel als die Urheber der Hasenseuchen, ein Punkt, auf den wir später bei den Versuchen mit derartigen Substanzen nochmals genauer zu sprechen kommen. Als weitere, viel genannte Ursache gilt das stete Ausrotten von Fuchs, Marder und Wiesel in den Revieren. Kranke Hasen werden so nicht mehr durch das Raubwild vertilgt und bieten eine sehr große Gefahr zur Weiterverbreitung von Seuchen. Daß häufig tierische und pflanzliche Parasiten den Tod der Hasen bedingen, ist eine längst bekannte Tatsache. Von den ersten kommen Ascariden, Trichotracheliden, Strongyliden, Cysticerken, Distomeen und Coccidien [Guillebeau (5)], von den zweiten Actinomyces und Milzbrand in Betracht [Kitt (7)]. Im Winter 1871/72 herrschte unter den Feldhasen des Kantons Aargau eine seuchenartige Krankheit in solcher Ausdehnung, daß nach Mitteilungen eines Jägers manchmal unter 10 erlegten Hasen 7 mit einer Krankheit behaftet waren, welche als Syphilis oder Finnen bezeichnet wurde. Prof. Bollinger (2), damals in Zürich und jetzt in München, dem zwei kranke Hasen und von einem dritten die Geschlechtsteile eingesandt wurden, veröffentlichte das Resultat seiner eingehenden Untersuchungen in *Virchows Archiv*. Bd. LIX unter dem Titel: „Die Syphilis der Feldhasen“.

In dieser Arbeit ist die Literatur über Hasenkrankheiten, wie ich mich überzeugte, vollständig angeführt. Kurz sei hier nochmals erwähnt, daß Heusinger (6) eine seuchenartige Krankheit der Feldhasen in Deutschland und England aus der Mitte des 17. Jahrhunderts beschreibt, die als Fäule oder als Egeln, egellichte Lebern bezeichnet wurde und die gleichzeitig auch Schafe und Hirsche in großer Zahl ergriff. Eine weitere Angabe ist die von Leisering (10) (Dresden), der bei Hasen Neubildungen der Leber, Lungen und Nieren, sowie Knoten in der Leber, die Krebsknoten sehr ähnlich waren und die er als Gallertkrebs ansah, beobachtete. Die Hasen, welche Leisering untersuchte, stammten aus dem Pillnitzer Forstrevier bei Dresden, in welchem im Jahre 1862 zahlreiche Tiere an einer seuchenhaft auftretenden Krankheit eingingen. Hering und Zürn (2) halten die Anwesenheit von *Cysticercus pisi-formis* bei den Hasen für identisch mit der von den Jägern als Hasenvenerie bezeichneten Krankheit. Einen Fall von allgemeiner Tuberkulose bei einem Hasen erwähnt Anacker (1). Macgillivray (12) fand am Hinterfuße eines Hasen geschwollene, dunkel aussehende, von Haaren entblößte Stellen, die mit Ausnahme von einzelnen weichen, fluktuierenden Punkten derb waren. Die eiterähnlichen Herde erstreckten sich bis tief auf den Knochen. Nach ihm sollen derartige Anschwellungen zu gewissen Jahreszeiten häufig an den Gliedmaßen der Hasen vorhanden sein. Uebertragungsversuche des kranken Materials auf ein Schwein und einen Hund fielen negativ aus. Bollinger (2) fand bei den Hasen aus dem Kanton Aargau verkäste Knötchen und Knoten verschiedener Größe in der Haut, den Muskeln und allen Organen. Hauptsächlich waren aber nach ihm die Genitalien ergriffen. Ich werde später nochmals auf die Arbeit zurückkommen und will hier nur noch bemerken, daß Bollinger zum Schlusse kommt, er habe es mit einer eigenartig konstitutionellen und wahrscheinlich kontagiösen Krankheit zu tun, die mit der Syphilis und Tuberkulose des Menschen nicht identisch sei, aber in vielen Beziehungen den genannten Prozessen doch nahe stehe und für die man daher am besten den Namen Syphilis oder Venerie gebrauche. Mégnin (14) und Mosny (14) berichten in ihrem Aufsatz „Pseudotuberkulose der Hasen“ über tuberkulöse Läsionen in den verschiedensten Organen bei Hasen, die durch eine Epidemie unbestimmter Art dezimiert wurden. Sie fanden keine Tuberkelbacillen; aber einen Bacillus, dessen Enden sich gut färben ließen, während das Zentrum die Farbstoffe nur ungern annahm und der bei Meerschweinchen genau dieselbe Krankheit hervorrief wie bei den Hasen.

Wie anfangs bemerkt, wurden dem pathologisch-anatomischen Institut hiesiger Fakultät aus dem Jagdbezirk Gränichen 24 eingegangene Hasen zugesandt. Bevor ich zur Beschreibung der einzelnen Fälle schreite, sei kurz vorausgeschickt, daß ich, nachdem bei 20 Fällen die Diagnose auf Staphylokokkeninfektion gestellt wurde und dieses Leiden somit ganz überwiegend in den Vordergrund trat, es am zweckmäßigsten erachtete, zuerst diese Fälle in einem eigenen Abschnitte zu besprechen. Der zweite Teil der Arbeit behandelt sodann die Bedeutung der künstlichen Düngemittel für das seuchenhafte Eingehen der Hasen und zum Schlusse wird noch kurz über die 4 Fälle, bei denen andere Krankheitsursachen als Staphylokokken festgestellt wurden, berichtet. Was den Gang der Untersuchung anbetrifft, so kann ich bemerken, daß er bei sämtlichen Fällen derselbe war und der Hauptsache nach in einer genauen Aufnahme des Sektionsbefundes, ferner in der Verimpfung von

kranken Gewebsteilen auf gesunde Tiere und im Anlegen bakteriologischer Kulturen bestand. Sowohl die Krankheitsprodukte als die Reinkulturen wurden subkutan, intraperitoneal und intravenös verimpft. Als Versuchstiere dienten Kaninchen, weiße und graue Mäuse, Tauben und Meerschweinchen.

## I. Verzeichnis der untersuchten Fälle von Staphylokokkeninfektion.

1) 2. März 1903. Rammler.

Der Herzbeutel auf der linken Seite des Sternums an der Brustwand angewachsen. Linke Lunge klein, vorderer und mittlerer Lappen geschrumpft und in eine käsige Masse verwandelt. Rechte Lunge groß, überall lufthaltig. Milz und Nieren von normaler Größe und Beschaffenheit. Leber etwas blutreich. Im Magen eine mäßige Menge Futter, überzogen mit Schleim; Magenschleimhaut stellenweise gerötet.

*Resumé: Adhäsive Pericarditis, Abscesse in der Lunge, Leberhyperämie, Gastritis. Staphylokokkeninfektion.*

2) 2. März 1903. Rammler.

Milz, Leber und Nieren von normaler Größe und Beschaffenheit. Im Magen ziemlich viel Futter. Der Dünndarm enthält wenig Chymus. Die Brustorgane fehlen. Die Unvollständigkeit der Sektion gestattet keine Diagnose.

3) 14. März 1903. Rammler.

Am Herzen nichts Besonderes. Lunge groß, überall lufthaltig, mit großen, dunkelroten, hyperämischen Stellen durchsetzt. Am Rande des hinteren rechten Lungenflügels eine haselnußgroße, verkäste Stelle. Milz groß, Kapsel gespannt, Pulpa weich. Im Gewebe der Leber zahlreiche weiße Punkte. Nieren von normaler Größe, Kapsel löst sich leicht. In den Nieren mehrere kleine, verkäste Knötchen. Im Magen eine mäßige Menge Futter; Schleimhaut mit Schleim bedeckt. Im Dünndarm viel flüssiger Inhalt, Schleimhaut wenig verändert. Im Blinddarm breiiger Inhalt, Schleimhaut auch hier wenig verändert. Im Mastdarm Bohnen wie gewöhnlich.

**Mikroskopische Untersuchung:**

In den Strichpräparaten von verschiedenen Organen Stäbchen, in denjenigen der Nieren speziell Kokken.

In den Bronchien der erkrankten Lungenabschnitte ist so viel Schleim, daß die Bronchien völlig verstopft sind. Manchmal kommt darin ein Ei oder ein Embryo des *Strongylus commutatus* vor. Die Größe der Eier beträgt im Durchschnitt 40 und diejenige der Embryonen 100  $\mu$  in der Länge und 20  $\mu$  in der Breite. Das Lungengewebe zeigt verschiedene Verhältnisse. Entweder sind die Alveolen noch luftführend und enthalten häufig Eier des genannten Wurmes in den verschiedenen Stadien oder es sind Embryonen zugegen. Um die Parasiten sind die Wände der Alveolen verdickt und mit Leukocyten infiltriert. Anderswo sind die Alveolen durch Leukocytenpfropfe ausgedehnt und das Lungengewebe ist dann vollständig luftleer. Mit zunehmender Größe der Parasiten schmilzt das Gewebe um dieselben eiterig ein, so daß Abscesse von der Größe von ca. 300  $\mu$  entstehen, die später zu Eiteransammlungen konfluieren.

Die Leberzellen haben ein homogenes Protoplasma. An den Kernen ist nichts Besonderes zu sehen. Die Blutgefäße sind meist stark gefüllt, so daß 2–4 Blutkörperchen nebeneinander im Schnitte erscheinen. Im Gewebe befinden sich Leucocytenhaufen, und zwar so zahlreich, daß fast in jedem Läppchen 1–2 solcher vorhanden sind. Die Breite derselben schwankt von 40–80  $\mu$ . Bestimmte Beziehungen zu den Blut- oder Gallengefäßen können nicht wahrgenommen werden. Die Kerne der Leucocyten sind meistens rund, hier und da biskuitförmig, einige spindelförmig. Außerdem findet man in der Leber eine Anzahl größerer runder Herde, bestehend aus einer mäßigen Zahl von Spindelzellen mit homogener Intercellularsubstanz. Die Breite dieser Flecken beträgt ca. 100  $\mu$ . In großen Herden dieser Art erkennt man im Zentrum eine oder mehrere Stellen, in welchen das Gewebe äußerst zellenreich ist, die Kerne sind vielfach klein und gespalten und umschließen geschrumpfte, nekrotische Leberbalken. Die Glomeruli der Milz sind verhältnismäßig klein. Die Venen der Pulpa sind stark erweitert (ca. 20  $\mu$ ) und mit vielen Pigmentkörnern angefüllt.

In der Nierenrinde, speziell in der Grenzschicht zahlreiche, etwa 300  $\mu$  breite und 700  $\mu$  lange, große Herde, bestehend aus einem nekrotischen homogenen Zentrum, umgeben von einer eiterigen Infiltration, die die Demarkation einleitet. Die Gestalt dieser Herde ist sehr unregelmäßig. An der Oberfläche besteht eine außerordentlich starke Hyperämie, so daß oft viele (bis 10) Blutkörperchen nebeneinander in den Gefäßen liegen. In den Nierenepithelien sind zahlreiche rote Pigmentkörner. Diese Hyperämie

ist eine Folge der Obliteration der Gefäße, bedingt durch die nekrotischen Herde in der Grenzschicht. In den relativ normal gebliebenen Knäueln und Röhrrchen liegt eine außergewöhnlich große Zahl Pigmentkörner, ähnlich denjenigen in der Milz.

*Resumé: Bronchitis, bedingt durch Strongylus commutatus, Hyperämie, Oedem und Absceßbildung in der Lunge, zahlreiche kleine, entzündliche Herde in der Leber, Schwellung und Pigmentablagerung in der Milz, Hyperämie und Pigmentansammlung in den Nieren und multiple nekrotische Herde in denselben. Staphylokokkeninfektion.*

4) 16. März 1903. Rammler.

Linkes Vorderbein mit nässender Haut und starker Verdickung. Im subkutanen Bindegewebe Zeichen einer Blutung. In der Muskulatur und in den Sehnenscheiden der Pfote viel käsiges Material. Herz von normaler Größe und Beschaffenheit. Lungen sehr blutreich, mit mehreren Cysten und verfärbten blutarmen Stellen durchsetzt. Auch kommen in der Lunge mehrere käsige kleine Herde vor. Leber groß und blutreich. Nieren von normaler Größe und Beschaffenheit. In der Bauchhöhle etwas flüssiges Blut. Im Magen wenig, im Dickdarm eine mäßige Menge weichen Inhaltes.

**Mikroskopische Untersuchung:**

Im Exsudat der Sehnenscheiden und in den verkästen Knötchen der Lunge sehr viele, nach Gram färbbare feinste Kokken. In der Leber und im Blute eine mäßige Menge dieser Mikroben. In der Lunge viele Exemplare von *Strongylus commutatus*.

*Resumé: Käsiges Tenoosynovitis der linken Vorderpfote und Abscesse der betreffenden Gliedmaße, Hyperämie und Abscesse in der Lunge, sowie Cysticerken und zahlreiche Exemplare von Strongylus commutatus daselbst, Bluterguß in die Bauchhöhle. Im Blute und in den Abscessen zahlreiche Kokken. Staphylokokkeninfektion.*

5) 27. März 1903. Häsin. Gewicht: 3 kg.

Blut im Herzen schlecht geronnen, große Cruorgerinnsel, ikterische Verfärbung der Intima in der Aorta. Lungen groß, überall lufthaltig. Das Gewebe blutreich, serös durchtränkt. Die Lymphknoten normal. In der Bauchhöhle eine kleine Menge leicht beweglichen Blutes. Milz sehr groß. Pulpa weich. Leber groß, Gewebe von normaler Konsistenz. Beide Nieren hyperämisch. Im Magen eine mäßige Menge von schleimreichem Inhalt. Der Dünndarm leer. Im Dickdarm breiiger Inhalt. Im Mastdarm hat der Inhalt seine normale Konsistenz. Uterus etwas groß, leer; Schleimhaut hyperämisch.

**Mikroskopische Untersuchung:**

In der Milz findet man viele Kokken.

*Resumé: Herzlähmung, Lungenhyperämie und Oedem, Milzschwellung, Bluterguß in die Bauchhöhle, Brunst wahrscheinlich. Staphylokokkeninfektion.*

6) 11. April 1903. Rammler. Gewicht: 3 kg 700 g.

Blut gut geronnen. Herz scheinbar von normaler Größe. In der Wand der rechten Kammer ein haselnußgroßer, weißer, käsiger Herd. Lungen etwas groß, mit vielen durchsichtigen, grauen Knötchen. Am oberen und scharfen Rand nußgroße, dunkelrote, luftleere Abschnitte. Milz sehr klein und blaß. Leber normal. Beide Nieren von normaler Beschaffenheit. Im Magen ziemlich viel Inhalt von Schleim überzogen; Schleimhaut blaß.

**Mikroskopische Untersuchung:**

Das käsige Material aus dem Herzabsceß enthält zahlreiche größere und kleinere, nach Gram gut färbbare Kokken. Dieselben wurden durch das Plattenverfahren in Reinkultur gezogen und als *Staphylococcus pyogenes albus* diagnostiziert.

Einige Bronchien enthalten ziemlich viel Leukocyten und Schleim, sowie erwachsene Individuen von *Strongylus commutatus*. In der Umgebung der Bronchien eine sehr mäßige Leukocytenansammlung. In den Alveolen Eier in allen Stadien der Entwicklung und Embryonen. Das Lungengewebe in der Regel normal. In den Leukocyten der Bronchien viel Pigmentkörner.

*Resumé: Staphylokokkenabsceß im Herzen. Bronchitis verminosa.*

7) 18. April 1903. Häsin. Gewicht: 3 kg 700 g.

Hinterleib aufgezogen, in der Wurfspalte etwas Blut. Blut nicht geronnen. Herz mäßig groß; 50 g Milz sehr groß, Kapsel gespannt. Leber sehr groß, Gewicht 195 g. Auf der Kapsel etwas Fibrin. Unter der Kapsel viele gelbe Pünktchen. Beide Nieren unverändert. In der Bauchhöhle etwas Serum. Der Magen normal. Das Duodenum stark gerötet, mit flüssigem Inhalt. Das Ileum endet mit einem großen weiten Trichter, in dessen Wand zahlreiche, radiär gestellte, weiße Streifen vorhanden sind. Processus vermiformis sehr groß, mit flüssigem Schleim gefüllt; die Wand ist dick und enthält ebenfalls viele weiße Streifen. Uterus relativ groß; Gewicht mit den Ovarien

30 g; Schleimhaut an vielen Orten gerötet. In einem breiten Mutterbande befindet sich ein erbsengroßes Hämatom.

**Mikroskopische Untersuchung:**

Die Milz enthält keine Bakterien. In der Leber und auf der Schleimhaut des Uterus zahlreiche, nach Gram färbbare Kokken. Der Darminhalt zeigt die gewöhnlichen Darmbakterien.

Die Malpighischen Körperchen der Milz sind klein. Die Venen der Pulpa ungewöhnlich weit und mit einer homogenen, pigmentlosen Masse angefüllt, welche offenbar aus verändertem Blute besteht. An den Rändern der Venen sind noch vielerorts kleine, gelbe Pigmentkörner. Jedes Leberläppchen enthält in der Regel mehrere kleine, rundliche Herde von ca. 20  $\mu$  Durchmesser, die meistens im Zentrum einige trockene, abgestorbene Leberzellen enthalten und der Hauptsache nach aus sehr vielen Leukocyten bestehen. Eigentümlich ist, daß die Leberbalken an manchen Stellen geschrumpft, dunkelbraun gefärbt und trübe — somit nekrotisch — erscheinen und in den durch die Schrumpfung entstandenen Maschen frische Leberzellen zu sehen sind. Die Größe dieser Maschen beträgt im Durchschnitt 40  $\mu$ .

In der Schleimhaut des Uterus stellenweise zahlreiche Pigmentkörner. Im Ansatz des breiten Mutterbandes ein etwa 1 cm dickes seröses Exsudat mit sehr viel Leukocyten, in deren Zentrum ein großes, stark erweitertes Lymphgefäß verläuft.

*Resumé: Metritis und serös eiterige Parametritis, Peritonitis, Milzschwellung, nekrotisierende Hepatitis. Allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

8) 22. April 1903. Rammler. Gewicht: 4 kg 200 g.

Blut gut geronnen. Herz stark kontrahiert, Gewicht 60 g. Der Herzbeutel durch Fibrin mit dem Brustfell verklebt. Lungen etwas groß, sehr blutreich, an mehreren Stellen luftleer, gelbgrau und derb. Sie sind auf beiden Seiten ebenso wie der Herzbeutel durch Fibrin mit dem Brustfell verklebt. Das Mediastinum stark verdickt, serös infiltriert. Auf der Pleura eine dünne Lage von Fibrin. Auf dem Bauchfell eine kleine Menge Blut. Milz etwas groß, Kapsel gespannt, Pulpa trocken. Leber groß und blutreich. Beide Nieren von normaler Größe und Beschaffenheit. Der Magen leer, Schleimhaut blaß und mit etwas Schleim bedeckt. Im Duodenum ziemlich viel Inhalt mit dem Charakter des Kotes, Schleimhaut etwas gerötet. Im Coecum eine mäßige Menge Inhalt von normaler Beschaffenheit. Im Rectum normaler Inhalt. Linker Hinterfuß stark geschwollen, besonders über der inneren Zehe. Die Oberhaut zum Teil abgestoßen. Das Gewebe dunkelblau, geschwollen, sehr saftreich und von zahlreichen Blutungen durchsetzt. Die Schwellung geht bis zum Tarsalgelenk hinauf. Auf der dorsalen Seite der kranken Zehe zahlreiche nekrotische Herde im Gewebe.

**Mikroskopische Untersuchung:**

In den Strichpräparaten vom Safte der Pfote kommt eine einzige Art nach Gram färbbarer Kokken vor. Sie sind vereinzelt, zu zweien oder zu mehreren vereinigt. Sie messen auf dem Gram-Präparate 0,8  $\mu$ . Im Thioninpräparate blieben die Bakterien ziemlich blaß. In den nekrotischen Fetzen des subkutanen Bindegewebes des Dorsum pedis sieht man im Gram-Präparate zweierlei Gebilde in großer Zahl. Es sind Kokken von 0,8 und solche von 0,4  $\mu$ . Die größeren Kokken kommen vereinzelt, zu Ketten oder zu Haufen vereinigt vor. Dazwischen liegen in großer Zahl, mehr aber als Einzelwesen, die kleineren Kokken. In den Strichpräparaten der Lunge ist derselbe Befund wie in denjenigen der nekrotischen Pfote mit der Abwechslung, daß hier die kleineren Kokken in größerer Menge und die großen verhältnismäßig selten vorhanden sind.

In einer mäßigen Anzahl von Lungenalveolen befindet sich ein dieselben nicht ganz ausfüllender Inhalt, bestehend besonders aus Fettpfröpfchen. Hie und da, jedoch selten, sieht man einen abgestorbenen, in fettiger Entartung begriffenen Embryo von *Strongylus commutatus*. Der Inhalt der Bronchien beherbergt ziemlich viele Kokken.

Querschnitte durch die Pfote zeigen im subkutanen Bindegewebe zahlreiche, mit Eiter angefüllte Hohlräume, deren Durchmesser  $\frac{1}{2}$  mm messen und somit als außerordentlich stark erweiterte Lymphgefäße zu betrachten sind. Vermittelst der Gram-Präparaten sind auch im Knochenmark Kokken nachzuweisen. In den Thioninpräparaten sieht man nach Behandlung mit Aceton und Alkohol nur die größeren Kokken. Die Zahl derselben ist viel größer als in Gram-Präparaten.

*Resumé: Hochgradige Lymphangitis an der linken Hinterpfote, Pleuritis, Milz- und Leberschwellung, Osteomyelitis, allgemeine Staphylokokkeninvasion. Verminöse Bronchopneumonie in Abheilung begriffen.*

9) 30. April 1903. Häsin. Gewicht: 3 kg.

Keine Totenstarre mehr. Die Umgebung des Wurfes mit Blut befleckt. Der Herzbeutel ist sehr groß und enthält eine große Menge von ödematösem Fibrin von grauer Farbe. Herz von mittlerer Größe, Gewicht 70 g. Der linke Pleuraraum enthält

eine Menge dicken, abgekapselten, gelben Eiters. Linke Lunge zum Teil lufthaltig; vorderer Lappen komprimiert, hinterer lufthaltig und blutreich. Rechte Lunge groß und blutreich; vorderer und mittlerer Lappen luftleer und dunkelblaurot. Milz groß, Kapsel gespannt, Pulpa dunkelblaurot. Leber groß, mit einem 2—3 mm großen verkästen Herde. Beide Nieren von normaler Größe. Die rechte Niere enthält drei 2—3 mm große, runde, verkäste Herde. Linke Niere normal. Im Magen eine mäßige Menge Inhalt und Schleim. Der Dünndarm leer. Der Dickdarm enthält viel breiigen Inhalt. Uterus verhältnismäßig groß. Im linken Horn 2, im rechten 1 nußgroßer Knoten. Diese Knoten entsprechen zurückgebliebenen Placenten, welche Verkäsungen eingegangen sind. In der Scheide eine etwas trübe, eiterige Flüssigkeit. Unter der Haut der lateralen Seite des linken Vorderarmes ein walnußgroßer, fluktuierender Knoten, der eine ziemlich große Menge rahmähnlichen Eiters enthält.

#### Mikroskopische Untersuchung:

In den Strichpräparaten der Lunge, des Eiters, des Uterus und der verkästen Herde eine große Anzahl größerer und kleinerer, nach Gram färbbarer Kokken. In der Milz sind die Kokken weniger zahlreich.

In der Nierenrinde kommen dicht nebeneinander vier Abscesse im Durchschnitte von 300  $\mu$  vor. Im Eiter eine verhältnismäßig kleine Zahl nach Gram färbbarer Kokken. Sie sind meistens einzeln, aber auch zu zweien und vieren verbunden.

*Resumé: Lymphangitis am linken Vorarm, Pericarditis, abgekapseltes Empyem, Pneumonie, Leberabsceß, multiple Nierenabscesse, Milzschwellung, Gastritis, Metritis und Placentitis. Allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

10) 23. Mai 1903. Häsin. Gewicht: 1,5 kg.

Blut im Herzen gut geronnen. Herz von normaler Größe und Beschaffenheit. In der Brusthöhle eine kleine Menge schwach blutigen Serums. Lungen groß; vorderer rechter Lappen dunkelrot, an der Spitze lufthaltig, an der Basis luftleer. Mittlerer und hinterer Lappen ebenso. Linker vorderer Lappen lufthaltig. Mittlerer Lappen sehr blutreich und luftleer. Hinterer Lappen sehr groß, ödematös und lufthaltig. Milz sehr groß, Kapsel gespannt, Pulpa fest, trocken und von dunkler Farbe. Leber von normaler Größe und Beschaffenheit. Beide Nieren dunkel gefärbt und groß, Gewebe von normaler Konsistenz. Im Magen eine mäßige Menge Futter, mit etwas Schleim überzogen, nicht blutig. Im Dünndarm viel flüssiger Inhalt, Schleimhaut etwas geschwollen. Im Dickdarm etwas weicher Inhalt. Der Mastdarm enthält keine Bohnen, sondern weichen, fast flüssigen, leicht blutigen Inhalt; Schleimhaut etwas geschwollen. Uterus und Ovarien in unreifem Zustande.

#### Mikroskopische Untersuchung:

In der Lunge, Milz und Niere viele, nach Gram färbbare Kokken. Im Darne viele Bakterien verschiedener Art.

*Resumé: Doppelseitige Pneumonie im Stadium der Anschoppung, heftige Gastroenteritis, Milzschwellung, Nierenhyperämie, allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

11) 23. Juni 1903. Häsin. Gewicht: 1,9 kg.

Mäßige Totenstarre. Die Haut intakt. In der Brusthöhle ziemlich viel blutiger Inhalt. Herz stark vergrößert und auf seiner ganzen Fläche mit dem Pericard durch fibrinöse Ablagerungen verwachsen. Das Herzfleisch ist mit einer großen Menge weißer Knötchen durchsetzt. Diese Knötchen treten auch in ziemlich großer Zahl auf den Herzklappen zu Tage. Auf dem Zwerchfell eine große Menge kleiner, weißer Knötchen. Lungen etwas groß, an mehreren Stellen mit der Pleura verwachsen. Das Lungengewebe ebenfalls mit vielen weißen Knötchen durchsetzt. Linker vorderer Lappen dunkelrot und luftleer. Mittlerer Lappen am oberen scharfen Rande ebenfalls dunkelrot und luftleer, gegen die Basis zu heller und lufthaltig. Hinterer Lappen groß, am hinteren Rande mit einer walnußgroßen, mit dickem Fibringerinnsel besetzten Absceßhöhle. In der Umgebung letzterer ist das Gewebe dunkelrot und luftleer, weiter nach vorn wird es heller und lufthaltig. Rechter vorderer Lappen auf seiner ganzen Fläche dunkelrot und luftleer, nur gegen die Basis zu ist er etwas lufthaltig. Den gleichen Befund zeigt der mittlere Lappen. Hinterer Lappen etwas groß, an seinem vorderen Rande dunkelrot und luftleer. Der übrige Teil des Lappens heller und lufthaltig. In der Bauchhöhle eine mäßige Menge Blut. Das Peritoneum an mehreren Orten mit dem Dünndarm verklebt. Auf dem Dickdarm eine ziemlich starke fibrinöse Ablagerung. Die Blutgefäße des ganzen Darmtraktes stark injiziert. Am unteren rechten Leberlappen ebenfalls eine starke fibrinöse Ablagerung. In den Bauchdecken und in der Rückenmuskulatur viele bis stecknadelkopfgroße, weiße Knötchen. Milz etwas groß, Kapsel runzelig, Pulpa normal. Leber von normaler Größe, stark blutreich. Beide Nieren stark vergrößert, hyperämisch; Kapsel leicht abziehbar. Auf dem Durchschnitt treten einige der weißen, verkästen Knötchen zu Tage. Harnblase leer.



Im Magen eine mäßige Menge dünnflüssigen Inhaltes; Schleimhaut stark hyperämisch, geschwollen und mit Schleim überzogen. Im Dünndarm viel dünnflüssiger, leicht blutiger Inhalt, Schleimhaut geschwollen. Im Dickdarm viel Inhalt von breiiger Konsistenz, Schleimhaut etwas gerötet. Im Mastdarm viel normal gebohnter Inhalt. Uterus stark hyperämisch.

#### Mikroskopische Untersuchung:

Im Knötcheninhalt der Muskulatur, der Nieren, des Herzens und der Lunge sehr viele, nach Gram färbare Kokken. Auch im Blute des Herzens und der Leber, sowie im flüssigen Inhalt der Bauch- und Brusthöhle sind die Kokken in großer Zahl vorhanden. Im dünnflüssigen, leicht blutigen Inhalt des Dünndarmes lassen sich die Kokken ebenfalls mit Leichtigkeit nachweisen. Kleine Stücke der Lunge, der Leber und der Niere, zu einem Brei zerrieben und auf das Deckglas gestrichen, ergeben denselben Befund. Das Gewebe des Herzens, der Leber und der Niere ist mikroskopisch normal.

Die veränderten Lungenteile zeigen eine Anfüllung der Alveolen mit Rundzellen und sehr viel körnigem dunkelbraunen Pigment. Kleine Würmer. Das Gewebe befindet sich im Zustande der Nekrose, nur die Bronchien waren noch im lebenden Zustande und enthielten blutigen Inhalt.

In der Leber fällt eine sehr starke Füllung der Venen und Kapillaren auf. In einigen Gallengängen sind eine Anzahl Eier von *Distomum lanceolatum*, umgeben von einigen Eiterkörperchen und Schleim, frei im Lumen sichtbar. Die Gallengänge sind merklich erweitert und mit Cylinderepithel ausgekleidet.

Die Schleimhaut des Uterus außerordentlich blutreich. Im Ovarium zahlreiche Follikel mit Eiern in sehr verschiedenen Entwicklungsstadien.

#### Spektroskopische Untersuchung:

Das Blut ergibt ausschließlich den Oxyhämoglobinstreifen.

*Resumé: Adhäsive Pleuritis und Hämatothorax, Pericarditis, Myocarditis, Endocarditis, Pneumonie und Lungenabscesse, zahlreiche Abscesse in der Bauchmuskulatur, hämorrhagische Peritonitis, Milzschwellung, starke Gastroenteritis, allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

#### 12) 12. Sept. 1903. Häsin.

Herz sehr groß, in der linken Kammer auf der Septumwand eine große, subendokardiale Blutung; rechts einige Blutpunkte in der Aortenklappe. Im übrigen zeigen die Herzklappen nichts Besonderes. Trachea schieferig verfärbt, enthält etwas feinblasiges Serum und einige Schleimklumpen. Lungen groß, überall lufthaltig, mit Ausnahme eines kleinen Gebietes am unteren Rande des mittleren Lappens beiderseits. Auf der Oberfläche wie auf der Schnittfläche eine sehr große Anzahl stecknadelkopfgroßer, schwarzer Punkte, Blutungen darstellend. Die Bronchien enthalten viel feinblasiges Serum. Milz vergrößert, Kapsel gespannt und glänzend, Pulpa weich und schwarz. Die Lymphknoten der Milz erbsengroß und saftreich. Leber weich und morsch. Beide Nieren von normaler Größe, Kapsel löst sich leicht. Der Magen mit Gas gefüllt, Schleimhaut blaß. Der Dünndarm enthält etwas Chymus, Schleimhaut leicht hyperämisch. Im Dickdarm eine mäßige Menge weichen Inhaltes, Schleimhaut blaß. Sämtliche Mesenterialdrüsen erbsen- bis kleinbohnen groß geschwollen. Uterus groß, Schleimhaut hyperämisch, mit einem dünnen, grauschwarzen Belag. Ovarien stark bohnen groß. Scheide mit viel Blut durchtränkt.

#### Mikroskopische Untersuchung:

Im Exsudat des Uterus dünne, schlanke Stäbchen, die die Gramsche Färbung annehmen. Daneben eine mäßige Zahl von Kokken und Kadaverbacillen. In der Milz sind die dünnen Stäbchen wie die Kokken ebenfalls vorhanden.

*Resumé: Blutungen unter das Endocardium und in das Lungengewebe, Bronchitis, Lungenödem, Milzschwellung, Metritis, gemischte Kokken- und Stäbcheninvasion.*

#### 13) 29. Sept. 1903. Häsin.

Herz groß. In der Trachea und in den Bronchien eine mäßige Menge feinblasigen Serums. Die Bronchiallymphknoten etwas vergrößert und saftig. Die Lungen groß. Vorderer und mittlerer Lappen vollständig lufthaltig. Hinterer Lappen zur Hälfte luftleer, im Stadium der roten Hepatisation. Vorderer linker Lappen lufthaltig. Mittlerer Lappen zur Hälfte, hinterer auf  $\frac{3}{4}$  seiner Ausdehnung luftleer. Die beiden letzteren ebenfalls im Stadium der roten Hepatisation. Milz stark vergrößert, Kapsel glatt und glänzend. Leber groß, Gewebe von guter Konsistenz. Beide Nieren normal. Der Magen mäßig gefüllt, Schleimhaut blaß. Im Dickdarm wenig breiiger Inhalt, Schleimhaut blaß. Uterus stark vergrößert, Schleimhaut mit einem dünnen, schwarzen Belag, zeigt mehrere hochgerötete Stellen. Die Lumballymphknoten bohnen groß und saftig. Die Milchdrüsen ziemlich groß, beim Durchschneiden entleert sich eine mäßige Menge

Milch. In der Haut am Kehlgange eine erbsengroße, mit käsigem Eiter gefüllte Verdickung.

**Mikroskopische Untersuchung:**

In der Milz und der Lunge, sowie im Halsabsceß zahlreiche, nach Gram färbbare Kokken.

*Resumé: Lymphangitis der Haut, Lungenödem, Pneumonie, Milzschwellung, Metritis, allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

14) 11. März 1904. Häsin. Gewicht: 3,25 kg.

Herz normal, Gewicht 40 g. Die Lungen, bis auf einen erbsengroßen, dunklen, luftleeren Herd am Rande des hinteren linken Lappens, überall lufthaltig. Milz sehr groß, Pulpa weich und dunkel gefärbt. Leber groß, von zahlreichen weißen Punkten durchsetzt, Gewicht 180 g; Gewebe blutreich und morsch. Beide Nieren von normaler Größe, Kapsel löst sich leicht; Gewicht zusammen 30 g. Uterus 30 g schwer. Das rechte Horn bedeutend größer als das linke. Die Plazentarstellen verdickt und dunkel gefärbt. Ovarien mandelgroß, stellenweise von etwas Blut durchsetzt. Gewicht beider Ovarien 7 g. Das Bindegewebe zwischen Mastdarm und Scheide stark blutig imbibiert. In der Wurfspalte etwas Blut. Die Milchdrüse der rechten Schulter enthält Milch.

**Mikroskopische Untersuchung:**

Der luftleere dunkle Herd des hinteren linken Lungenlappens zeigt viele Exemplare von *Strongylus commutatus*. Im Blute und in der Milz, sowie in den Leberabscessen zahlreiche, nach Gram färbbare Kokken.

In der Leber zahlreiche sphärische Herde von ca. 200  $\mu$  Durchmesser, in denen das Lebergewebe nekrotisch ist. Im Zentrum der Herde befindet sich eine feinkörnige Zerfallsmasse, die sich intensiv färben läßt.

*Resumé: Verminöse Pneumonie, Milzschwellung, zahlreiche Leberabscesse, Metritis des puerperalen Uterus, allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

15) 13. März 1904. Häsin. Gewicht 4,5 kg.

Herz groß, 60 g schwer; rechte Kammer enthält viel geronnenes Blut. Pleura glatt und glänzend. Die Lungen groß, Blutgehalt ein mäßiger. Der Lungenrand in großer Ausdehnung auf die Dicke eines Fingers derb mit sehr herabgesetztem Luftgehalt, jedoch noch auf dem Wasser schwimmend. Milz normal, 5 g schwer. Beide Nieren von normaler Größe, Kapsel löst sich leicht. Gewicht zusammen 30 g. Leber groß, 160 g schwer; Gewebe blutreich und von normaler Konsistenz. Im Magen eine mäßige Menge von Inhalt, überzogen mit einer dicken Lage von Schleim und Blut. Im Dünndarm eine mäßige Menge von Chymus, Schleimhaut blaß. Im Dickdarm ziemlich viel breiiger Inhalt sowie eine größere Zahl von Würmern von der Art *Trichocephalus unguiculatus*, Schleimhaut blaß. Uterus groß, 15 g schwer. Neben dem Beckenteil der Scheide ein umfangreiches Hämatom. Die Placenta entspricht dem Ende der Trächtigkeit und ist mit der Wand fest verbunden. Die Fimbrien hyperämisch und geschwollen. Die Ovarien normal, Gewicht zusammen 5 g.

**Mikroskopische Untersuchung:**

In den Strichpräparaten von Lunge, Blut, Milz und im erkrankten Uterus viele, nach Gram färbbare Kokken.

Manche Lungenalveolen sind mit Rundzellen und ergossenem Blute angefüllt. Außerdem viele Eier und Embryonen von *Strongylus commutatus*.

*Resumé: Bronchopneumonische Infiltration der Lungenränder durch Strongylus commutatus, hämorrhagische Gastritis, Trichocephalus unguiculatus im Dickdarm, Milzschwellung, Metritis, parametritisches Hämatom, allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

16) 26. März 1904. Rammler.

Herz sehr groß, unter dem Pericard zahlreiche fleckige Blutungen. An der Herzspitze und im Herzfleisch zahlreiche, bis stecknadelkopfgroße weiße Knötchen. Luftgehalt der Lungen stark herabgesetzt. Auf der Schnittfläche mehrere rote, luftleere Stellen. Die vorderen Lappen völlig blutleer, mit einigen kleinen verkästen Knötchen. Milz groß, Kapsel gespannt, Gewicht 7 g. Leber groß, 125 g schwer; Gewebe blutreich und von normaler Konsistenz. Beide Nieren von normaler Größe und Beschaffenheit. Gewicht zusammen 30 g. Im Magen eine mäßige Menge Futter, Schleimhaut blaß. Im Dünndarm viel dünnflüssiger Inhalt. Im Dickdarm etwas Inhalt von breiiger Konsistenz. Im Mastdarm viele Bohnen.

**Mikroskopische Untersuchung:**

Im Blute und in den weißen Knötchen nach Gram färbbare Kokken.

*Resumé: Myocarditis, in der Lunge Abscesse und Oedem, Milzschwellung, allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

17) 23. Juni 1904. Rammler. Gewicht: 3,5 kg.

Ziemlich guter Ernährungszustand. Herz 50 g schwer. In der Wand der linken und der rechten Kammer zahlreiche miliare Abscesse mit dickem Eiter. Die Lungen groß, an vielen Stellen derb und luftleer. Der rechte vordere Lappen an der Spitze luftleer, grau und enthält außerdem unter der Pleura einen flachen Absceß. Die Spitze des mittleren Lappens verhält sich ganz gleich. Im hinteren Lappen zwei nußgroße Abscesse, deren Inhalt sich voraussichtlich durch die Bronchien entleerte. Der linke vordere Lappen in seiner ganzen Ausdehnung dunkelrot und luftleer. Ebenso der mittlere Lappen. Im hinteren Lappen außerdem ein taubeneigroßer, entleerter Absceß. In der Brusthöhle auf beiden Seiten etwas dunkelrotes, bewegliches Serum. Auf der linken Seite eine den umschriebenen Lungenstücken entsprechende fibrinöse Pleuritis. Im Zwerchfellmuskel vier stecknadelkopfgroße Abscesse. In der Bauchhöhle ganz wenig ergossenes Blut. Milz nicht vergrößert und blaß, Gewicht 2 g. Beide Nieren von normaler Größe, Gewicht zusammen 15 g; Kapsel löst sich leicht, Gewebe blutreich, von normaler Konsistenz. Leber von normaler Größe, Gewicht 120 g; Gewebe sehr blutreich und von gewöhnlicher Konsistenz. Im Magen eine mäßige Menge von Futter, mit sehr viel Schleim überzogen. In der Harnblase eine gelatinöse Masse. Die Hoden etwas schlaff, ziemlich groß, Gewicht zusammen 25 g; Gewebe weich, mäßig saftreich. Im linken Psoas drei erbsengroße Abscesse. Auf dem Balg ein Exemplar von *Ixodes ricinus*, eines von *Thrombidium holosericeum* und mehrere Exemplare von *Haematopinus*.

#### Mikroskopische Untersuchung:

In den Strichpräparaten von Lunge, Niere, Milz, Psoasabscesse etc. zahlreiche, nach Gram färbbare Kokken. Sogar in den scheinbar normalen Hoden sieht man pro Gesichtsfeld ungefähr 10 Kokken. In der Spitze des rechten vorderen Lungenlappens zahlreiche Exemplare von Embryonen des *Strongylus commutatus* und Leukocyten.

*Resumé: Myokarditische Abscesse, Pneumonie mit Absceßbildung, bronchopneumonische Herde, veranlaßt durch Strongylus commutatus, fibrinöse Pleuritis, hämorrhagische Peritonitis, Gastritis, multiple Abscesse im Zwerchfell und in den Psoasmuskeln. Auf der Haut Ixodes ricinus, Thrombidium holosericeum, Haematopinus. Allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

18) 19. Juli 1904. Häsin. Gewicht: 3 kg.

Herz und Lungen normal. Milz stark geschwollen, Kapsel gespannt, Pulpa von guter Konsistenz. Leber und beide Nieren normal. Im Magen eine Menge blutiger Geschwüre von Stecknadelkopf- bis Kirschkernegröße. Neben der heftigen Gastritis ist auch eine akute Enteritis vorhanden. Uterus von normaler Größe, 15 g schwer; Gewebe sehr blutreich und saftig. Ovarien weiß, mit ganz wenig Follikel an der Oberfläche. Gewicht zusammen 7 g. An der Brust ein haselnußgroßer reifer Absceß.

#### Mikroskopische Untersuchung:

In den Strichpräparaten von Milz, den Magengeschwüren und dem Brustabsceß viele, nach Gram färbbare Kokken.

*Resumé: Lymphangitis der Haut, hämorrhagisch-ulceröse Gastritis, Milzschwellung, allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

19) 4. Jan. 1905. Organe eines Hasen.

Mediastinaldrüse nußgroß. Unter der Pleura eine 1 mm dicke, eiterige Ablagerung von dickem gelben Eiter.

#### Bakteriologische Untersuchung:

Mikroskopisch und kulturell werden Staphylokokken nachgewiesen.

20) 7. Jan. 1905. Rammler. Gewicht: 2,5 kg.

Mageres Tier. In der Brusthöhle etwas ergossenes, gut geronnenes Blut. Herz ziemlich klein, 40 g schwer. Lungen groß, Luftgehalt überall herabgesetzt. Unter der Pleura viele weiße Punkte. Die hinteren Zipfel derb, grau, vollkommen luftleer. Milz um das Zehnfache vergrößert, Kapsel glatt, unter derselben zahlreiche Blutpunkte, Pulpa von guter Konsistenz. Leber groß, unter der Kapsel zahlreiche weiße Punkte. Beide Nieren groß, blutreich, Gewebe mit mehreren kleinen, weißen Punkten durchsetzt. Im Magen wenig Futter, überzogen mit Schleim, Schleimhaut blaß. Im Dünndarm wenig normaler Inhalt. Im Dickdarm ist der Inhalt etwas blutig und am Uebergang in den Processus vermiformis ist die Schleimhaut stark verdickt und mit zahlreichen weißen Punkten durchsetzt. Beide Mutterbänder etwas verdickt und mit kleinen Blutpunkten durchsetzt. Die Ovarien sehr groß, weiß, mit kleinen, grauen Punkten.

#### Bakteriologische Untersuchung:

Mikroskopisch und kulturell werden Staphylokokken nachgewiesen.

Das Lungengewebe vollständig verdichtet, teils durch Ablagerung homogenen Fibrins, teils durch Anfüllung der Alveolen mit Leukocyten, Eier und Embryonen von

*Strongylus commutatus*. Die Bronchien stark erweitert, mit Leukocyten und ziemlich großen Embryonen angefüllt. Die Falten der Schleimhaut völlig ausgeglichen. Die Gefäße der Bronchien so hochgradig mit Blut gefüllt, daß dieselben wie mit einem breiten blutigen Ringe eingefaßt erscheinen.

*R e s u m é*: Hämatothorax, verminös-pneumonische Herde in der Lunge, zahlreiche metastatische Lungen-, Leber- und Nierenabscesse, Gastritis, hämorrhagische Enteritis, Blinddarmabsceß, hämorrhagische Parametritis, allgemeine Staphylokokkeninfektion.

Aus den mitgeteilten Fällen geht hervor, daß die gefallenen Hasen von Anfang März bis September gefunden wurden. Der Ausfall der Jagdmonate beweist nicht, daß die Krankheit während derselben nicht vorkommt, denn selbstverständlich sind zu dieser Jahreszeit in ihrer Gesundheit angegriffene Hasen unfehlbar ein Opfer der Verfolgung. Beide Geschlechter werden ungefähr gleich häufig von der Krankheit heimgesucht. Im März und April sind tote Rammler häufig. Später wiegt unter den gefallenem Tieren das weibliche Geschlecht vor.

Aus den angeführten Fällen ergibt sich, daß bei der hier untersuchten Hasenkrankheit Pleuritis in einem Fünftel der Fälle (4:18) vorhanden war; einmal fand ich in der Brusthöhle einen Bluterguß. 3mal ( $\frac{1}{6}$ ) kam fibrinöse Pericarditis, etwas häufiger (4mal) waren zahlreiche kleinere oder auch etwas größere myokarditische Abscesse vorhanden. Manchmal konnten solche Eiterherde auch unter dem Endokard wahrgenommen werden. In einzelnen Fällen machte sich ein flacher Bluterguß bemerkbar. Die Gegenwart von *Strongylus commutatus* mit der unvermeidlichen Bildung von bronchopneumonischen Herden wurde verhältnismäßig oft (7:18) angetroffen. In 4 Fällen war Lungenhyperämie, in 4 anderen Lungenödem zugegen. Die Hälfte der Tiere ließen pneumonische Entzündungsvorgänge entweder als Hepatisation oder in 6 Fällen als Absceßbildung erkennen. Auch die Leber war manchmal in der Form von Hyperämie, Schwellung, zirkumskripter Nekrose oder Absceßbildung beteiligt. In einem Drittel der Fälle war eine akute Gastritis zugegen, die sich manchmal mit einer akuten Enteritis verband. Verhältnismäßig oft (4:18) waren Blutergüsse in die Bauchhöhle vorhanden, gelegentlich (3:18) auch eine eigentliche fibrinöse Peritonitis. Die konstanteste Veränderung war eine Milzvergrößerung (13:18). Einmal kam in der Milz und der Niere eine reichliche Pigmentablagerung vor. Hier und da beobachte ich Nierenhyperämie, sowie auch Absceßbildung (2:18) in diesen Organen. Nicht selten war eine hämorrhagische Metritis (6:10), eventuell kombiniert mit einer Placentitis oder einem Hämatom im Parametrium zugegen. In 3 Fällen konnte ich die Gegenwart zahlreicher kleinster Abscesse in den Muskeln, sei es mehr peripher in den Gliedmaßen oder in den Psoasmuskeln oder im Zwerchfell, feststellen. Einmal fand ich ein sehr umfangreiches fibrinöses Exsudat in den Sehnenscheiden einer Pfote. Von Bedeutung erscheint mir die Tatsache, daß ich bei 4 Tieren (4:18) in der Haut verschiedener Körperstellen äußerst umfangreiche eiterige Ansammlungen in den Lymphgefäßen antraf.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die Darmstreptokokken des Pferdes.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des öffentlichen Gesundheitsamtes in Rom (Direktor: Prof. B. Gosio).]

Von Prof. L. Baruchello.

Während einer Untersuchung über den *B. coli* des Pferdes<sup>1)</sup> wurde ich durch die Bemerkung überrascht, daß sich auf den Plattenkulturen, die über die Faeces eines gesunden Pferdes gestrichen waren, stets Streptokokkenkolonien entwickelten.

Ich wiederhole hier die Schlußfolgerungen der erwähnten Arbeit in Bezug auf den *B. coli* des Pferdes:

1) Der im Darm des Pferdes vorkommende *B. coli* unterscheidet sich seinen Charakterzügen nach nicht von demjenigen, der sich im Darm des Menschen und anderer Tiere findet.

2) Auch beim Pferde läßt sich der *B. coli* nicht in einer einzigen Bakterienform individualisieren, sondern wir müssen die verschiedenen Rassen in einer Kategorie der Coli-Gruppe vereinigen.

3) Die Coli- und Coli-ähnlichen Bacillen, die ich aus den Faeces des Pferdes isoliert habe, stellen eine Reihe dar, die vom *B. coli communis* mit seinen genau bestimmten Eigenschaften stufenweise hinabsteigt bis zu den Keimen, bei denen die meisten Charakterzüge des *B. coli* negativ sind, während demselben nur einige fundamentale Eigentümlichkeiten verbleiben.

4) Ihrer Häufigkeit wegen verdient eine Bakterienform hervorgehoben zu werden, die die Gramsche Färbung nicht annimmt. (Ich habe sie bei 25 Versuchen 14mal isoliert.) Da ich dieselbe 6mal unter 25 Faecesproben bei Abwesenheit des *B. coli* gefunden habe, gleichsam als ob sie den *B. coli* geradezu ersetzte, so könnte man, der Morphologie und dem Aussehen der Kolonien nach, sowie weil sie weder Indol noch Gärung erzeugt etc., annehmen, daß sie dem *Bac. equi intestinalis* von Dyar und Keith<sup>2)</sup> entspräche. Jedoch bringt sie keine Gerinnung der Milch hervor und entwickelt sich auch unter 20°.

5) Die Art und Weise der Ernährung kann auch beim Pferde bis zu einem gewissen Grade die Darmflora verändern. Bei den Pferden, die gewöhnlich ihre Streu fressen, zeigt sich eine bemerkenswerte Wucherung des *B. coli*.

Die geringen Kenntnisse, die wir über die Streptokokken des Darms in Bezug auf das Pferd besitzen, haben mich veranlaßt, eingehende Untersuchungen über das Vorkommen von Streptokokken in den Faeces des gesunden Pferdes anzustellen.

Isolierung vermitteltst Plattenkulturmethode. Ich habe zu verschiedenen Malen 52 Kulturen bereitet, indem ich auf erstarrtem Agar in Petri-Schalen in verschiedener Richtung die Spitze einer Platinnadel mit Faeces bestrich, die in Bouillon verdünnt waren und von ebensoviel gesunden, bei verschiedenem Regime gehaltenen Pferden und von einem Esel herrührten.

1) *Clinica veterinaria*. 1904. Dez.; 1905. Jan., Febr.

2) Dyar, Harrison G. and Keith, Simeon C., Notes on normal intestinal bacilli of the horse and of certain other domestic animals. (*Technology Quarterly*. Vol. VI. No. 30; *Centralbl. f. Bakt. etc.* Bd. XVI. 1894. p. 838.)

In 45 Glasröhrchen wurden Kulturen mit Faeces, die von verschiedenen Pferden stammten, bereitet, indem ich in jede Bouillon wenige, aus dem Zentrum eines Faecesballens entnommene Stückchen legte.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des Bodens der Kulturen, nachdem sie 1—2 Tage im Thermostaten geblieben waren, zeigte sich bei 43 unter 45 Eprouvetten Entwicklung von Streptokokken, mit anderen Keimen vermischt, namentlich mit langen, dünnen Bacillen, von denen einige sehr beweglich waren.

Im ganzen habe ich also in meinen Experimenten unter 97, von 87 Pferden herrührenden Faecesproben 92mal die Streptokokken gefunden.

Für die weiteren Untersuchungen jedoch, die das bakteriologische Studium der Darmstreptokokken des gesunden Pferdes zum Zwecke hatten, bediente ich mich ausschließlich der Isolierungen durch Plattenkulturen. So hatte ich als Ausgangspunkt immer dieselbe Streptokokkenart, die unter den gegebenen Bedingungen immer Kolonien von einem mir wohlbekanntem Aussehen gab. Vielleicht befinden sich in den Faeces außer der von mir hervorgehobenen Mikrobenart noch einige andere, die ich bisweilen bemerkt habe. Für jetzt beschränke ich mich auf die Hauptform, die jedenfalls für die Intestinalflora des Pferdes typisch ist.

Die Kulturen in Kaffeebouillon wurden in einigen Fällen durch Verdünnung oder durch Streichen in Plattenkulturen übergeführt zur Absonderung der anderen Keime von den Streptokokken, die sich in jenem Nährboden entwickelt hatten, der anscheinend eine Streptokokkenart von der anderen differenziert. In diesen Plattenkulturen bemerkt man gewöhnlich, nachdem sie 12—15 Stunden im Thermostaten gestanden haben, daß (abgesehen von zahlreichen Kolonien verschiedener Keime, vorwiegend von Coli- und Coli-ähnlichen Bacillen) sich hier und da zerstreut oder in Reihen längs den Platinnadelstrichen sehr kleine, punktförmige Kolonien entwickelt haben, anfangs durchsichtig, später leicht opak, die von Streptokokken gebildet werden. Unter 52 Plattenkulturen haben sich in 49 (eingeschlossen die mit den Faeces eines Esels hergestellte) solche Kolonien entwickelt, die durch ihre sehr kleine und feine Form von den großen Kolonien anderer Mikroorganismen leicht zu unterscheiden sind, wenn man die Platten mit einiger Aufmerksamkeit oder mit Hilfe eines Vergrößerungsglases betrachtet.

Isolierung in Kaffeekulturböden. Das zur Bouillon im Verhältnis von 1 Proz. hinzugesetzte Kaffee verhindert die Entwicklung des *B. coli*, während es die der Streptokokken nicht beeinträchtigt. Nach Courmont und Lecomme<sup>1)</sup> ergeben die mit Faeces vom Menschen hergestellten Kulturen in solchen Nährböden nur Streptokokken oder vermischt mit einigen großen, unbestimmten Bacillen, die sich vom *B. coli* leicht unterscheiden lassen.

Die in Eprouvetten verteilte Kaffeebouillon war in folgendem Verhältnis bereitet:

Gewöhnliche peptonisierte Bouillon	35 ccm
Wasser	65 „
Kaffee	1 g

Das Ganze in üblicher Weise sterilisiert. So habe ich unter den zahlreichen Kolonien verflüssigender Keime die Isolierung der obigen identischen Streptokokkenform erhalten.

1) Courmont et Lecomme, Journ. de physiol. et pathol. gén. 1904. No. 2.

### Eigenschaften des isolierten Darmstreptococcus.

**Morphologische Eigenschaften.** Ketten von mehr oder weniger langen und gebogenen Mikrokokken von 4 bis zu 30—40 und mehr Elementen. Durchmesser der Kokken von 0,8—1,5  $\mu$ .

Die Entwicklung in langen Ketten tritt namentlich bei den flüssigen Kulturen hervor, während auf den festen Kulturböden die Ketten gewöhnlich kurz sind. Bei genauer Beobachtung der schwach gefärbten Präparate sieht man, daß die Ketten meistens aus Diplokokkenreihen bestehen.

Färbung mit allen basischen Anilinfarben, nicht mit Gram-Methode.

**Kulturelle Merkmale.** Agarplatten. Sehr kleine, sphärische, punktförmige Kolonien, zuerst durchsichtig, dann weißlich-grau, etwas opak.

Gelatineplatten. Kolonien den auf den Agarplatten entwickelten ähnlich. Hält man die Kulturen bei 18—20°, so kommen sie schon nach 24—48 Stunden zum Vorschein.

Stichkultur in Agar. Längs der Platinanadel eine Reihe kleiner, runder Kolonien, nahe beieinander, so daß sie gleichsam ein kleines Band bilden.

Auf schrägem Agar. Außerst kleine, durchsichtige Kolonien, die später etwas opak werden. Fließen sie zusammen, so können sie einen dünnen, halb transparenten, weißlich-grauen Ueberzug bilden, der sehr fein ist.

Glycerinagar. Wie auf einfachem Agar.

Gelatinestichkultur. Kleine, sphärische, isolierte Kolonien, die, eine über der anderen, längs dem Stich stehen. Bisweilen sind sie dicht aneinandergedrängt und nehmen das Aussehen eines kleinen Bändchens an. Keine Verflüssigung.

In Bouillon. Die Flüssigkeit bleibt klar, jedoch mit einem flockigen oder pulverigen Niederschlag am Boden der Epruvette. Es bildet sich kein Schleier an der Oberfläche.

Serum von erstarrtem Blute. Wenn der Kulturboden erst vor kurzem bei feuchter Oberfläche bereitet ist, so erscheinen die Kolonien üppiger und umfangreicher als diejenigen auf Agar. Oft bildet sich jedoch ein ausgedehnter, sehr dünner Belag.

Flüssiges Serum. Eine den Kulturen in Bouillon analoge Entwicklung.

Bouillonserum. Gute Entwicklung.

Kartoffeln. Ohne sichtbaren Ueberzug. Schabt man jedoch die Oberfläche der Kartoffel ab und untersucht die betreffende Stelle mikroskopisch, so bemerkt man kurze Ketten von 4—6 Elementen.

Milch. Gerinnt langsam.

Verhalten gegenüber dem Sauerstoff. Fakultativ anaërobisch.

Biologische Charakterzüge. Erzeugt kein Indol, ebenso wenig Gas in zuckerhaltigen Kulturböden.

Experimente über die Pathogenesis. 1 ccm Bouillonkultur, einer Maus subkutan eingepflicht, tötet dieselbe gewöhnlich in 3—8 Tagen.

Wird einem Meerschweinchen 1 ccm Bouillonkultur ins Peritoneum inokuliert, so bleibt es am Leben. Man kann es töten, wenn man ihm starke Mengen (5 ccm und mehr) einimpft.

Subkutane Injektionen der genannten Kulturen erzeugen beim Pferde eine hitzige, schmerzhaftige Anschwellung, die sich nach wenigen Tagen auflöst, ohne bemerkenswerte Alterationen in dem Befinden des Tieres hervorzurufen.

Identifikation. Es hat sich also ergeben, daß keine der von mir erwähnten morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten so charakterisiert ist, daß wir den Darm-Streptococcus des Pferdes von dem Streptococcus pyogenes oder von dem Streptococcus der Drüse des Pferdes (Streptococcus equi Schütz) differenzieren können.

Durch einige Experimente habe ich auch feststellen können, daß, wenn beim Meerschweinchen durch Inokulation einer starken Dosis von Bouillonkultur unseres Streptococcus ins Peritoneum der Tod erfolgte und die Impfungen reihenweise bei anderen Meerschweinchen fortgesetzt wurden, man dazu gelangte, die Virulenz beträchtlich zu steigern. Wonach dieser saprophytische Streptococcus auch in Hinsicht seiner pathogenen Eigenschaften ein von den anderen pathogenen Streptokokken nicht sehr verschiedenes Verhalten aufweist.

Es blieb mir noch übrig, sein Verhalten in Bezug auf einige spezifische biologische Proben zu erfahren.

Zu diesem Zwecke habe ich einen Vergleich mit dem Streptococcus der Drüse des Pferdes angestellt.

Agglutination. Es wurden einem Pferde im Verlaufe von 3 Monaten virulente Kulturen des Streptococcus der Drüse des Pferdes 4mal subkutan und 3mal in die Adern injiziert. Das agglutinierende Vermögen des Serums von diesem Pferde wurde erprobt an dem Darm-Streptococcus und an dem dem Pferde inokulierten Streptococcus. Das Serum zeigte den beiden Keimen gegenüber höchst verschiedene agglutinierende Eigenschaften; denn während es denjenigen der Drüse des Pferdes, selbst bei einer Verdünnung von 1 auf 5000, agglutinierte, wurde der andere auch nicht einmal bei einer Verdünnung von 1 auf 200 agglutiniert.

Die Probe wurde in der Weise angestellt, daß wir von direkten Isolierungen aus den Faeces herrührende Kulturen anwandten. Zur Vervollständigung des Versuches wäre es nützlich gewesen, das agglutinierende Vermögen des Serums an dem Intestinal-Streptococcus zu erproben, nachdem das pathogene Vermögen desselben durch wiederholte Uebertragungen auf weitere Tiere erhöht war. Leider konnten wir nicht mehr über das Pferd verfügen, welches das Serum geliefert hatte. Jedoch habe ich mir vorgenommen, dieses interessante Experiment sobald als möglich auszuführen.

Versuche mit Keimen, die auf Kulturböden übertragen waren, welche vom Streptococcus der Drüse der Pferde ausgenutzt waren. Man weiß, daß die Streptokokken unfähig sind, sich in den Filtraten ihrer eigenen Kulturen zu entwickeln. Marmorek<sup>1)</sup> hat diese Eigenschaft als spezifische Reaktion benutzt, um verschiedene Streptokokkenarten voneinander zu unterscheiden. Er sah, daß die verschiedenen pathogenen Streptokokken des Menschen sich in den Filtraten, einer in denen der anderen, nicht entwickelten, ausgenommen der des Scharlachfiebers, welcher eine sehr schwache Entwicklung zeigte. Dagegen entwickelte sich der Streptococcus der Drüse

1) Marmorek, L'unité des streptocoques pathogènes pour l'homme. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. p. 172.)



auf den Filtraten aller Streptokokken des Menschen vortrefflich. Infolgedessen behauptete Marmorek, daß er nicht unter die Streptokokken menschlicher Herkunft klassifiziert werden könnte.

Ich habe in Eprouvetten gebracht:

a) filtrierte Bouillonkulturen, in denen sich vorher der Darm-Streptococcus des Pferdes entwickelt hatte;

b) filtrierte Bouillonkulturen, in denen sich der Streptococcus equi der Druse entwickelt hatte.

Eine Eprouvette mit jeder filtrierten Bouillonkultur wurde mit dem Streptococcus infiziert, der sich früher in jenem Kulturboden entwickelt hatte; darauf wurden die Eprouvetten im Thermostaten gelassen. Die Flüssigkeiten blieben völlig steril.

Ferner habe ich zwei Eprouvetten mit jeder filtrierten Bouillonkultur mit dem Streptococcus der anderen Art infiziert, nämlich in das Filtrat a) habe ich den Streptococcus der Druse des Pferdes, in das Filtrat b) den Darm-Streptococcus eingeführt und die Eprouvetten in den Thermostaten gesetzt. In allen 4 Eprouvetten trat eine ziemlich gute Entwicklung hervor.

Diese beiden Versuche liefern den Beweis, daß trotz der Aehnlichkeit ihrer morphologischen und kulturellen Eigenschaften ein jeder der beiden Keime seine besonderen biologischen Charakterzüge besitzt.

#### Schlußfolgerungen.

1) In den Faeces des Pferdes bemerkt man fast immer einen saprophytischen Streptococcus, der sich leicht isolieren läßt vermittelt des Plattenverfahrens, wo er sich durch das Aussehen und die Anordnung der äußerst kleinen Kolonien auszeichnet.

2) Derselbe Streptococcus kommt auch in den Faeces des Esels vor.

3) Der Darm-Streptococcus besitzt keine besonderen morphologischen und kulturellen Eigenschaften, um denselben von demjenigen der Druse der Pferde (und ebenso von dem Streptococcus pyogenes und dem der Pleuropulmonitis des Pferdes) zu unterscheiden. Die Agglutinationsprobe und die Entwicklung eines jeden der genannten Mikroorganismen in den filtrierten Bouillonkulturen des anderen beweisen jedoch, daß ihnen verschiedene biologische Eigenschaften zukommen, die sie differenzieren.

4) Dem Intestinal-Streptococcus des Pferdes ist eine pathogene Wirkung eigen, die durch weitere Uebertragungen erhöht werden kann.

5) Diese Tatsache führt zu der Vermutung, daß der genannte Streptococcus, ein gewöhnlicher und der Regel nach unschädlicher Gast des Pferdedarms, unter gewissen Umständen allein oder in Verbindung mit dem B. coli schädlich werden und noch nicht genau definierte Infektionen des Pferdes hervorrufen könne, wie es verschiedene Untersuchungen in betreff der Darmstreptokokken des Menschen annehmen lassen. Die Kenntnis desselben gibt daher den Weg zu neuen Untersuchungen über die Pathologie des Pferdes an.

Nachdruck verboten.

## Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums in Zürich.]

Von P. Ankersmit.

(Fortsetzung.)

### Versuch III.

#### A. Vorläufige Prüfung.

**Panseninhalt.** Reaktion alkalisch. Geruch nach Jauche. Konsistenz flüssig.  
**Labmageninhalt.** Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz flüssig.

**Dünndarminhalt.** Reaktion deutlich alkalisch. Kein auffallender Geruch. Konsistenz breiig.

**Mastdarminhalt.** Reaktion neutral. Schwacher Geruch nach Jauche. Konsistenz fest.

#### B. Quantitative bakteriologische Analyse. Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen	Labmagen	Dünndarm	Mastdarm
Gelatineplattenkulturen	200 000	15 000	130 000	80 000
Dextroseagar h. Schicht	2 400 000	36 000	17 000	500 000
Gel.-Pl. Kokken		Megath., Mesent., Tumescens + Coli	Megath., Mesent. + kokkenähnl. Güntheri	Megath., Mesent., Mycoides + andere
Vorherrschende Bakterienarten	h. Sch.-K. Güntheri	Güntheri + wenig Coli	Coli + wenig Güntheri	Güntheri

#### C. Qualitative bakteriologische Analyse.

a) Pansen. Die Gelatineplatten waren dicht besetzt mit kreisrunden, gelblichen, nicht oder doch nur langsam die Gelatine verflüssigenden Kokkenkolonien. Eine von einer solchen abgeimpfte Gelatinestichkultur war bei 17° C erst nach 6 Tagen verflüssigt. Milch war nach 8 Tagen noch scheinbar unverändert. Neben diesen vorherrschenden Kokkenkolonien (90 Proz.) sind kleine punktförmige, typische Güntheri-Kolonien nicht selten. Die B-Platte läßt neben vorherrschenden Kokkenkolonien auch Güntheri- und Sarcina-Kolonien nachweisen.

Die Kulturen in hoher Schicht sind stark getrübt, ohne Gas gebildet zu haben. Alle untersuchten Kolonien des C-Röhrchens lassen entweder typische, zur Kettenbildung neigende oder dann krankhafte, der Kokkenform näherstehende Güntheri-Stäbchen erkennen.

b) Labmagen. Von den 15 Kolonien auf der A-Platte waren 10 verflüssigte Megatherium, weitere 3 typische Coli-Oberflächenkolonien und 2 Güntheri-Kolonien. Die B-Platte zeigte 2 Megatherium-Kolonien und 1 Güntheri-Kolonie mit kokkenähnlichen Formen.

Die Kulturen i. h. Schicht enthielten eine trübe Agarmasse von ganz kleinen Gasbläschen durchsetzt. Die wenigen Kolonien waren mit einem kleinen Säurehof umgeben. Vorherrschend bestanden sie aus Güntheri- oder Güntheri-ähnlichen Stäbchen. Zurücktretend an Zahl ließen sich Aërogenes-ähnliche Kurzstäbchen nachweisen, die wohl die Gasbildung hervorgerufen haben dürften.

c) Dünndarm. Die A-Platte war nach 2 Tagen schon vollständig verflüssigt. Es ließen sich in einem Tropfen der verflüssigten Gelatine neben langsam beweglichen Megatherium-Stäbchen unbewegliche und bewegliche Kurzstäbchen, sodann auch Sarcinen nachweisen. Die B-Platte zählte 13 Kolonien, wovon 5 kleine, wackelnde, Coli-ähnliche Bakterien erkennen ließen. Die 8 anderen Kolonien bestanden zum Teil aus Kokken, beweglichen und unbeweglichen Langstäbchen und Sarcinen, also im ganzen aus einem ziemlich bunten Gemisch. Die Kultur in hoher Schicht zeigte kräftige Gasbildung, die Güntheri-Kolonien traten an Zahl stark zurück gegenüber

unbeweglichen, Polkappen tragenden Bakterien der Coli-Gruppe. Das B-Röhrchen enthielt nur eine einzige Kolonie, einem Aërogenes-ähnlichen Kurzstäbchen angehörend.

d) Mastdarm. Die Platten weisen eine sehr gemischte Flora auf mit keiner vorherrschenden Bakterienart. Die Bodenbakterien Megatherium, Mesentericus und Tumescens waren in großer Zahl vertreten. Auch das schon früher genannte sporenbildende, unbewegliche Langstäbchen aus Erde konnte wiederholt nachgewiesen werden. Ferner waren Coli- und Güntheri-Kolonien besonders auf der B- und C-Platte nicht selten. Auf der A-Platte konnten sie wegen der vielen großen, verflüssigten Bodenbakterienkolonien nur vereinzelt nachgewiesen werden.

In den anaëroben Kulturen waren nur Spuren von Gas gebildet, dagegen war die Agarmasse stark getrübt, besonders in den beiden ersten Röhrchen, welche sehr dicht mit Kolonien besät waren. Weitaus die meisten Kolonien ließen Güntheri- oder kokkenähnliche Güntheri-Stäbchen erkennen, während nur relativ selten Vertreter der Coli-Gruppe nachzuweisen waren, zum Teil bewegliche, meist aber unbewegliche.

Auch dieser Versuch liefert im großen ganzen eine Bestätigung der beiden ersten. Im Pansen zeigen sich neben vielen anderen Bakterienarten, die nur auf der Gelatineplatte ihre Anwesenheit verraten, hauptsächlich Milchsäurebakterien. Im Labmagen erfolgt eine Massenvernichtung durch die antiseptische Wirkung des Magensaftes. Weniger übereinstimmend mit den vorigen Versuchen steht die hohe Zahl der Plattenkolonien vom Dünndarm. Im Mastdarm endlich nimmt die Zahl wieder erheblich, wenn auch nicht so stark wie in der vorigen Probe, zu.

#### Versuch IV.

Im Gegensatz zu den bisherigen Versuchen wurde bei diesem und den meisten folgenden das Ausgangsmaterial sowohl im pasteurisierten (15 Min. 80° C), als im nicht pasteurisierten Zustande auf Platten und Kulturen i. h. Schicht verarbeitet. In Anbetracht des Umstandes, daß die sporenbildenden Arten bei höherer Temperatur meist besser zur Entwicklung gelangen, wurden für das pasteurisierte Material an Stelle der Gelatineplatten Agarplatten gewählt.

#### A. Vorläufige Prüfung.

Panseninhalt. Reaktion alkalisch. Geruch schwach nach Jauche. Konsistenz flüssig.

Labmagenininhalt. Reaktion stark sauer. Geruch schwach nach Erbrochenem. Konsistenz breiig.

Dünndarminhalt. Reaktion schwach alkalisch, fast neutral. Kein auffallender Geruch. Konsistenz breiig.

Mastdarminhalt. Reaktion neutral. Sehr schwacher Fäkalgeruch. Konsistenz fest.

#### B. Quantitative bakteriologische Analyse. Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen		Labmagen		Dünndarm		Mastdarm	
	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
Gel.-Pl.	700 000	—	16 000	—	8 200	—	19 000	—
D.-Agar.	12 000 000	1200	40 000	2500	21 000	1300	180 000	5100
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl. Kokken	—	Bodenbakt.	—	Bodenbakt. + andere	—	Bodenbakt. + andere	—
	h. Sch. K. Güntheri	Bodenbakt. + andere	Mesent. Megath. + Coli	Megath. + Pektinvergärer	Güntheri + Coli	Gemisch versch. Typen + Putrificus	Güntheri	Gemisch versch. Typen + Putrificus

## C. Qualitative bakteriologische Analyse.

## I. Ausgangsmaterialien nicht pasteurisiert.

a) Pansen. Vorherrschend auf den 3 Platten sind gelbliche und graue, verflüssigende und nichtverflüssigende Kokkenkolonien, ferner verflüssigte *Megatherium*- und *Tumescens*- und bewegliche und unbewegliche *Coli*-Formen enthaltende Kolonien. Neben den Kokken sind *Tumescens* am häufigsten.

Die Kulturen i. h. Schicht wiesen eine stark getrübe Agarmasse, aber keine Gasbildung auf. Alle untersuchten Kolonien der C-Kultur zeigten ausschließlich *Güntheri*- oder *Güntheri*-ähnliche, zur Kokkenform neigende Stäbchen. 3 Abimpfungen auf Milch hatten schon nach 30 Stunden die Milch zum Gerinnen gebracht.

b) Labmagen. Die Platten waren nach 2 Tagen schon vollständig verflüssigt durch *Megatherium*, *Tumescens*, *Mycoides* und andere Arten. Kokken wurden hier nicht gefunden. Die B-Platte zählte nur eine *Megatherium*-Kolonie, während die C-Platte steril war.

Die Kulturen i. h. Schicht zeigten nur wenig Kolonien. Die Agarmasse der A-Kultur war stark zerrissen, die der B- und C-Kultur dagegen nicht. Die Mehrzahl der Kolonien ließ *Megatherium*- und *Mesentericus*-Stäbchen erkennen. Die letzteren erwiesen sich nach Abimpfung auf Kartoffel als zum Typus des roten Kartoffelbacillus gehörend. In der B-Kultur befanden sich 2 Kolonien von Pektinvergärer-ähnlichen Stäbchen, die aber bei Abimpfung auf spezifischen Nährboden ein negatives Verhalten zeigten. *Güntheri* und *Coli* waren spärlich vertreten.

c) Dünndarm. Auch hier waren die Platten schon nach 2 Tagen fast vollständig verflüssigt durch die verschiedenen Bodenbakterien. Neben vielen *Tumescens* ließen sich *Megatherium*- und *Coli*-Kolonien auffinden. Im allgemeinen war die Flora eine gemischte.

In den Kulturen i. h. Schicht war in allen 3 Röhrchen ein wenig Gas gebildet. Sie zeigten außerdem schwachen Geruch nach Limburger Käse. Versuche, den Fäulniserreger rein zu züchten, führten zu keinem Resultat. Neben wenigen *Megatherium* und Kartoffelbacillenkolonien, die sich in den obersten Schichten angesammelt hatten, konnten *Coli*-ähnliche nachgewiesen werden. Auch *Güntheri*-Kolonien kamen recht häufig vor und dürfen als vorherrschend bezeichnet werden.

d) Mastdarm. Die A- und B-Platte waren nach 2 Tagen vollständig verflüssigt von *Megatherium*, *Mesentericus*, *Tumescens* und anderen, die C-Platte zählte 8 Kolonien, von denen 4 *Megatherium*, 2 *Tumescens* waren und 2 andere unbeweglichen Kurzstäbchen angehörten.

In den anaëroben Kulturen war keine Spur von Gas zu bemerken. Dagegen war die Agarmasse der A-Kultur stark getrübt. Die B-Kultur zeigte nur 3 Kolonien, die alle schöne *Güntheri*-Stäbchen aufwiesen. Auch alle untersuchten Kolonien des A-Röhrchens ließen zum Teil typische, zum Teil auch krankhaft aussehende *Güntheri*-Stäbchen erkennen, die manchmal der Streptokokkenform so nahe kamen, daß eine sichere Entscheidung nicht möglich war.

## II. Ausgangsmaterialien pasteurisiert.

a) Pansen. Da die Agarplatten der verschiedenen Darmabteilungen zu spät untersucht wurden und für eine genaue Zählung nicht mehr brauchbar waren, werden wir sie bei den folgenden Darmabteilungen nicht mehr erwähnen. Nur kurz sei mitgeteilt, daß auf allen Platten die typischen *Mesentericus*- und *Mycoides*-Kolonien und sodann, wie eine nähere mikroskopische Untersuchung ergab, auch die *Megatherium*- und *Tumescens*-Kolonien eine Hauptrolle spielten. In den Kulturen i. h. Schicht war kein Gas gebildet. Es zeigte sich fast nur im oberen Teil der Röhrchen deutliches, kräftiges Wachstum. Nach mikroskopischer Untersuchung vieler Kolonien und nachheriger Verimpfung auf Kartoffel zeigte es sich, daß die Bodenbakterien den Hauptanteil an der geringen Kolonienzahl hatten.

b) Labmagen. Eine geringe Gasbildung war in den Kulturen in hoher Schicht bemerkbar. Bei Verdünnung B und C fand sich nur in den oberen Schichten Wachstum, auf Bodenbakterien zurückzuführen. Dagegen waren in der A-Kultur 3 große, schleimige Kolonien in der Tiefe entstanden, die aus typischen Pektinvergärerstäbchen bestanden. Nach Abimpfung auf den spezifischen Nährboden zeigte sich schon nach 24 Stunden eine kräftige Gasbildung, womit ihre Identität mit den Pektinvergärem bewiesen war.

Auch aus der B-Kultur vermochten wir nachträglich einen Pektinvergärer zu isolieren.

c) Dünndarm. Im A- und B-Röhrchen war ziemlich viel, im C-Röhrchen dagegen kein Gas gebildet. Beim Entfernen der Gummistopfen von der A- und B-Kultur machte sich ein starker Fäkalgeruch bemerkbar, der auf die Anwesenheit von anaëroben Fäulnisregnern schließen ließ. Es gelang uns denn auch nach einigen Mißerfolgen,

den Erreger des unangenehmen Geruches rein zu züchten, welcher sich als vollkommen identisch erwies mit dem von *Bienstock* (4) zuerst beschriebenen *Bac. putrificus coli*.

d) **Mastdarm.** Auch hier zeichneten sich die A- und B-Kulturen aus durch einen auffallend starken Fäkalgeruch, während gleichzeitig eine schwache Gasbildung bemerkbar war. In den oberen Schichten spielten die Bodenbakterien, in erster Linie der rote Kartoffelbacillus die Hauptrolle. Auch hier gelang es uns, den *Putrificus* in Reinkultur zu isolieren. Neben den oben genannten Kolonien enthielt das A-Röhrchen noch 3 Kolonien von Pektinvergärer-ähnlichen Stäbchen, die aber nach Abimpfung auf den spezifischen Nährboden sich unfähig erwiesen, die ihnen zuge dachte Leistung zu vollbringen.

Bei diesem Versuch kommt zunächst wieder das Vorherrschen der Milchsäurebakterien im Pansen deutlich zum Ausdruck. Im Labmagen dagegen werden dieselben in der Zahl sehr stark eingeschränkt. Es sind hier hauptsächlich *Coli*- und die Bodenbakterien, welche in den Vordergrund treten. Im Dünndarm treten neben *Güntheri* und *Coli* wiederum die Bodenbakterien und einige Fäulniserreger auf, welche letztere auch in den Mastdarmkulturen durch den unangenehmen Geruch ihre Anwesenheit verraten. Noch kurz sei erwähnt, daß unser *Bacillus* sich in jeder Beziehung identisch zeigte mit dem aus *Král's* Laboratorium bezogenen *Putrificus coli* (*Bienstock*). Was das Verhältnis von den nicht pasteurisierten Materialien betrifft, so ist dies im Pansen am weitesten, wo nur relativ sehr wenig Keime in Sporenform vorhanden sind, sodann folgen Labmagen, Mastdarm und Dünndarm. Die Befunde bezüglich der anaëroben Fäulnisbakterien und der Pektinvergärer deuten darauf hin, daß bei Verwendung pasteurisierten Materials der direkte Nachweis bestimmter sporenbildender Arten ohne Zuhilfenahme eines besonderen Anreicherungsverfahrens viel eher möglich ist, als bei Aussaat von nicht pasteurisiertem Material, eine Tatsache, die übrigens schon von mehrfacher Seite hervorgehoben wurde.

### Versuch V.

#### A. Vorläufige Prüfung.

**Panseninhalt.** Reaktion alkalisch. Geruch schwach nach Kuhstall. Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalt.** Reaktion stark sauer. Kein auffallender Geruch. Konsistenz breiig.

**Dünndarminhalt.** Reaktion deutlich alkalisch. Kein auffallender Geruch. Konsistenz dickflüssig.

**Mastdarminhalt.** Reaktion neutral. Schwacher Geruch nach Fäkalien. Konsistenz fest.

#### B. Quantitative bakteriologische Analyse.

Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen		Labmagen		Dünndarm		Mastdarm	
	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
Gel.-Pl.	360 000	—	150 000	—	180 000	—	1 500 000	—
D.-Agar h. Sch.	2 400 000	2000	550 000	3200	250 000	1500	800 000	24 000
Gel.-Pl. Kokken + <i>Coli</i>	—	—	Kokken, Megath. + andere	—	<i>Coli</i> + Megath.	—	—	—
Vorherrschende Bakterienarten	h. Sch. <i>Güntheri</i>	Bodenbakt. + Pektinvergärer	<i>Güntheri</i>	Bodenbakt. + Pektinvergärer	<i>Coli</i> + <i>Güntheri</i>	Bodenbakt. + Pektinvergärer	<i>Güntheri</i>	Gemisch versch. Typen + Buttersäurebakterien

Erste Abt. Orig. Bd. XXXIX.

Heft 5.

37

## C. Qualitative bakteriologische Analyse.

## I. Ausgangsmaterialien nicht pasteurisiert.

a) Pansen. Weit vorherrschend sind auf den Platten verflüssigende und nicht verflüssigende Kokkenkolonien, weiter viel *Megatherium* und *Tumescens* und etwa 20 Proz. *Mycoides*.

Die Kulturen i. h. Schicht zeigen eine starke Trübung der Agarmasse, aber kein Gas. Alle untersuchten linsenförmigen Kolonien der C-Kultur ließen den *Güntheri*-Typus manchmal deutlich, manchmal weniger deutlich erkennen. Eine starke Neigung zur Bildung von Involutionsformen, wobei die Stäbchen bzw. Verbände stark der Kokken- oder Streptokokkenform ähnelten, zeigten viele Kolonien. Abimpfungen auf Milch und besonders auf Molkenagarstich sprachen indessen für Identität mit dem genannten Milchsäurebakterium.

b) Labmagen. Vorherrschend auf den Platten sind auch hier die Kokkenkolonien. In Zahl zurücktretend, aber immerhin noch häufig sind ferner *Megatherium* und *Mesentericus*. Letztere Art ließ nach Abimpfung auf Kartoffeln meistens den *Mesentericus ruber*-Typus erkennen. Auch vereinzelte *Tumescens* und *Mycoides*-Kolonien machten sich bemerkbar.

In den Kulturen i. h. Schicht war eine Gasbildung nicht eingetreten, dagegen zeigte die A- und B-Kultur eine ziemlich stark getrübe Agarmasse. Die C-Kultur enthielt 8 Kolonien, die alle bei näherer mikroskopischer Untersuchung *Güntheri*-Stäbchen zeigten. Die Milchsäurebakterien sind also auch hier im Labmagen durchaus vorherrschend vertreten.

c) Dünndarm. Die A-Platte war von einigen wenigen *Megatherium*- und *Mesentericus*-Kolonien ganz verflüssigt, die B- und C-Platte dagegen enthielten fast ausschließlich *Coli*-Kolonien. Die Oberflächenkolonien waren zwar nicht sehr typisch, aber bei einer näheren Untersuchung auf Gelatinestrich- und Dextroseagarschüttelkultur konnten wir doch feststellen, daß es sich unzweifelhaft um Vertreter der *Coli*-Gruppe handelte.

Von den anaëroben Kulturen zeigte A eine sehr starke, B und C eine nur mäßig zerrissene Agarmasse. In der C-Kultur waren neben vorherrschenden Vertretern der *Coli*-Gruppe in geringerer Zahl *Güntheri*-Kolonien nachweisbar.

d) Mastdarm. Die Platten ließen vorherrschend *Coli*-ähnliche Oberflächenkolonien erkennen. Viele dieser Kolonien zeigten lebhaft bewegliche *Coli*-ähnliche Stäbchen, andere dagegen waren mehr dem *Aërogenes*-Typus entsprechende, unbewegliche und ziemlich gedrungene Formen. Auch die Bodenbakterien waren recht häufig und hatten nach 4 Tagen die Platten vollständig verflüssigt. In allen 3 Kulturen i. h. Schicht kräftige Gasbildung und Trübung der Agarmasse. Neben wenig *Güntheri*- und anderen Kolonien waren vorherrschend Kolonien der *Coli*-Gruppe, welche fast immer unbewegliche, *Aërogenes*-ähnliche Stäbchen im hängenden Tropfen nachweisen ließen.

## II. Ausgangsmaterialien pasteurisiert.

Auch hier hatten die Agarplatten zu lange im Brutschrank verweilt und waren infolge Ueberwachsens durch Kartoffelbacillenoberflächenkolonien für die Untersuchung so ziemlich wertlos geworden. Die wenigen gut isolierten Kolonien, welche mit Sicherheit rein abzuimpfen waren, zeigten auf Kartoffeln vorherrschend den *Mesentericus*-Typus.

a) Pansen. Die Kulturen in hoher Schicht zeigten auffallend wenig Kolonien. Ziemlich häufig waren große, lockerflockige *Mycoides*kolonien, die sich sowohl unten wie auch oben im Röhrchen entwickelt hatten. In den oberen Schichten waren *Megatherium* und rote Kartoffelbacillen nachweisbar. Eine von den abgeimpften Kartoffeln fiel auf durch einen ganz kräftigen rußschwarzen Belag. Es handelte sich um den zuerst von Biel (3) aufgefundenen *Mesentericus niger*, welcher nur auf stärkemehlhaltigen Nährböden das schwarze Pigment zu bilden vermag.

b) Labmagen. Wie in den Kulturen vom Pansen, spielten auch hier die Bodenbakterien eine Hauptrolle.

c) Dünndarm. Es wurden hier, neben *Megatherium* und *Mesentericus*, Kolonien von einem schlanken, relativ langen, uns nicht näher bekannten *Bacillus* aufgefunden. Eine Abimpfung auf Agarstich ließ nach 8 Tagen bei 37° noch kein sichtbares Wachstum erkennen. Vielleicht war auf diesen Organismus die schwache Gasbildung zurückzuführen.

d) Mastdarm. Fast nur in den oberen Schichten spärliches Wachstum der Bodenbakterien. *Megatherium*, rote und gewöhnliche Kartoffelbacillen am häufigsten. Weiter unten im Röhrchen auch große, flockige *Mycoides*-Kolonien. Auch der vorhin erwähnte, schlanke, lange *Bacillus* wurde wiederholt angetroffen; auf ihn wird in Anbetracht des Fehlens anderer Gasbildner die Gasbildung in den Verdünnungen A und B wohl zurückzuführen sein. Geruch nach Buttersäure.

Bei diesem Versuch spielt im Pansen das *Bact. Güntheri* wiederum die Hauptrolle. Auch im Labmagen kommt es neben Kokken und den Bodenbakterien noch vorherrschend vor, um im Dünndarm von den Vertretern der *Coli*-Gruppe verdrängt zu werden. Die Reduktion der Keimzahl schreitet vom Pansen zum Labmagen und Dünndarm fort, um im Mastdarm wieder einer Steigerung Platz zu machen. Das Verhältnis der Sporen zu den vegetativen Stäbchen ist im Pansen wieder ein sehr weites, im Mastdarm dagegen ein relativ enges, was auf eine große Sporenzahl schließen läßt. Noch ist beizufügen, daß Pektinvergärer oder Pektinvergärer-ähnliche Stäbchen nicht aufgefunden worden sind, und auch anaerobe Fäulniserreger nicht nachgewiesen werden konnten.

### Versuch VI.

#### A. Vorläufige Prüfung.

Panseninhalte. Reaktion neutral. Geruch nach Jauche. Konsistenz flüssig.

Labmageninhalte. Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz breiig.

Dünndarminhalte. Reaktion alkalisch. Kein auffallender Geruch. Konsistenz dickflüssig.

Mastdarminhalte. Reaktion neutral. Geruch schwach nach Exkrementen. Konsistenz fest.

#### B. Quantitative bakteriologische Analyse. Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen		Labmagen		Dünndarm		Mastdarm	
	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
Gel.-Pl.	242 000	—	1 200	—	2 000?	—	2 500?	—
D.-Agar h. Sch.	3 600 000	750	80 000	850	46 000	900	290 000	1 000
Gel.-Pl. + <i>Coli</i>	—	—	Kokken, Megath. + andere Güntheri	—	<i>Coli</i> + Megath.	—	Megath.	—
Vorherrschende Bakt. Arten	h. Sch. K. Güntheri	Bodenbakt. + Pektinvergärer	Güntheri	Bodenbakt. + Pektinvergärer	<i>Coli</i> + Güntheri	Bodenbakt. + Pektinvergärer	Güntheri	Gemisch verschiedener Typen + Butter-säurebakt.

#### C. Qualitative bakteriologische Analyse.

##### I. Ausgangsmaterialien nicht pasteurisiert.

a) Pansen. Vorherrschend sind auf den Platten Gelatine, verflüssigende und nicht verflüssigende Kokken, daneben in fast gleicher Zahl *Coli*-ähnliche Kurzstäbchen, aber unbeweglich und Polkappen zeigend. Weiter auf der A-Platte 30 verflüssigte *Mycoides*- und 12 *Megatherium*-Kolonien. Von der B-Platte, welche 10 Kolonien zählt, sind 4 Kokken-, 5 *Coli*- und 1 *Mycoides*-Kolonie mikroskopisch nachweisbar.

In den anaeroben Kulturen sind einige Gasblasen bemerkbar, verursacht durch im Kondenswasser nachweisbare *Coli*-Bakterien. Die C-Kultur enthält aber ausschließlich Kolonien von *Güntheri*-Stäbchen, die manchmal in Kettchen von 4 Gliedern auftreten. Die aus der B-Kultur untersuchten Kolonien zeigen vielfach krankhafte, nach der Kokkenform neigende Milchsäurestäbchen. 4 Abimpfungen auf Milch und Molkenagarstich bewiesen indessen schon nach 24 Stunden ihre Identität mit den letzteren.

b) Labmagen. Auffallend war die außerordentlich geringe Kolonienzahl. Die A-Platte war von einigen Kokken und *Megatherium*-Kolonien verflüssigt, die B-Platte enthielt nur 1 Kokkenkolonie, während die C-Platte steril geblieben war. Auch nach einer Woche war dieses Verhältnis nicht geändert, ein Beleg dafür, wie leicht bei Anwendung von Gelatineplatten selbst die gewöhnlichen Milchsäurebakterien sich dem Nachweis entziehen können.

Die Kulturen i. h. Schicht waren stark getrübt, ohne eine Gasbildung aufzuweisen. Alle untersuchten Kolonien der B- und C-Kultur zeigten ohne Ausnahme typische *Güntheri*-Stäbchen.

c) **Dünndarm.** Die A-Platte war ganz verflüssigt von einigen wenigen Megatherium- und Mesentericus-Kolonien. Die B-Platte zeigte nur eine verflüssigte Megatherium-Kolonie und daneben 2 typische Coli-Kolonien. Auch auf der A-Platte lassen sich trotz der Verflüssigung einige Coli-Kolonien nachweisen. Die Zahl war nicht genau zu bestimmen; ungefähr 2000 Keime pro 1 g Substanz.

Die Kulturen i. h. Schicht sind durch Gasbildung stark zerrissen. In der C-Kultur lassen sich denn auch neben vorherrschend Güntheri-Kolonien solche von unbeweglichen Vertretern der Coli-Gruppe nachweisen.

d) **Mastdarm.** Auch hier war die sehr kleine Kolonienzahl auf den Gelatineplatten auffallend. Die A-Platte war ganz verflüssigt von Megatherium und Mesentericus, die B-Platte zählte 3 verflüssigte Megatherium, die C-Platte war steril.

In den anaëroben Kulturen war keine Spur von Gas gebildet, dagegen waren das A- und B-Röhrchen stark getrübt von der gebildeten Säure. Es ließen sich in der C-Kultur ausschließlich große und kleine Güntheri-Kolonien nachweisen.

## II. Ausgangsmaterialien pasteurisiert.

Die Agarplatten waren leider auch bei diesem Versuch zur Zeit der Untersuchung im Wachstum so weit vorgeschritten, daß sie weder zur Feststellung der Kolonienzahl noch zur Abimpfung einzelner Kolonien zu gebrauchen waren.

a) **Pansen.** In der A-Kultur h. Sch. war eine ziemlich kräftige Gasbildung eingetreten und es ließen sich 2 Pektinvergärer isolieren. Die B-Kultur zeigte nur in den oberen Schichten einige wenige Megatherium- und Kartoffelbacillenkolonien. Die C-Kultur enthielt eine Kolonie von Pektinvergärer-ähnlichen Stäbchen, die aber bei Abimpfung auf den spezifischen Nährboden zwar kräftiges Wachstum, aber keine Gasbildung zeigten.

b) **Labmagen.** Im A- und B-Röhrchen ziemlich viel Gas, in C kein solches. Neben den Bodenbakterien konnte hier ein Stäbchen isoliert werden, das sich bei näherer Prüfung als wirklicher Pektinvergärer erwies.

c) **Dünndarm.** Neben Bodenbakterien waren in A 3 Pektinvergärer-ähnliche Kolonien nachzuweisen. Von diesen ließen sich 2 als echte Pektinvergärer erkennen, die dritte dagegen vermochte auf dem spezifischen Nährboden kein Gas zu bilden.

d) **Mastdarm.** Die A- und B-Kultur ließen beim Eröffnen einen starken Buttersäuregeruch erkennen und waren trotz der nur geringen Kolonienzahl durch Gas vollständig zerrissen. Aus dem Kondenswasser gelang es dann nach einigen mißlungenen Versuchen, den obligat anaëroben beweglichen Buttersäurebacillus zu isolieren. Neben diesen letztgenannten Bacillen waren einige Bodeubakterien und Pektinvergärer-ähnliche Stäbchen, die aber keine Gasbildung hervorrufen konnten, in der A- und B-Kultur nachweisbar.

Im Pansen und Labmagen neben viel Kokken im ersteren und wenig Bodenbakterien im letzteren sind es wieder die Güntheri, welche im Vordergrund stehen. Im Dünndarm machen sich neben wenig Güntheri viele Coli bemerkbar. Die Reduktion der Keimzahl im Labmagen und Dünndarm und die nachfolgende Zunahme im Mastdarm geht aus der Tabelle deutlich hervor. Auffallend ist ferner die geringe und sich fast gleichbleibende Zahl der Sporen in den verschiedenen Darmabteilungen, was nicht für die Annahme einer Vermehrung der Sporenbildner spricht. Zuletzt mag die Isolierung eines weiteren obligaten Anaëroben aus dem Mastdarm durch direkte Isolierung aus der Kultur in hoher Schicht unter Verwendung pasteurisierten Aussaatmaterials hervorgehoben sein.

## Versuch VII.

### A. Vorläufige Prüfung.

**Panseninhalt.** Reaktion alkalisch. Geruch nach Kuhstall. Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalt.** Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz flüssig-breiiig.

**Dünndarminhalt.** Reaktion neutral bis schwach alkalisch. Geruchlos. Konsistenz dickflüssig.

**Mastdarminhalt.** Reaktion neutral. Schwacher Geruch nach Exkrementen. Konsistenz fest.

**Direkte mikroskopische Untersuchung.** Zu diesem Zwecke wurden wie bei dem ersten Versuch gefärbte Präparate angefertigt. (Färbung mit Methylviolet oder verdünntem Karbolfuchsin.)



a) Pansen. Massenhaft Bakterien, aber zum Teil verdeckt durch die vielen Futterpartikel. Deutliche typische Güntheri-Stäbchen zu 2 und in 4-gliedrigen Ketten sind in großer Menge zu sehen. Ferner lassen sich erkennen Kokken und Coli-ähnliche Kurzstäbchen; relativ sehr spärlich sind Langstäbchen.

b) Labmagen. Bezüglich der Quantität macht sich ein sehr bedeutender Unterschied gegenüber dem Pansenpräparat bemerkbar, indem hier nur relativ wenig Bakterien zu finden sind. Güntheri und Kurzstäbchen lassen sich mit Leichtigkeit erkennen, von Langstäbchen sind dagegen nur wenige vorhanden.

c) Dünndarm. Anscheinend recht wenig Bakterien, vereinzelt sind deutliche Kurzstäbchen zu sehen.

d) Mastdarm. Im Vergleich mit dem Pansenpräparat bedeutend viel weniger Bakterien, aber viel mehr als im Labmagen und Dünndarm; fast nur Kurzstäbchen lassen sich erkennen neben vereinzelt Güntheri.

### B. Quantitative bakteriologische Analyse<sup>9</sup> Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen		Labmagen		Dünndarm		Mastdarm	
	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
Gel.-Pl.	140000	—	22000	—	20000	—	300000	—
D. Agar h. Sch.	3000000	1450	25000	1800	80000	2400	700000	?
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl. Kokken	—	Coli oder Aërogenes	—	Coli oder Aërogenes	—	Coli oder Aërogenes	—
	Agar-Pl.	—	Boden- bakt.	—	Boden- bakt.	—	Boden- bakt.	—
	h. Sch. K. Güntheri	Boden- bakt.	Coli oder Aërogenes	Megath. + Pektin- vergärer	Coli oder Aërogenes	Megath. + Pektin- vergärer	Coli oder Aërogenes	Boden- bakt. ?

### C. Qualitative bakteriologische Analyse.

#### I. Ausgangsmaterialien nicht pasteurisiert.

a) Pansen. Die Gelatineplatten enthielten etwa 95 Proz. langsam verflüssigende Kokkenkolonien von verschiedener Farbe und Größe. Nach 4 Tagen bei 17° waren die Platten noch nicht stark verflüssigt. Ferner fanden sich zu etwa 2 bis 3 Proz. Coli-ähnliche Stäbchenkolonien (vielleicht Aërogenes) und nur einige wenige verflüssigte Megatherium-Kolonien.

Die Kulturen i. h. Schicht zeigten keine Gasbildung. Das C-Röhrchen wurde genau untersucht. Von den Kolonien ließen einige typische Güntheri-Stäbchen erkennen, andere dagegen und zwar die Großzahl enthielten scheinbar krankhafte Stäbchen, die manchmal der Kokkenform so nahe kamen, daß eine sichere Entscheidung unmöglich war. Deshalb wurden viele Abimpfungen auf Milch vorgenommen, die aber alle mit nur einer Ausnahme erfolglos waren. Selbst nach 72 Stunden bei 30° war die Milch nicht zum Gerinnen gebracht. Immerhin scheint uns die Annahme, daß wir es hier mit abgeschwächten degenerierten Milchsäurebakterien zu tun haben, nicht unberechtigt, und gewisse andere Gründe weisen uns darauf hin, diese zweifelhaften Stäbchen einstweilen doch der Milchsäurebakteriengruppe zuzuweisen.

b) Labmagen. Die Platten enthielten keine oder doch nur wenige Kokkenkolonien. Vorherrschend sind Kolonien von kurzen, dicken, an den Enden abgerundeten, unbeweglichen Stäbchen, welche stark an Aërogenes erinnerten. Auch einige wenige verflüssigte Megatherium- und Mesentericus-Kolonien ließen sich leicht erkennen.

Die Kulturen i. h. Schicht wiesen eine starke Gasbildung auf. Die Röhrchen zeigten weniger Kolonien als die entsprechenden anaëroben Kulturen des Labmagens. Es ließen sich fast ausschließlich kleine, kurze, unbewegliche Coli-ähnliche Stäbchen nachweisen, die ohne Zweifel als Vertreter der Coli-Gruppe betrachtet werden dürfen. Güntheri-Kolonien kamen nur vereinzelt vor.

c) Dünndarm. Von den Gelatineplatten war die A-Platte verflüssigt durch die Erdbakterien. Die B-Platte dagegen ließ fast eine Reinkultur von den obengenannten Coli-ähnlichen Kurzstäbchen sehen. Nur 1 verflüssigte Tumescens- und 2 verflüssigte Megatherium-Kolonien ließen sich leicht erkennen. Die Kulturen i. h. Schicht zeigten das gleiche Verhalten wie die vom Labmagen, nur war hier wegen der größeren Zahl der Kolonien die Gasbildung noch kräftiger. Es waren nur Kolonien von Angehörigen der Coli-Gruppe aufzufinden.

d) **Mastdarm.** Die Gelatineplatten waren dicht besetzt von Coli-ähnlichen Oberflächen- und Tiefenkolonien. Manchmal erinnerten die Oberflächenkolonien mehr an *Aërogenes*, manchmal aber wieder mehr an Coli, offenbar waren die beiden Bakterienarten nebeneinander vertreten. Verflüssigende Kolonien waren nur sehr wenige vorhanden.

Auch in den anaëroben Kulturen war die Gasbildung eine ganz energische und dementsprechend ließen sich fast ausschließlich die Coli- oder *Aërogenes*-Kolonien nachweisen.

## II. Ausgangsmaterialien pasteurisiert.

a) **Pansen.** Die Agarplatten zeigten auffallend wenig Kolonien, so zählte z. B. die A-Platte bloß 4, die B-Platte bloß 1 Kolonie. Von den 4 Kolonien der A-Platte waren 2 Kartoffelbacillen, 1 ein aërobes *Clostridium* und 1 *Megatherium*. Die Clostridien wurden auf den Pektinvergärrnährboden geimpft, konnten aber keine Gasbildung hervorrufen. Die Kolonie der B-Platte war eine Kartoffelbacillenkolonie.

Von den Kulturen i. h. Schicht zeigten nur das A- und B-Röhrchen je 1 Kolonie, welche sich als *Megatherium* und *Mycoides* erkennen ließen.

b) **Labmagen.** Die Agarplatten enthielten fast nur *Megatherium*-Kolonien. Vereinzelt *Mesentericus* kamen daneben vor. Auf der B-Platte war ebenfalls eine Clostridienkolonie, welche nicht näher verfolgt wurde. Daß es kein Pektinvergärer war, war mit Rücksicht auf den obigen Befund anzunehmen. Die Kulturen i. h. Schicht ließen aus dem A-Röhrchen 2 schön bewegliche Stäbchen vom Typus der Pektinvergärer isolieren, die sich dann auch durch eine prompte und stürmische Gasbildung in dem betreffenden Nährboden auszeichneten. Es kamen ferner einige wenige Bodenbakterienkolonien vor.

c) **Dünndarm.** Die Platten waren etwas dichter besetzt als die vom Labmagen; Bodenbakterien spielten die Hauptrolle.

Auch hier konnten wir aus den Kulturen i. h. Schicht 3 Pektinvergärerkolonien mit positivem Erfolg isolieren. In den oberen Schichten der Agarmasse konnte *Megatherium* nachgewiesen werden.

d) **Mastdarm.** Die Platten zeigten neben anderen Erdbakterienkolonien Kolonien des früher genannten, unbeweglichen, Sporen bildenden Langstäbchens. Die Zahl der Kolonien auf den Platten war eine relativ geringe und überstieg die der Dünndarmplatten nicht erheblich. Ueberhaupt ließen die Agarplatten zwar eine höhere, aber nicht bedeutend höhere Keimzahl pro 1 g Substanz berechnen, als die Kulturen i. h. Schicht.

Die anaëroben Kulturen konnten nicht berücksichtigt werden, da sie von einem *Streptococcus* verunreinigt waren. Es scheint die Pasteurisierung nicht auf alle Teile des der höheren Temperatur ausgesetzten Materials in genügender Weise eingewirkt zu haben.

Zunächst ist bei diesem Versuch auffallend das starke Vorherrschen der Vertreter der Coli-Gruppe im Labmagen, Dünndarm und Mastdarm. Nur im Pansen bleibt die Flora der Tradition getreu, indem sich hier eine Entwicklung der Milchsäurebakterien in erster Linie geltend macht. Auch die starke Reduktion der Keimzahl vom Pansen zum Labmagen ist scharf ausgeprägt. Dagegen weist der Dünndarm in diesem Falle eine höhere Keimzahl auf als der Labmagen. Daß im Mastdarm wieder eine starke Zunahme der Bakterien eintritt, ist aus der Tabelle zu entnehmen. Das Verhältnis der Sporen zu den vegetativen Sporen ist im Pansen am weitesten, ihm folgen Mastdarm, Dünndarm und Labmagen. Bemerkenswert dürfte auch die mehrfache Isolierung von pektinvergärenden Bakterien aus pasteurisierten Materialien dieses Versuches sein.

## Versuch VIII.

Das Versuchstier war seit längerer Zeit ausschließlich mit Gras gefüttert worden. Der vorliegende Versuch ist überhaupt der einzige, der unbeeinflusst durch Heufütterung durchgeführt werden konnte.

### A. Vorläufige Prüfung.

**Panseninhalt.** Farbe chlorophyllgrün. Geruch nach Erbrochenem. Reaktion alkalisch. Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalt.** Farbe hellbraun. Eigentümlicher, schwer zu definierender Geruch. Reaktion stark sauer. Konsistenz flüssig.

Dünndarminhalt. Farbe grüngelb. Geruchlos. Reaktion schwach sauer. Konsistenz breiig.

Mastdarminhalt. Farbe dunkelgrün. Geruch nach Exkrementen. Reaktion schwach alkalisch. Konsistenz fest.

B. Quantitative bakteriologische Analyse.  
Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen		Labmagen		Dünndarm		Mastdarm	
	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
Gelatineplatten	200 000	—	90 000	—	20 000	—	800 000	—
D.-Agar h. Sch.	15 000 000	1200	400 000	800	250 000	1000	750 000	12 500
Agarplatten	—	1800	—	1500	—	1300	—	19 000
Vorherrschende Bakterienarten	Gelatineplatten	Kokken + andere	Coli + kokkenähn. Güntheri	—	Coli	—	—	—
	Agarplatten	—	Bodenbakt.	Mesenter. + andere	—	Mesenter. ruber + andere	—	Bodenbakt.
	h. Sch. K.	Güntheri	Mycoides + andere	Güntheri	lange, Fäden bildende Bakterien	Güntheri	Pseudopektinvergärer + andere	Coli + Güntheri

C. Qualitative bakteriologische Analyse.

I. Ausgangsmaterialien nicht pasteurisiert.

a) Pansen. Die Platten enthielten eine sehr gemischte Bakterienflora bei allerdings entschiedenem Vorherrschen von verflüssigten und nicht verflüssigten Kokkenkolonien. Ferner ließen sich einige Fluorescens-, bewegliche und unbewegliche, Coli-ähnliche Kurzstäbchen, Megatherium-, Mesentericus- und Tumescens-Kolonien, nachweisen, die letzteren auf der B- und C-Platte allerdings nur in geringer Zahl. Ungefähr 85—90 Proz. waren Kokkenkolonien. Die Kulturen i. h. Schicht waren stark getrübt, aber zeigten kein Gas. Alle untersuchten Kolonien der C- und B-Kultur zeigten Güntheri-ähnliche, aber stark der Kokkenform ähnelnde Kurzstäbchen. Es wurden deshalb viele Abimpfungen auf Milch und Molkenagarstich gemacht. Einige der Milchkulturen zeigten schon nach 30 Stunden die typische Güntheri-Milchgerinnung, andere dagegen hatten die Milch nach 14 Tagen noch scheinbar unverändert gelassen. Sie hatten aber doch ein gewisses Quantum Säure gebildet, wie sich aus den vorgenommenen Titrierungen ergab. In einem späteren Abschnitte sollen die Ergebnisse dieser und anderer Säurebestimmungen übersichtlich zusammengefaßt werden. Wir glauben es bei diesen Fällen mangelhafter Milchgerinnung, wie bei einem früheren Versuch, mit degenerierten Güntheri zu tun zu haben.

b) Labmagen. Die A-Platte enthielt 80 Kolonien, die vorwiegend aus Coliartigen Stäbchen mit und ohne Bewegung bestanden; daneben machten sich kleinere, punktförmige Kolonien von kokkenähnlichen Kurzstäbchen (vielleicht Güntheri) bemerkbar, die aber in Zahl stark zurücktraten; so waren z. B. von den 9 Kolonien der B-Platte bloß 2 kokkenähnliche und 7 Coli-Kolonien. Die Kulturen in hoher Schicht zeigten keine Gasbildung. Alle untersuchten Kolonien zeigten zum Teil typische Güntheri-, zum Teil, wie im Pansen, kokkenähnliche Stäbchen. Die Kolonien sahen äußerlich sehr gleichartig aus.

c) Dünndarm. Die A-Platte zählt 15 Kolonien, wovon 10 der Coli-Gruppe angehören. Die anderen sind Megatherium-, Mycoides- und nicht näher bestimmbare Kolonien.

Auch hier fehlte in allen 3 Kulturen die Gasbildung fast vollständig und die Röhrcen ergaben, wie beim Labmagen, ein sehr gleichmäßiges Bild von Güntheri-Kolonien. Soweit dieselben untersucht wurden, ließen sie aber ohne Ausnahme ganz typische gesunde Güntheri-Stäbchen erkennen, die schon nach 24 Stunden bei 30° C die geimpften Milchproben zum Gerinnen brachten. Die wenigen Gasbläschen in der A- und B-Kultur waren auf die Tätigkeit von anscheinend nur vereinzelt vorhandenen Coli-Kolonien zurückzuführen.

d) Mastdarm. Die Platten waren auffallend dicht besetzt mit verflüssigenden und nicht verflüssigenden Kokkenkolonien. Daneben waren die Coli-Kolonien

recht häufig, manchmal bewegliche, manchmal aber auch unbewegliche Stäbchen zeigend.

Auch die Bodenbakterienkolonien kamen vor, aber gegenüber den anderen relativ selten.

Die A- und B-Röhrchen der anaëroben Kulturen ließen eine stark zerrissene Agar-masse sehen, die C-Kultur dagegen nicht. Allerdings enthielt diese nur 5 Kolonien, von denen 2 Coli und 2 Güntheri angehörten. B zählte 40 Kolonien, wovon die Großzahl bewegliche und unbewegliche Stäbchen der Coli-Gruppe nachweisen ließen, während die Minderzahl von Güntheri- und anderen Kolonien gebildet wurde.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal.

### Acidophile Bakterien.

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

Von **S. S. Mereshkowsky.**

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

Der in die Bouillon (gewöhnlich mit 0,5—1 Proz. Essigsäure) von jeder Faecesprobe entnommene Teil entsprach seinem Volumen nach etwa 0,25—0,5 ccm, da ein geringeres Quantum der Probe gewöhnlich in den Plattenkulturen entweder nur sehr wenige Kolonien, oder gar keine Entwicklung derselben ergab. Die Bouillon mit der Faecesprobe kam auf 1—3 Tage in den Brutschrank bei 37,5° C, um nach Verlauf dieser Zeit zur Anstellung von Plattenkulturen auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker verwandt zu werden. Nach 4—6-tägigem Aufenthalte bei 37,5° C unter anaëroben Bedingungen entwickelten sich in den Plattenkulturen schon genügend große Kolonien, welche dann mikroskopisch untersucht wurden. In der Mehrzahl der Fälle entwickelten sich in den Kulturen ausschließlich Kolonien acidophiler Bakterien, gewöhnlich beider beschriebener Typen, von welchen dann Abimpfungen aus nur 2—3 Kolonien eines jeden Typus auf 2 Proz. Traubenzucker enthaltenden Agar gemacht wurden, um festzustellen, ob die charakteristische Trübung desselben eintritt. In den Abimpfungen aus den Kolonien des I. Typus trat die Trübung des Agars meist am 5.—8. Tage ein, in denjenigen des II. Typus am 7.—12. Tage. Aus denselben Kulturen wurden, nach deren genügender Entwicklung, Strichpräparate angefertigt, nach Gram gefärbt und mikroskopisch untersucht, um festzustellen, ob die ausgeschiedenen Stäbchen nach dieser Methode färbbar sind oder nicht.

In dem Falle, wo sich in den Plattenkulturen nicht die typischen, oder aus irgend einem Grunde verdächtige Kolonien zeigten, wurden von denselben auch Abimpfungen veranstaltet zum Zweck einer genaueren Charakterisierung des Mikroorganismus und seiner Eigenschaften. Gewöhnlich gehörten diese Kolonien Kokken oder hefeartigen Zellen an (die letzteren waren am häufigsten dann zu beobachten, wenn die Bouillon Milchsäure enthielt, aber nicht Essigsäure). In besonderen Fällen, wenn die Plattenkulturen aus den Faeces ohne Durchführung derselben durch

Bouillon mit Säure angestellt wurden, konnte man auch verschiedene Kolonien nach Gram nicht färbbarer Stäbchen beobachten, während die färbbaren Stäbchen nur die für acidophile Bakterien typischen Kolonien bildeten, und alle diesen Bakterien eigenen Merkmale aufwiesen.

Die Frage über die Verbreitung der acidophilen Bakterien beim Menschen bearbeitete Podgajezky. Er untersuchte die Faeces neugeborener Kinder, welche entweder nur mit Brust, oder nur mit sterilisierter Kuhmilch, oder aber gleichzeitig mit Brust und sterilisierter Kuhmilch genährt wurden, außerdem Faeces eines 10-jährigen Mädchens und eines 34-jährigen Mannes. Der Darm war in allen diesen Fällen vollständig normal.

Die von Podgajezky gewonnenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle 1. Resultate der Untersuchung menschlicher Faeces.

No. der Beobachtungen	Herkunft der Faeces	Ernährung	Bei Untersuchung der Strichpräparate aus d. Faeces waren an nach Gram gefärbten oder ungefärbten Stäbchen vorhanden: viel ++; wenig +; keine 0		In den Plattenkulturen aus den Faeces waren viel ++; wenig +; keine 0	
			gefärbte Stäbchen	ungefärbte Stäbchen	Kolonien des Typus I	Kolonien des Typus II
1	Mädchen, 1 Monat alt	Brust	++	++	++	++
2	" 1 " "	"	++	+	+	++
3	Knabe 2 $\frac{1}{2}$ " "	Sterilisierter Kuhmilch	++	+	0	++
4	Mädchen, 3 " "	" "	++	+	0	++
5	Knabe 5 " "	" "	++	++	++	0
6	Nicht ausgetragenes Kind, 3-monatl. Knabe	Zuerst nur steril. Kuhmilch, dann auch Brust	++	+	+	++
7	Mädchen, 10 Jahre alt	Gewöhnliche Nahrung	++	++	++	0
8	Mann, 34 " "	" "	+	1)	++	++

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß in den menschlichen Faeces sowohl der *B. acidophilus* No. 1, als auch der *B. acidophilus* No. 2 unabhängig vom Alter und der Nahrungsweise vorkommt.

Die von O braszow angestellten Untersuchungen der Tierfaeces ergeben folgende Resultate (s Tabelle 2).

Bei Durchsicht der Tabelle 2 sehen wir, daß die nach Gram färbbaren Stäbchen sich in den Strichpräparaten aus dem Darminhalte der überwiegenden Mehrzahl der Tiere vorfinden. Dieselben fehlten nur beim Zander, beim Wels und dem Regenwurm (Beobachtung No. 46, No. 53 und No. 56).

Die Plattenkulturen ergaben acidophile Bakterien bei allen Vertretern der Säugetiere, Vögel, Reptilien, beim Frosch, der Mehrzahl der Fische, beim Krebse, der Küchenschabe, dem Regenwurm und der Schnecke.

In den Plattenkulturen aus den Faeces des Zanders, des Goldfisches, des Welses und des Axolotls kamen keine Kolonien acidophiler Bakterien zur Entwicklung.

Das Fehlen der nach Gram färbbaren Stäbchen in den Strichpräparaten aus dem Darminhalte des Zanders und des Welses erklärt sich damit,

1) In den Protokollen ist über die ungefärbten Stäbchen gar nichts erwähnt; über die Anzahl der gefärbten aber kann man sich auch kein klares Bild machen.

Tabelle 2. Resultate der Untersuchung tierischer Faeces.

No. der Beobachtungen	Welchem Tiere die Faeces entnommen waren	Nahrungsweise	Bei Untersuchung der Strichpräparate aus d. Faeces waren an n. Gram gefärbten od. ungefärbten Stäbchen vorhanden: viel ++; wenig +; keine 0		In den Plattenkulturen aus den Faeces waren viel ++; wenig +; keine 0	
			gefärbte Stäbchen	ungefärbte Stäbchen	Kolonien des Typus I	Kolonien des Typus II
Affen.						
1	Dschelada ( <i>Cynocephalus gelada</i> )	Pflanzennahrung	++	+	+	++
2	Pavian ( <i>Cynocephalus sphinx</i> )	„	++	+	++	++
3	Mantelpavian ( <i>Cynocephalus hamadryas</i> )	„	++	++	++	++
4	Mona ( <i>Cercopithecus mona</i> )	„	++	++	++	++
5	Makak ( <i>Macacus rhesus</i> )	„	++	+	++	+
6	Seidenäffchen ( <i>Hapale jacchus</i> )	„	+	0 <sup>1)</sup>	+	+
Nagetiere.						
7	Weißes Hausmaus ( <i>Mus musculus</i> )	„	++	++	+	++
8	Zieselmaus ( <i>Spermophilus citillus</i> )	„	+	+ <sup>2)</sup>	0	+
9	Kaninchen ( <i>Lepus cuniculus</i> )	„	+	++	++	0
10	Meerschweinchen ( <i>Cavia cobaya</i> )	„	++	++	+	++
Insektenfressende.						
11	Igel ( <i>Erinaceus europaeus</i> )	Fleisch	++	<sup>3)</sup>	++	++
Raubtiere.						
12	Lippenbär ( <i>Ursus labiatus</i> )	Milch u. Weißbrot	++	+	+	++
13	Dachs ( <i>Meles taxus</i> )	Fleisch	++	<sup>3)</sup>	++	++
14	Afrikan. Zibethkatze ( <i>Viverra civetta</i> )	„	++	+	0	++
15	Hund ( <i>Canis familiaris</i> )	Fleisch u. Hafergrütze	+	++	++	++
16	Gestreifte Hyäne ( <i>Hyaena striata</i> )	Fleisch	++	<sup>3)</sup>	++	++
17	Löwe ( <i>Felis leo barbatus</i> ), 10 Monate alt	„	+	<sup>3)</sup>	+	+
17 bis	„ „ „ ausgewachsen	„	++	+	++	++
18	Leopard ( <i>Felis leopardus</i> )	„	++	+	0	++
19	Katze ( <i>Felis catus domestica</i> )	„	++	++	++	++
Wiederkäuer.						
20	Bison ( <i>Bos bison</i> Gmel.)	Heu	+	<sup>4)</sup>	0	+
21	Büffel ( <i>Bos bubalus</i> )	„	+	++ <sup>2)</sup>	++	++
22	Schaf ( <i>Ovis aries</i> )	Heu und Brot	+	++ <sup>2)</sup>	++	++
23	Ziege ( <i>Capra hircus</i> )	„ „ „	++	+	++	++
24	Damhirsch ( <i>Cervus dama</i> )	„ „ „	+	<sup>4)</sup>	0	+
25	Wapiti ( <i>Cervus canadensis</i> )	Heu	+	<sup>4)</sup>	+	++
26	Lama ( <i>Auchenia Llama</i> )	„	+	<sup>4)</sup>	0	++
27	Kamel ( <i>Camelus bactrianus</i> )	„	+	<sup>4)</sup>	+	++
28	Ochs ( <i>Bos taurus</i> ) — Kalb	Milch und Heu	++	<sup>3)</sup>	++	++
Einhufige.						
29	Pferd ( <i>Equus caballus</i> )	Heu und Hafer	+	+	0	+
29 bis	„ „ „	„ „ „	+	+	+	+
Vielhufige.						
30	Nabelschwein ( <i>Dicotyles torquatus</i> )	Gemüse und Brot	+	++	+	+
31	Nilpferd ( <i>Hippopotamus amphibius</i> )	Heu	+	+	+	+
32	Elefant ( <i>Elephas africanus</i> )	Heu und Brot	+	+	+	++
Beuteltiere.						
33	Wombat ( <i>Phascolomys wombat</i> )	Pflanzennahrung	+	+	+	+

No. der Beobachtungen	Welchem Tiere die Faeces entnommen waren	Nahrungsweise	Bei Untersuchung der Strichpräparate aus d. Faeces waren an n. Gram gefärbten od. ungefärbten Stäbchen vorhanden: viel ++; wenig +; keine 0		In den Plattenkulturen aus den Faeces waren viel ++; wenig +; keine 0	
			gefärbte Stäbchen	ungefärbte Stäbchen	Kolonien des Typus I	Kolonien des Typus II
<b>Vögel.</b>						
34	Strauß ( <i>Struthio camelus</i> )	Heu	+	++	0	+
35	Arara macao ( <i>Psittacus ambiguus</i> )	Weißes Brot	++	+	++	++
36	Felsentaube ( <i>Columba livia</i> )	Grütze	++	++	+	++
37	Huhn ( <i>Gallus domesticus</i> )	"	+	+	0	0
37 bis	"	"	+	+	++	++
38	Sperling ( <i>Passer domesticus</i> )	"	++	<sup>3)</sup>	++	++
<b>Reptilien.</b>						
39	Schildkröte ( <i>Testudo graeca</i> )	Fleisch	+	+	+	+
40	Krokodil ( <i>Crocodylus acutus</i> )	Fleisch u. kl. Tiere	+	+	++	++
41	Abgottschlange ( <i>Boa constrictor</i> )	Kleine Tiere	+	+	+	+
<b>Amphibien.</b>						
42	Frosch ( <i>Rana temporaria</i> )		++	++	++	++
43	Axolotl ( <i>Amblystoma mexicanum</i> )		++	<sup>3)</sup>	0	0
<b>Fische.</b>						
44	Barsch ( <i>Perca fluviatilis</i> )		0	+ <sup>2)</sup>	0	0
44 bis	"		+	+	0	+
45	Kaulbarsch ( <i>Acerina vulgaris</i> )		+	+	0	+
46	Zander ( <i>Lucioperca sandra</i> )		0	<sup>3)</sup>	0	0
47	Quappe ( <i>Lota vulgaris</i> )		+	+ <sup>2)</sup>	+	0
48	Karausehe ( <i>Cyprinus carassius</i> )		+	+ <sup>2)</sup>	0	++
49	Schnäpel ( <i>Coregonus oxyrhynchus</i> )		++	++	+	++
50	Hecht ( <i>Esox lucius</i> )		++	++	0	++
51	Bachforelle ( <i>Salmo fario</i> )		++	++	0	++
52	Goldfisch ( <i>Cyprinus auratus</i> )		++	+	0	0
53	Wels ( <i>Silurus glanis</i> ) — junger		0	<sup>3)</sup>	0	0
<b>Krebsartige.</b>						
54	Flußkrebs ( <i>Astacus fluviatilis</i> )		+	<sup>3)</sup>	++	++
<b>Insekten.</b>						
55	Küchenschabe ( <i>Periplaneta orientalis</i> )		0	<sup>3)</sup>	0	0
55 bis	" " "		+	<sup>3)</sup>	+	0
55 tries	" " "		<sup>5)</sup>		++	+
<b>Würmer.</b>						
56	Regenwurm ( <i>Lumbricus agricola</i> )		0	<sup>3)</sup>	+	0
<b>Mollusken.</b>						
57	Schnecke ( <i>Helix arbustorum</i> )		+	+	+	+

1) Sehr geringe Anzahl von Mikroorganismen; gut gefärbte Stäbchen und ungefärbte Kokken.

2) In den Strichpräparaten sind nur sehr wenige Mikroorganismen.

3) Ueber die ungefärbten Stäbchen ist in den Protokollen nichts erwähnt.

4) Sehr geringe Anzahl von Mikroorganismen; über ungefärbte Stäbchen sind in den Protokollen keine Angaben enthalten.

5) Ueber das mikroskopische Bild der Strichpräparate ist in den Protokollen nichts erwähnt.

daß die betreffenden Untersuchungen im Spätherbst stattfanden, zu welcher Zeit diese Tiere sich im Hungerzustande befanden. Die Plattenkulturen aus dem Darminhalte dieser Fische blieben steril. Beim Regenwurm, der auch spät im Herbst untersucht wurde und in dessen Strichpräparaten gleichfalls keine nach Gram färbbare Stäbchen aufzufinden waren, entwickelten sich dessenungeachtet in den Plattenkulturen acidophile Bakterien.

Bei dem Axolotl und dem Goldfische (Beobachtung No. 43 und No. 52) ist gerade das Gegenteil zu beobachten. In den Strichpräparaten aus dem Darminhalte waren viele nach Gram färbbare Stäbchen vorhanden, während die Plattenkulturen sich als steril erwiesen. Es ist leicht möglich, daß in diesen Fällen das Fehlen acidophiler Bakterien in den Plattenkulturen davon abhing, daß zur Untersuchung sehr kleine Exemplare benutzt wurden, bei denen der Darmkanal infolge seiner unbedeutenden Länge einen zu geringen Inhalt hatte, und unter solchen Bedingungen ist es, wie der Versuch es bewiesen hat, leicht, einen Mißerfolg zu erzielen. So z. B. gelang es bei der Untersuchung eines Huhnes (Beobachtung No. 37) das erste Mal, mit Hilfe des Rodellschen Röhrchens, nur eine sehr geringe Menge von Exkrementen zu bekommen; in den aus denselben angefertigten Strichpräparaten fanden sich nach Gram färbbare Stäbchen, die Plattenkulturen aber blieben steril. Bei wiederholten Untersuchungen gelang es, mehr Material zu sammeln, und die Plattenkulturen ergaben positive Resultate. Dasselbe war bei der Untersuchung von Barschen der Fall (Beobachtung No. 44); obgleich diese bei hungernden Exemplaren angestellt wurden, blieben bei einem von ihnen die Plattenkulturen aus dem Darminhalte steril, während sie bei dem anderen das Vorhandensein acidophiler Bakterien ergaben. Eine analoge Erscheinung läßt sich auch bei der Untersuchung der Küchenschabe konstatieren (Beobachtung No. 55). Es ist daher leicht möglich, daß es Oblaszow bei wiederholten Versuchen gelungen wäre, acidophile Bakterien bei denjenigen Tieren zu konstatieren, bei denen sie infolge der oben angeführten Gründe bei einmaliger Untersuchung nicht gefunden wurden<sup>1)</sup>.

Beim Vergleichen der beiden rechten Kolonnen der Tabelle II finden wir, daß in den Plattenkulturen aus Faeces der Mehrzahl der Tiere die Kolonien des II. Typus vor denen des I. vorherrschen; bei einigen Tieren, z. B. der afrikanischen Zibethkatze (Beobachtung No. 14), beim Leopard (Beobachtung No. 18), beim Pferde (Beobachtung No. 29) und anderen entwickelten sich die Kolonien des Typus I überhaupt nicht.

Da diese Plattenkulturen nicht unmittelbar aus den Faeces angestellt wurden, sondern erst nach Durchführung derselben durch Bouillon mit 0,5-proz. Essigsäure, konnte das Vorherrschen der Kolonien des einen Typus denen des anderen gegenüber als Resultat einer ungleichen Einwirkung der Bouillon mit Säure auf beide Arten acidophiler Bakterien angesehen werden. Gegen diese Annahme sprechen jedoch nachstehende Versuche Bjeloussows. Er übertrug in die Probierröhrchen mit Bouillon, zu welcher verschiedene Mengen Essig- und Milchsäure hinzugefügt waren, eine bestimmte Anzahl Oesen reiner Kulturen des *B. acidophilus* No. 1 und *B. acidophilus* No. 2 und stellte sie darauf, wie es auch bei der

1) Auf meinen Vorschlag hin übernahm es Herr N. P. Petrow, die Untersuchung des Darminhaltes bei denjenigen Tieren zu wiederholen, bei denen Dr. Oblaszow keine acidophilen Bakterien fand. Die Arbeit Herrn N. P. Petrows ist eben abgeschlossen und wird bald im Druck erscheinen; bei allen diesen Tieren gelang es ihm, die acidophilen Bakterien auszuscheiden.



Durchführung der Faeces durch Bouillon mit Säure geschah, bei 37,5° C und Luftabschluß. Täglich wurden aus den Probierröhrchen Abimpfungen auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker gemacht und so die Lebensfähigkeit der Kulturen bestimmt.

Die Resultate dieser Untersuchungen waren folgende:

Tabelle 3. Erhaltung der Lebensfähigkeit der acidophilen Bakterien in Bouillon mit Säure.

Proz. Gehalt der Säure in Bouillon	Nach wieviel Tagen das Absterben eintrat			
	in Essigsäure		in Milchsäure	
	des <i>B. acidophilus</i>			
	No. 1	No. 2	No. 1	No. 2
0,25	59	49	42	31
0,5	55	46	34	26
0,75	52	38	29	18
1	30	19	21	12

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß bei andauerndem Aufenthalte in Bouillon mit Säure der *B. acidophilus* No. 2 dem *B. acidophilus* No. 1 gegenüber etwa um 10 Tage früher zu Grunde ging. Da aber bei den Untersuchungen Oblaszows die Faecesproben vor Anstellung der Plattenkulturen nur auf 1—2 Tage in Bouillon mit 0,5-proz. Essigsäure kamen, so ist es sogar möglich, daß die acidophilen Bakterien nicht den geringsten Schaden davon erlitten haben, jedoch wenn man auch annehmen sollte, daß die saure Bouillon auf diese Bakterien einen schädlichen Einfluß ausgeübt habe, mußte dieser sich zuerst an dem *B. acidophilus* No. 2 geltend machen und eine Verminderung der Anzahl seiner Kolonien in den Plattenkulturen hervorrufen. Wie wir aber in der Tabelle II gesehen haben, wurde gerade umgekehrt ein Vorherrschen der Kolonien des Typus II beobachtet. Hieraus können wir mit Recht annehmen, daß auch in dem Darne der meisten Tiere der *B. acidophilus* No. 2 dem *B. acidophilus* No. 1 gegenüber vorwaltet.

Die Abwesenheit der Kolonien des einen Typus in den Plattenkulturen aus Faeces einiger Tiere, wie z. B. der afrikanischen Zibethkatze, des Leoparden, des Pferdes u. a., wo sich die Kolonien des I. Typus gar nicht entwickelt hatten, kann noch nicht als Beweis dafür dienen, daß in dem Darne dieser Tiere die betreffenden acidophilen Bakterien überhaupt fehlten. Sehr leicht ist es möglich, daß diese Bakterien daselbst wirklich vorhanden waren, aber in sehr geringer Menge, und man hätte sie eventuell auch entdecken können, jedoch erst nach mehrmals wiederholten Versuchen, wie wir es z. B. bei der nochmaligen Anfertigung der Plattenkulturen aus den Pferdefaeces (Beobachtung No. 29) gesehen haben.

Aus der Zusammenstellung der von Oblaszow und Petrow bei der Untersuchung der Tierexkreme gewonnenen Resultate mit den von Podgaetzky bezüglich derselben Frage beim Menschen gesammelten Ergebnissen ist ersichtlich, daß die acidophilen Bakterien sich ohne Ausnahme in den Faeces aller untersuchten Repräsentanten der verschiedenartigsten Tierklassen vorfinden, angefangen mit den Mollusken und bis zum Menschen inklusive.

Aus der untenstehenden Tabelle, in welcher die von Oblaszow bei Untersuchung der Faeces neugeborener Hunde und einiger anderer Tiere erlangten Resultate verzeichnet sind, ersieht man, daß die acidophilen

Tabelle 4.  
Resultate der Untersuchung der Faeces der neugeborenen Kinder.

No. der Beobachtungen	Namen der Tiere	Zeit der Entnahme der Probe nach der Geburt	Bei Untersuchung der Strichpräparate aus den Faeces waren an nach Gram gefärbten oder ungefärbten Stäbchen vorhanden: viel ++; wenig +; keine 0		In den Plattenkulturen aus den Faeces waren viel ++; wenig +; keine 0	
			gefärbte Stäbchen	ungefärbte Stäbchen	Kolonien des Typus I	Kolonien des Typus II
1	Kätzchen No. 1	5 Stunden	0	0	0	0
2	Hündchen No. 1 (II) <sup>1)</sup>	6 "	0	0	0	0
3	" " 2 (II)	6 "	0	0	0	0
4	" " 3 (II)	6 "	0	0	0	0
5	" " 4 (II)	6 "	0	0	0	0
6	" " 5 (II)	6 "	0	0	0	0
7	" " 6 (II)	6 "	0	0	0	0
8	" " 7 (II)	6 "	0	0	0	0
9	" " 1 (I)	8 "	0	0	0	0
10	" " 2 (I)	8 "	0	0	0	0
11	" " 3 (I)	8 "	0	0	0	0
12	" " 4 (I)	8 "	0	0	0	0
13	Kätzchen No. 1	24 "	+	+	+	+ <sup>2)</sup>
14	Hündchen No. 1 (II)	24 "	++	+	+	++
15	" " 2 (II)	24 "	+	+	++	++
16	" " 3 (II)	24 "	+	+	++	++
17	" " 4 (II)	24 "	+	+	++	++
18	" " 5 (II)	24 "	+	+	0	+
19	" " 6 (II)	24 "	++	+	+	++
20	" " 7 (II)	24 "	+ <sup>3)</sup>	+	0	+
21	" " 1 (I)	24 "	+ <sup>3)</sup>	+	0	+
22	" " 2 (I)	24 "	++	++	+	++
23	" " 3 (I)	24 "	+ <sup>3)</sup>	+	0	+
24	" " 4 (I)	24 "	+	+	0	+
25	Kätzchen No. 1	48 "	++	++	++	+
26	Hündchen No. 1 (II)	48 "	++	+	0	++
27	" " 2 (II)	48 "	++	+	0	++
28	" " 3 (II)	48 "	++	++	+	++
29	" " 4 (II)	48 "	++	++	+	++
30	" " 5 (II)	48 "	++	++	+	++
31	" " 6 (II)	48 "	++	++	+	++
32	" " 7 (II)	48 "	+	+	0	++
33	" " 1 (I)	48 "	++	++	+	++
34	" " 2 (I)	48 "	++	++	0	++
35	" " 3 (I)	48 "	++	+	0	++
36	" " 4 (I)	48 "	++	++	0	++
37	" " 1 (II)	3 Tage	++	+	++	++
38	" " 2 (II)	3 "	++	++	+	++
39	" " 3 (II)	3 "	++	++	+	++
40	" " 4 (II)	3 "	++	+	0	+
41	" " 1 (I)	7 "	++	+	+	++
42	" " 2 (I)	7 "	++	+	++	++
43	Kätzchen No. 1	8 "	++	++	++	+

1) Die römische Zahl in Klammern bedeutet die No. der Hündin, von welcher der junge Hund abstammt. Einige dieser Hündchen wurden später für Verfütterungsversuche mit Milchkulturen der acidophilen Bakterien genommen, von denen weiter unten die Rede sein wird.

2) Eine kleine Anzahl Kolonien des Typus I und noch weniger Kolonien des Typus II.

3) Gefärbte und ungefärbte Stäbchen in sehr unbedeutender Anzahl.

No. der Beobachtungen.	Namen der Tiere	Zeit der Entnahme der Probe nach der Geburt	Bei Untersuchung der Strichpräparate aus den Faeces waren an nach Gram gefärbten oder ungefärbten Stäbchen vorhanden: viel ++; wenig +; keine 0		In den Plattenkulturen aus den Faeces waren viel ++; wenig +; keine 0	
			gefärbte Stäbchen	ungefärbte Stäbchen	Kolonien des Typus I	Kolonien des Typus II
44	Hündchen No. 5 (II)	11 Tage	++	+	++	++
45	" " 6 (II)	11 "	++	+	++	++
46	" " 7 (II)	11 "	++	+	++	++
47	" " 3 (I)	13 "	++	+	+	++
48	" " 4 (I)	13 "	++	+	0	++
49	" " 1 (I)	17 "	++	+	+	++
50	" " 2 (I)	17 "	++	+	0	++
51	" " 3 (I)	17 "	++	++	++	++
52	" " 4 (I)	17 "	++	+	++	++

Bakterien, wenigstens im Darne der Säugetiere, schon in den ersten Momenten der Bevölkerung desselben durch Mikroorganismen auftreten.

Bei Durchsicht der Tabelle finden wir, daß während der ersten Lebensstunden weder in den Strichpräparaten aus den Exkrementen neugeborener Tiere, noch in den Plattenkulturen (welche nach Durchführung der Faeces durch Bouillon mit Säure gemacht wurden) das Vorhandensein von Mikroorganismen zu bemerken ist. 24 Stunden nach der Geburt erscheinen sie schon, vorläufig aber in noch unbedeutender Anzahl; nach 48 Stunden vergrößert sich ihre Menge sehr beträchtlich, wobei wir in den Strichpräparaten annähernd die gleiche Anzahl der nach Gram färbbaren, wie auch der nicht färbbaren Stäbchen beobachten. In den folgenden Tagen nimmt zeitweilig die Zahl der nicht färbbaren Stäbchen ab, aber bei den normalen Ernährungsbedingungen verschwinden sie niemals gänzlich.

Die Betrachtung der bei der Untersuchung der Faeces mittels Plattenkulturen gewonnenen Resultate ergibt, daß, wenn auch nicht alle, so doch ein Teil der färbbaren Stäbchen, die in den Strichpräparaten sichtbar sind, den acidophilen Bakterien zugezählt werden müssen, deren Kolonien schon nach 24 Stunden nach der Geburt erscheinen, wenn auch in geringer Anzahl, welche nach weiteren 24 Stunden aber sich bedeutend vergrößert und annähernd die gleiche auch im Laufe der folgenden Tage bleibt.

Ein Vergleich dieser Beobachtungen mit den Resultaten der Faecesuntersuchungen bei erwachsenen Tieren zeigt uns, daß die acidophilen Bakterien schon zu Beginn der Bevölkerung des Darmes durch Mikroorganismen auftreten und bei gesunden Tieren das ganze Leben lang verbleiben.

Um der Lösung der Frage über die Bedeutung dieser Bakterien für den Tierorganismus näherzukommen, war es notwendig, klarzustellen, wie sie sich längs des Verdauungskanals verteilen, da die verschiedenen Abschnitte desselben nicht nur eine scharf differenzierte Tätigkeit beim Akte der Verdauung zu verrichten haben, sondern zugleich auch eine verschiedene Empfänglichkeit Infektionen und Intoxikationen gegenüber aufweisen.

Schon aus den Versuchen Bjeloussows; welcher die Eigenschaften der acidophilen Bakterien in Bezug auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen

den schädlichen Einfluß schwacher Salzsäurelösungen erforschte, konnte man schließen, daß der Säuregehalt des Magensaftes das Eindringen dieser Bakterien in die oberen Abschnitte des Darmes nicht verhindern kann.

Bei diesen Versuchen übertrug Bjeloussow eine bestimmte Anzahl Oesen von Reinkulturen des *B. acidophilus* No. 1 und des *B. acidophilus* No. 2 in Probiergläser mit wässriger Lösung von Salzsäure in verschiedenen Konzentrationen, oder mit Bouillon, welche diese Säure in denselben Konzentrationen enthielt. Die Probiergläser mit der einen, wie auch mit der anderen Flüssigkeit wurden bei anaëroben Bedingungen in den Brutschrank gesellt; täglich machte Bjeloussow aus ihnen Abimpfungen auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker zwecks Feststellung des Zeitpunktes, bis zu welchem diese Bakterien unter gegebenen Bedingungen ihre Lebensfähigkeit bewahren.

Die hierbei erzielten Resultate sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt:

Tabelle 5. Erhaltung der Lebensfähigkeit der acidophilen Bakterien in Salzsäurelösungen verschiedener Konzentrationen.

Bei Lösung der Salzsäure	Benennung der Kulturen	In sterilisiertem Wasser ohne Säure	Prozentgehalt der Salzsäure			
			0,002	0,05	0,2	0,5
In Wasser	{ <i>B. acidophilus</i> No. 1	17 Tage	10 Tage	7 Tage	3 Tage	—
	{ " " " 2	15 "	8 "	4 "	2 "	—
„ Bouillon	{ " " " 1	—	45 "	34 "	13 "	9 Tage
	{ " " " 2	—	39 "	28 "	9 "	6 "

Tabelle No 6. Resultate der Untersuchung des Darmkanals bei Leichen von Brustkindern.

No. der Leichen	Alter in Monaten	Namen der Krankheit, an der das Kind starb	Bei der Untersuchung der Strichpräparate aus den Proben waren an nach Gram gefärbten Stäbchen vorhanden: viel ++; wenig +; keine 0						In den Plattenkulturen aus den Proben waren viel ++; wenig +; keine 0 Kolonien										
			Ventriculus	Jejunum	Ileum	Coecum	Col. ascendens	Col. transversum	Col. descendens	Rectum	Ven-	Jeju-	Ile-	Coec-	Col. as-	Col. trans-	Col. des-	Rec-	
											tri-	num	um	cum	as-	trans-	des-	um	
											cul-	cus	cus	cus	cus	cus	cus	cus	
1	3	Pneumonia catarrhalis totalis duplex	+	++	++	++	++		++	++									
2	3 1/2	Pneumonia catarrhalis acuta	+	+	++	++	++	++	++	++	+	+	0	+	+	0	+	+	+
3	2	id.	+	++	+	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	0	0	0	+
4	1	Laryngitis diphtheritica	+	+	+			++	++										+
5	2	Pneumonia catarrhalis	+		+			+											+
6	5	Pneumonia catarrhalis, Pleuritis suppur. dextra	+		+			++											+
7	3	Pneumonia catarrhalis acuta	+		++			++											+



Aus Tabelle 5 ist ersichtlich, daß:

- 1) der *B. acidophilus* No. 1 widerstandsfähiger gegen die schädliche Einwirkung der Salzsäurelösungen ist, als der *B. acidophilus* No. 2.
- 2) Bei Gegenwart von Bouillon (vielleicht Pepton?) sich die Widerstandsfähigkeit beider Mikroorganismen in bedeutendem Maße verstärkt.
- 3) Die Acidität des Magensaftes an sich nicht das Eindringen der acidophilen Bakterien in den Darm besonders gleichzeitig mit der Nahrung verhindern kann.

Die Aufklärung der Frage über die Verteilung der acidophilen Bakterien längs des Darmkanals hatten Podgaetzky und Obraszow in Arbeit genommen.

Podgaetzky führte seine Untersuchungen an frischen Leichen von Brustkindern (spätestens 24 Stunden nach dem Tode) aus, wobei er nur solche Fälle wählte, welche weder klinisch noch anatomisch irgend eine Affektion des Darmes aufwiesen. Die von ihm erzielten Resultate sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Obraszow bediente sich zu demselben Zwecke eben erst getöteter Tiere; seine Resultate finden sich in Tabelle 7. (Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

3<sup>o</sup> Mémoire.

### La variole et son parasite (*Plasmodium variolae*).

Par F. J. Bosc, Professeur à l'Université de Montpellier.

Avec 2 planches et 12 figures.

(Schluß.)

Il semble au premier abord que la nature parasitaire des inclusions intranucléaires apparaisse encore plus nettement en raison de leur aspect kystique et sporiforme. Il est à remarquer toutefois que nous ne les avons pas rencontrées dans les autres maladies varioliques, clavelée et vaccine, et que nous devons par suite leur faire subir un examen d'autant plus minutieux. Mais après avoir admis la nature parasitaire des inclusions intraprotoplasmiques nous sommes amené à accorder la même valeur aux intranucléaires, puisque nous avons montré que dans une même pustule variolique, on voit les formes intranucléaires devenir intraprotoplasmiques et que l'on trouve tous les termes de passage entre les formes kystiques des noyaux et les inclusions plasmodiales enfermées dans le protoplasme. Ces considérations trouvent un appui très considérable dans la forme kystique sporulée des inclusions intranucléaires de telle sorte qu'à côté de la multiplication schizogonique il y aurait aussi une multiplication sporogonique, comme chez les protozoaires en général.

L'existence de formes sporogoniques typiques résoudrait la question de la nature parasitaire des inclusions non seulement de la variole mais encore de celles des maladies similaires où elles sont uniquement protoplasmiques.

Malheureusement nous sommes en présence de figures kystiques qu'il n'est pas possible de rapporter à des formes sporogoniques d'un protozoaire connu. Leur nature parasitaire ne peut être actuellement mise en évidence que par l'étude de leur structure et de leurs réactions.

Nous devons reconnaître qu'il peut être difficile de différencier certaines de ces inclusions intranucléaires d'une produit de dégénérescence ou de sécrétion du plasmosome. Pas plus que les inclusions intraprotoplasmiques on ne peut pas confondre les inclusions intranucléaires avec la chromatine du noyau si l'on se sert de la méthode de Mann. Comme l'avait bien vu Calkins il est impossible de faire cette différenciation d'une façon précise avec les méthodes ordinaires par la safranine, le rouge de Magenta, l'hématoxyline, mais le Mann fait la différence par la coloration rouge vif

de l'inclusion et la coloration bleue de la chromatine. Mais encore ici l'inclusion présente les mêmes réactions générales que le plasmosome et la différenciation sera d'autant plus difficile qu'inclusion et plasmosomes sont enfermés dans le noyau.

Le fait que les inclusions prennent l'éosine n'est pas, au premier abord, en faveur de leur nature vivante; il laisserait plus volontiers penser à un produit de dégénérescence. Mais nous savons que ces inclusions prennent avec une énergie non moins grande les colorants nucléaires; que les karyosomes des protozoaires présentent la même affinité à la fois pour l'éosine et les couleurs basiques; que les plasmosomes présentent aussi cette double affinité, mais que les karyosomes comme les inclusions fixent encore plus fortement que les nucléoles les colorations chromatiques. C'est ainsi que dans les figures 7, 8, 9 de la planche I, les inclusions intranucléaires de petite taille se différencient nettement par leur réfringence et leur coloration rouge intense par le Mann, des plasmosomes étalés, fous, d'un rouge violacé (*pl, pl* fig. 9 pl. I) et dont la relation avec les filaments de chromatine est étroite, dans les noyaux encore peu atteints, tandis que les inclusions sont séparées de la chromatine par un zone hyaline incolore (*a, a* fig. 11 et 12 pl. I). Parfois on ne trouve pas de plasmosome distinct et l'on pourrait croire que le plasmosome élargi s'est transformé en une vésicule colorée en rouge (*a* fig. 10, *a* fig. 16 pl. I), puis en une vésicule plus volumineuse (fig. 16, 20, 22 pl. I), vésicules que nous avons décrites comme des inclusions, pour aboutir à la formation de ces inclusions énormes constituées par une grande vésicule centrale entourée d'une rangée de vésicules plus petites (fig. 10, 14; fig. 38 à 59 pl. I). Mais si on étudie attentivement les noyaux avec des colorations bien réussies on arrive à mettre toujours en évidence le ou les plasmosomes situés dans la partie du noyau non distendue et détruite par l'inclusion, et parfois au voisinage de cette dernière; ou peut suivre les transformations successives des nucléoles, les phénomènes de dégénérescence progressive dans les masses de chromatine dissoute sans qu'il soit possible de constater aucune relation avec l'inclusion.

Il n'y a donc pas de relations précises entre la formation des petites inclusions et une modification du nucléole. Les lésions du noyau sont d'ailleurs identiques à celles que nous avons décrites pour les noyaux des cellules qui renferment des inclusions intraprotoplasmiques: Condensation en boules de la chromatine, transformation kystohydrique du noyau, étalement et disparition progressive du nucléole, nucléolyse totale. Ce sont encore ces mêmes lésions que l'on trouve dans les noyaux envahis par des sporozoaires réels.

Nous ferons remarquer encore que l'on peut rencontrer des inclusions volumineuses de type kystiforme sporulé intranucléaire dans le protoplasma de cellules dont le noyau est à peu près intact et dont les nucléoles sont parfaitement distincts et en relation avec le réseau chromatique (fig. 41 pl. II) et, par suite, sans qu'il soit possible de constater une relation directe entre leur apparition et une modification du noyau; le noyau subit les lésions que nous avons décrites pour les formes intraprotoplasmiques ordinaires (*no, no* fig. 41 pl. II) et sans aucune lésion spéciale qui puisse expliquer la présence de ces volumineuses inclusions intraprotoplasmiques exactement identiques aux inclusions intranucléaires.

L'étude de la structure des inclusions nous montre qu'elles constituent des corps qui sont polymorphes, il est vrai, mais qui ne vont pas au-delà d'un certain nombre de formes principales entre lesquelles on trouve tous les intermédiaires. En outre ces inclusions présentent des différenciations qui les rapprochent beaucoup des protozoaires en général et la succession de certaines de ces formes se présente suivant une évolution qui rappelle encore de très près ce que nous savons des protozoaires.

Les formes petites sont très réfringentes avec un point central brillant, puis ces formes s'agrandissent, se différencient en une partie de type protoplasmique et en une partie susceptible de division et qui présente les réactions des grains karyosomiques<sup>6</sup>. Parmi les inclusions intranucléaires, les figures 4, 6, 7, 9, 10 de la planche II reproduisent des figures de même ordre que les formations schizogoniques intraprotoplasmiques; quant aux formes de type vésiculeux ou mieux kystiforme, certaines présentent une structure précise, très délicate et qui doit laisser croire difficilement à une dégénérescence, telles les figures 15, 16, les figures 23, 24, 25, 26 de la planche II avec leurs formations intravésiculaires et surtout des inclusions du type de la figure 29 de la planche II, avec ses formations protoplasmiques nucléées intravésiculaires; les formations enkystées et sporiformes, figures 30 à 36 doivent inspirer les mêmes réflexions. La figure 38 est identique à certaines formes de reproduction des protozoaires et on la rencontre très exactement dans la coccidie du cobaye dont elle représente un stade sporoblastique. Nous avons encore insisté sur ce que les formes enkystées comprimées peuvent subir des déformations qui permettent de voir qu'elles sont réellement entourées d'une paroi à double contour susceptible de se déformer et de se rétracter, comme le ferait une paroi kystique élastique (*x* fig. 42 pl. II).

Il est donc probable que la totalité de l'inclusion représente la parasite. Il est à remarquer cependant que certaines inclusions, surtout celles qui sont sorties du noyau dégénéré et qui s'éliminent à la surface sont constituées par une masse fondamentale homogène, d'aspect hyalin, sans enveloppe distincte et dans laquelle sont creusées, comme à l'emporte pièce de cavités vésiculaires. Etant donné le petit nombre de ces formations et leur présence dans des cellules complètement dégénérées, nous pensons qu'il pourrait s'agir là de formes dégénérées d'inclusions parasitaires. Néanmoins cet aspect homogène et hyalin de la masse de certaines inclusions permet l'hypothèse d'après laquelle il ne faudrait envisager comme réellement parasites que les corpuscules enfermés dans les cavités vésiculaires (*x*, *x* fig. 22, 23, 24, 25 pl. II; *f*, *f*, *f* fig. 27, 28 pl. II; *h* fig. 29 pl. II), ces formations vésiculeuses correspondant à une sorte de produit de sécrétion du parasite ou à une modification spéciale de la substance nucléaire dissoute sous l'influence du parasite.

### Pathogénie et histogénèse.

La variole est une maladie infectieuse et contagieuse, à marche aiguë, due à un parasite dont la porte d'entrée peut être à la peau, aux muqueuses et le plus souvent aux poumons. D'abord localisé dans la pustule d'inoculation, le virus pénètre dans les lymphatiques (lymphite et adénite), envahit le sang, puis se porte à la peau, aux muqueuses et aux parenchymes où il provoque une éruption (éruption secondaire) jusqu'au moment où l'immunité du sang commence à se produire. Nous avons montré en effet que les pustules qui apparaissent dans les dernières poussées de la période éruptive et le plus éloignées de la face, sont, en général, plus petites, dures, cornées avec un processus de vésiculation purement épidermique (pustules atténuées). A partir du moment où l'immunité est acquise, les éléments éruptifs ne s'accroissent plus, entrent en regression, disparaissent par élimination totale et la guérison est suivie d'une immunisation totale et, l'on peut dire, définitive.

La pustule d'inoculation, les pustules de généralisation à la peau, aux muqueuses et aux organes, en particulier au poumon, présentent une structure générale identique: elles constituent une néoformation ayant les caractères d'une hyperplasie cellulaire pure, épithéliale et conjonctive, intense et désordonnée qui s'accroît non seulement aux dépens des cellules normales voisines mais surtout, et par karyokinèse, aux dépens des cellules proliférées. Les cellules qui constituent cette néoformation présentent des lésions d'hypernutrition (hypertrophie sombre et hypertrophie claire), puis des lésions progressives de dégénérescence (granuleuse, hydropique, kératique, colloïdale) aboutissant à la destruction totale (plasmolyse et karyolyse). Aux phénomènes d'hypernutrition, font donc suite des phénomènes d'épuisement aggravés par des phénomènes mécaniques et qui aboutissent à une désorientation prononcée, à la formation de sphérules et de globes épidermiques ou d'inclusions.

Il s'agit donc de cellules malades et l'on peut constater que tous les caractères que nous venons d'indiquer sont ceux des cellules des proliférations néoplasiques. L'étude de la pustule variolique pulmonaire, au même titre que celle de la pustule pulmonaire clavelleuse et vaccinale, viennent affirmer le caractère néoplasique pur de la néoformation variolique, puisque nous avons vu que les parasites de ces maladies déterminent au niveau des bronches et du poumon des lésions typiques d'adénome et d'adéno-épithéliome, sans intervention d'aucun processus phlegmasique banal.

Les lésions cellulaires sont sous la dépendance d'un virus à développement intracellulaire qui ne tue pas immédiatement les cellules, mais qui excite préalablement leur nutrition de façon à vivre à leurs



dépens, à la manière d'un parasite vrai. Et nous avons montré en effet que les lésions cellulaires du nodule variolique sont de même ordre que celles qui sont causées par le développement de protozoaires dans l'intérieur de cellules épithéliales ou conjonctives. Nous sommes allé plus loin et nous avons montré que cette ressemblance n'existe pas seulement pour les lésions cellulaires isolées, mais que certains protozoaires pathogènes, comme *C. oviforme* peuvent donner naissance à des néoformations de type adénomateux et adéno-épithéliomateux indiscutable.

Toutefois au moment de leur invasion en un point de l'économie et pour les pustules de la première poussée éruptive, le virus peut avoir une action dégénérative forte et il est susceptible de produire cette dégénérescence diphtéroïde ou vitreuse qui tue brutalement les premières cellules atteintes et les fige dans leur forme, pour constituer cette lésion dégénérative initiale bien exactement notée par Weigert.

Les cellules conjonctives subissent des lésions de même ordre que les cellules épithéliales. Ces cellules fixes du tissu interstitiel prolifèrent par karyokinèse, s'hypertrophient et dégèrent dans la lymphe; de même les cellules endothéliales de vaisseaux sanguins et lymphatiques existants ou de nouvelle formation. Il se développe un processus intense d'endopéricapillarite et les gros vaisseaux n'échappent pas à des lésions prononcées d'endartérite et de périartérite. Les cellules fixes épithéliales et conjonctives constituent la totalité de la néoformation en dehors d'une infiltration modérée de mononucléaires dont nous apprécierons le rôle dans un moment.

De même que pour la clavelée et la vaccine, l'évolution du parasite est assez aiguë pour entraîner rapidement, après une phase de prolifération et d'hypertrophie, la mort de la cellule. La destruction de l'élément cellulaire met en liberté le parasite dans les espaces lymphatiques; il pénètre vers les ganglions et dans le sang où il est transporté aussi par des mononucléaires venus des pustules. Les parasites arrivent donc nus dans le sang, à l'état de corpuscules extrêmement fins, avec une virulence forte et ils vont se fixer sur des cellules surtout épithéliales de la peau ou des organes. Ils ne peuvent donc produire qu'une hypertrophie et une prolifération des cellules propres des organes qu'ils envahissent: il ne peut pas y avoir de greffe de cellules parties du foyer primitif car elles sont trop rapidement détruites; il ne saurait y avoir, par suite, de métastase. C'est ce que nous avons montré également pour la vaccine et la clavelée. Il s'édifiera aux points d'arrêt du parasite, de nouveaux foyers de type néoplasique mais constitués par la prolifération des éléments cellulaires propres de ce tissu: adénome pulmonaire, par exemple.

Ces néoformations néoplasiques, constituées par une prolifération désordonnée de cellules malades, pénètrent, dissocient et font disparaître le tissu normal au niveau duquel elles se développent. Elles se substituent complètement à lui et c'est ainsi que toute l'épaisseur des tractus dermiques et le tissu sous-cutané lui-même seront remplacés par des amas de cellules épithéliales ou de cellules conjonctives néoplasiques et que la structure alvéolaire du poumon sera remplacée par une néoformation adénomateuse.

L'évolution générale des éléments varioliques est en rapport avec l'évolution des lésions cellulaires et l'immunisation de l'économie. On constate quatre périodes bien nettes: une période d'induration

ou d'édification, en rapport avec la prolifération et l'hypertrophie actives des cellules; une période de vésiculation ou de sécrétion qui correspond au début de la destruction cellulaire à partir du centre, la prolifération progressant encore vers la périphérie; une période de ramollissement avec arrêt de la néoformation et qui correspond à l'apparition de l'immunité; enfin une période de regression avec élimination totale de la néoformation épithéliale et conjonctive. Cette élimination laisse une perte de substance qui n'est pas comblée par formation de bourgeons charnus mais qui se cicatrise par transformation directe en tissu fibreux, des cellules fixes et des plasmazellen qui existaient à la périphérie de la néoformation.

Qu'elle est la signification de la néoformation variolique? Elle est identique à celle de la prolifération claveleuse ou vaccinale: la néoformation cellulaire est en rapport direct avec la prolifération du parasite dont les formes de multiplication s'essaient dans les cellules au fur et à mesure de la prolifération de ces dernières. L'habitat intracellulaire apparaît comme nécessaire au parasite et l'on voit d'ailleurs la prolifération cellulaire s'accroître, s'atténuer et regresser suivant les phases de virulence et d'atténuation du parasite et d'immunité de l'économie.

La prolifération néoplasique variolique apparaît donc à la fois comme un substratum de nutrition indispensable à la vie du parasite et en même temps comme un système de défense de l'économie. Les cellules en proliférant à mesure que les parasites se multiplient offrent à ces derniers un milieu de développement qui les limite et empêche leur dissémination.

Mais à cause de la virulence considérable du parasite et de son développement rapide, les cellules du centre subissent une destruction rapide et le virus est mis en liberté et à l'état nu dans la lymphe. A ce moment apparaît une mononucléose locale, et, lorsque le parasite a pénétré dans le courant circulatoire, une mononucléose modérée du sang. Cette mononucléose constitue un second élément de défense de l'organisme, mais secondaire, car il n'empêche nullement l'envahissement des tissus et l'éruption généralisée.

La mononucléose ne peut s'exercer que très faiblement contre les parasites de la lésion locale enfermés dans les cellules épithéliales entassées; grâce à cette couche épaisse de cellules hypertrophiées et à paroi kérato-colloïde, le virus est soustrait aux atteintes leucocytaires.

Du moment où l'immunité apparaît, l'on voit cesser et la mononucléose et la prolifération cellulaire ce qui indique bien le rôle défensif de toutes deux.

A la période terminale de regression et d'élimination de la néoformation variolique, on voit apparaître une polynucléose locale qui devient de plus en plus intense et constitue, comme pour la clavelée et la vaccine, ce que j'ai appelé une phagocytose de nettoyage. Les polynucléaires n'ont aucune action contre le virus en activité: ils n'apparaissent qu'au moment où la nécrose cellulaire donne naissance à des produits abondants de dégénérescence et nécessite un nettoyage sérieux. Cette phagocytose s'exerce aussi contre les microbes surajoutés et permet ainsi la disparition des cellules néoformées dégénérées et la cicatrisation profonde aux dépens des cellules fixes et des plasmazellen situées à la limite d'élimination.

La nature inflammatoire du processus vaccinal ne peut être

contestée. L'hyperémie active, la réaction leucocytaire, les lésions vasculaires, la dégénérescence terminale des cellules, indiquent un processus inflammatoire à marche aiguë. Nous avons, à plusieurs reprises (Presse méd. 1903. 14 janv.; Centralbl. f. Bakt. etc. 1904; Compt. rend. soc. biol. 1902 à 1905) discuté sur la valeur de la prolifération cellulaire épithéliale et conjonctive de type néoplasique qui constitue le caractère essentiel des lésions varioliques, vaccinales et clavelleuses. Nous avons montré que tout processus inflammatoire s'accompagne de prolifération cellulaire qui s'adresse tantôt aux cellules mobiles (infections microbiennes aiguës); tantôt à la fois aux cellules mobiles et aux cellules fixes du tissu conjonctif (granulome); tantôt presque uniquement aux cellules fixes et non seulement conjonctives mais aussi épithéliales. A mesure que la virulence immédiate et la généralisation de l'agent virulent et de ses toxines diminuent, la part de la prolifération cellulaire dans le processus inflammatoire devient plus considérable (actinomycose, levûres). Si l'on est enfin en présence d'un parasite vrai à qui la vie intracellulaire est nécessaire et dont la virulence est telle qu'il ne tue pas d'emblée la cellule mais seulement après une période d'hypernutrition avec prolifération, et si enfin ce parasite a une affinité spéciale pour les cellules épithéliales, le processus inflammatoire qu'il détermine pourra être entièrement compris dans une prolifération cellulaire pure épithéliale et conjonctivo-vasculaire dont les caractères sont ceux des formations néoplasiques qui trouvent leur plus haute expression dans le cancer.

La variole doit donc être considérée comme une maladie inflammatoire infectieuse et contagieuse, de type néoplasique (bryocytose), à évolution aiguë, en rapport avec le développement d'une parasite intracellulaire d'abord localisé en un point de l'économie (peau ou poumon) puis généralisé aux ganglions et dans le sang, et qui s'arrête avec l'apparition rapide de l'immunité. Ce parasite qui présente une évolution schizogonique intraprotoplasmique et très vraisemblablement une évolution sporogonique intranucléaire, doit être classé parmi les protozoaires (*Plasmodium variolae*).

#### Bibliographie.

- 1) Béraud, L'orchite varioleuse. (Arch. gén. de méd. 1859. p. 274.)
- 2) Auspitz u. Basch, Untersuchungen zur Anatomie des Blatternprozesses. (Arch. f. pathol. Anat. 1863. p. 337.)
- 3) Cornil, Structure de la pustule varioleuse. (Journ. de l'anat. 1866.)
- 4) Erisman, Anatomie pathologique de la variole hémorrhagique. (Wien. Akad. 1868. Planches.)
- 5) Desnos et Huchard, Union méd. 1870 et 1871.
- 6) Quinquaud, Lésions viscérales diffuses. (Gaz. hôp. 1870.)
- 7) Ponfick, Anatomie pathologique de la variole. (Berliner klin. Wochenschr. 1872. p. 271.)
- 8) Huchard, Thèse de Paris. 1872. No. 102.
- 9) Unruh, Ueber Blutungen in Nierenbecken und Ureteren bei Pocken. (Arch. f. Heilk. 1872.)
- 10) Golgi, Mœlle osseuse dans la variole. (L'osservatore. 1873. No. 11.)
- 11) Brouardel, Lésions vasculaires dans la variole. (Arch. gén. de méd. 1874.)
- 12) Zuelzer, Zur Aetiologie der Variola. (Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1874. p. 82.)
- 13) Weigert, Einige Beiträge zur Lehre von den Pocken. (Deutsche Zeitschr. f. prakt. Med. 1874.)
- 14) Ivanowsky, Die parasitären Knoten in den Lungen bei Variola. (Virchow-Hirsch. 1876. p. 52.)

- 15) Verstraeten, Recherches sur le sang de varioleux. (Bull. acad. roy. de Belgique. 1879.)
- 16) Weigert, Virchows Arch. 1877.
- 17) Unna, Ueber den Sitz der Pocken in der Epidemie und die ersten Stadien des Pockenprozesses. (Arch. f. pathol. Anat. 1877. p. 409.)
- 18) Cornil, Sur l'histologie de la pustule variolique. (Union méd. 1879. p. 796.)
- 19) Joffroy, Bronchite et broncho-pneumonie dans la variole. (Arch. de physiol. 1880. p. 682.)
- 20) Barthélémy, Recherches sur la variole. [Thèse.] Paris 1880.
- 21) Leloir, Formation des pustules varioliques. (Arch. de physiol. 1880.)
- 22) Trousseau, Clinique méd. de l'Hôtel Dieu. T. I. p. 88.
- 23) Renaut, Nouvelles recherches anatomique sur la prépuustulation et la puustulation varioliques. (Annal. de dermatol. 1881. p. 1.)
- 24) Cornil, Union méd. 1883.
- 25) Siredey, Altérations du foie dans les maladies infectieuses. (Rev. de méd. 1886. p. 465.)
- 26) Maragliano, Péricardite varioleuse. (Gaz. degli osped. 1886. p. 749.)
- 27) Van der Loeff, Ueber Proteiden oder Amöben bei Variola vera. (Monatsschr. f. prakt. Dermatol. 1887. No. 10 u. 13.)
- 28) Pfeiffer, L., Ein neuer Parasit des Pockenprozesses. (Monatsschr. f. prakt. Dermatol. 1887. No. 13.)
- 29) Buist, Vaccina und Variola. (Baumgartens Jahresber. 1887. No. 8.)
- 30) Hlava und Houl, Proteiden oder Amöben bei Variola vera. (Monatsblätter f. prakt. Dermatol. 1887. No. 10.)
- 31) Grigorjew, Mikroorganismen bei Variola. (Baumgartens Jahresber. Bd. V. 1889. p. 536.)
- 32) Helfant, Anatomie pathologique de la variole. [Diss.] Bukarest 1890.
- 33) Chiari, Weitere Beiträge zur Lehre von Orchitis variolosa. (Zeitschr. f. Heilk. 1890. p. 360.)
- 34) Pfeiffer, Die Protozoen als Krankheitserreger. Jena (Fischer) 1891.
- 35) Caspary, Ueber Adenoma sebaceum. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1891.)
- 36) Guarnieri, Ricerche sulla patogenesi dell'infezioni vaccinica e variolosa. (Arch. p. le sc. mediche. 1892. No. 22.)
- 37) Copeman, Med. Press and circ. London. Vol. XIII. p. 213.
- 38) Doehle, Zur Aetiologie von Masern, Pocken etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1892. p. 906.)
- 39) Buri, Die Anatomie der Variola. (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XIV. 1892. 11, 20.)
- 40) Auché, Anatomie pathologique de la broncho-pneumonie variolique. (Arch. cl. de Bordeaux. 1893. No. 12. p. 561.)
- 41) Podwyssotsky, Nouvelles recherches sur les sporozoaires. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1893.)
- 42) Ferroni e Massari, Sulla pret. scoperto del Guarnieri. (Riforma med. 1893.)
- 43) Guarnieri, Arch. ital. de biol. 1893.
- 44) Martin, Contagium vivum of small-pox. (Boston med. Journ. 1893. p. 509.)
- 45) Pick, Blutkörperchen bei Variola. (Arch. f. Dermatol. Bd. XXV. 1893. p. 63.)
- 46) Ruffer and Plimmer, Researches on variola. (Brit. med. Journ. 1894.)
- 47) Piana e Galli-Valerio, Morfologia dei parassiti del vaiuola. (Riforma med. 1894.)
- 48) Buttersack, Cytoryctes variolae. (Rev. clin. e ter. di Napoli. 1894. No. 1.)
- 49) Galli-Valerio, Sulla morfologia dei microparassiti del vaiuola. (Riforma med. 1894. No. 51.)
- 50) Unna, Die Histopathologie der Hautkrankheiten. Berlin (Hirschwald) 1894.
- 51) Bécclère, Pouvoir antivirulent du sérum de l'homme ou des animaux immunisés. (Compt. rend. de l'acad. d. sc. 1891. Janvier.)
- 52) Clarke, J., Variola and Vaccinia. (Brit. med. Journ. 1894. p. 869.)
- 53) Copeman, Variola and Vaccinia. (Journ. of pathol. and bact. 1894. p. 407.)
- 54) Guarnieri, Sur les parasites de la variole. (Arch. ital. de biol. Bd. XXII. 1895.)
- 55) Sicherer, Beiträge zur Kenntnis der Variolaparasiten. (Münch. med. Wochenschr. 1895. p. 793.)
- 56) Clarke, J., Morphologie der Sporozoen von Variola etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. p. 300.)
- —, A note on variola and vaccinia. (Trans. of the pathol. soc. London 1895.)
- 57) Bécclère, Chambon et Ménard, Sérumbthérapie de la variole. (Bull. méd. 1895. p. 96.)
- 58) Clarke, J., The sporozoa of variola and vaccinia. (Lancet. 1895. Jan. p. 139.)

- 59) Monti, Etiologie de la variole et localisation du virus variolique. (Arch. ital. de biol. 1895.) — Bay, Etiology of small-pox. (Med. News. 1895. p. 92.)
- 60) Copeman, Brit. med. Journ. 1895. p. 1250.
- 61) Vasielowsky, Sporozoenkunde. Jena (Fischer) 1896.
- 62) Kourloff, Arch. russes de bact. T. XI. 1896.
- 63) Salmon, Recherches sur l'infection la vaccine et la variole. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1897. No. 4.)
- 64) Reid, Walter, Corpuscules spéciaux dans le sang d'enfants varioleux. (Journ. of méd. expér. 1897. Sept.)
- 65) Zagari, Sérothérapie antivarioluse. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. 1897. p. 246.)
- 66) Arnaud, Albuminurie et lésions des reins dans la variole. (Rev. de méd. 1898. p. 392 et 1899. p. 169.)
- 67) Sanfelice e Malato, Etudes sur la variole. Riforma méd. 1899. 13 avril.)
- 67<sup>bis</sup>) Bosc, F. J., Le cancer maladie infectieuse à sporozoaires. Avec 10 planches. Paris (Carré et Naud) 1898.
- 68) Roger et Weil, Recherches sur le parasite de la variole. (Presse méd. 1900. p. 359.)
- 69) Podwyssotsky-Mankowski, Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 17.
- 70) Roger et Josué, La moelle osseuse dans la variole. (Arch. de méd. expér. 1900. p. 545.)
- 71) Weil, Leucocytose variolique. (Compt. rend. soc. biol. 1900. 22 juin. p. 615.)
- 72) — —, Etude leucocytaire de la pustule variolique. (Presse méd. 1900. 27 juin.)
- 73) Roger, Recherches microb. sur la variole. (Compt. rend. soc. biol. 1900. Nov.)
- 74) Courmont, J. et Montagard, La leucocytose dans la variole. (Congrès int. de Paris 1900; Compt. rend. soc. biol. 1900. p. 583; Journ. de pathol. génér. 1900. p. 557.)
- 75) Roger et Weil, Inoculations de la variole de l'homme au lapin. (Compt. rend. soc. biol. 1900. Nov.)
- 76) Courmont, Sérothérapie de la variole. (Journ. de physiol. 1900. Sept.)
- 77) Josué, Formule hémoleucocytaire dans la variole. (Gaz. d. hôp. 1900. p. 1527.)
- 78) Funck, Der Vaccine- und Variolaerger. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. p. 921.)
- 79) Roger et Weil, Nouvelles recherches expérimentales sur la variole. (Presse méd. 1901. 10 juillet.)
- 80) Roger et Garnier, Etude anatomique du foie dans la variole. (Arch. de méd. expér. 1901. p. 661 et Presse méd. 1903. 16 mai.)
- 81) Roger et Weil, Inoculation de la variole au singe. (Compt. rend. soc. biol. p. 1271.)
- 82) Dombrowski, Ueber das Kontagium der Pocken. (Zeitschr. f. klin. Med. 1902. p. 1.)
- 83) Ishigami, Ueber die Kultur des Vaccine- resp. Variolaerregers. (Centralbl. f. Bakt. etc. p. 794.)
- 84) Park, Differentiation between variola and varicella by means of inoculation of monkeys. (Trans. of amer. assoc. phys. 1902. p. 210.)
- 85) — —, Negative resultats the active principles of small-pox to pass trough filters. (Ibid. p. 220.)
- 86) Ewing, Preliminary report on small-pox. (Trans. of assoc. Amer. phys. 1902. p. 208.)
- 87) Councilman, Margrath and Brinckerhoff, A preliminary communication on the etiology of variola. (Journ. med. research. 1903. p. 372.)
- 88) Sanfelice e Malato, Studi sull vaiuolo. (Annal. d'igiene sperim. Vol. XIII. 1903.)
- 89) Ferguson, The leucocytosis of variola. (Journ. of pathol. and bacter. 1903. p. 411.)
- 90) Perkins and Pay, Studies on the etiology and pathology of variola. (Journ. of med. research. 1903. p. 163.)
- 91) Borrel, Epithélioses infectieuses et épithéliomes. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1903.)
- 92) Councilman, Margrath and Brinckerhoff, Anatomy and histology of variola. (Journ. of med. research. 1904. Febr. 1.)
- 93) Calkins, The life history of Cytoryctes variolae (Guarnieri). (Journ. of med. research. 1904. Febr. 1.)
- 94) Margrath and Brinckerhoff, On experimental variola in the monkey. (Journ. of med. research. 1901. Febr. 1.)
- 95) Margrath, Brinckerhoff and Bancroft, The leucocyte reaction in variola. (Journ. of med. research. 1904. Febr. 1.)

- 96) Margrath and Brinckerhoff, Infectiousness of the blood in variola. (Journ. med. research. 1904. Febr. 1.)
- 97) Brinckerhoff, On the infectiousness of the late stage of the skin lesion in variola. (Journ. of med. research. 1904. Febr. 1.)
- 98) Bosc, F. J., Les parasites de la vaccine et de la variole. (Congrès de méd. de Montpellier. 1898.)
- 99) — —, Les maladies à sporozoaires, la vaccine, la variole, la clavelée et le cancer. (Arch. de méd. sép. 1901. Mai)
- 100) — —, Recherches sur les lésions spécifiques de la peau, du poumon et du foie, dans la variole. (Compt. rend. soc. biol. 1902. 15 mars.)
- 101) Des formes évolutives intracellulaires de Monocystis inoculé aux animaux. (Ibid. 24 mai.)
- 102) Des étapes du processus inflammatoire. Introduction à l'étude générale de maladies bryocytiques. (Presse méd. 1903. 14 janvier.)
- 103) — —, Les épithéliomas parasitaires. La clavelée et l'épithélioma claveleux. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1903. No. 5, 6, 7.)
- 104) — —, Le parasite de la variole. Formes schizogoniques et sporogoniques. (Compt. rend. soc. biol. 1903. 24 oct.)
- 105) — —, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). [1<sup>o</sup> mémoire.] Introduction générale à l'étude des maladies bryocytiques. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1904. No. 4.)
- 106) — —, Les maladies bryocytiques. [2<sup>o</sup> Mémoire.] La maladie vaccinale et son parasite, Plasmodium vaccinae. (Ibid.)
- 107) — —, Recherches sur la structure et l'appareil nucléaire des trypanosomes. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. V. 1904.)
- 108) — —, Nouvelles recherches sur la structure, les formes évolutives et la nature du parasite de la clavelée. (Compt. rend. soc. biol. 1903. 17 oct.)
- 109) — —, Les symptômes et l'évolution de la clavelée expérimentale. (Rev. générale de méd. vétér. 1904. No. 42, 43.)

### Légende.

#### Planche I.

Coupes de pustules de variole. Coloration par la méthode de Mann. Grossissement: Obj. Zeiss, immersion oculaire 6. comp.

Fig. 1. Inclusions intraprotoplasmiques: minimales (*m*, *t*, *h*); en forme de grains volumineux (*al*, *cor*, *co*), de petites masses protoplasmiques nucléées (*pro*), de grandes masses plasmodiales multinucléées (*at*, *y*); d'amas volumineux de très fines granulations (*ast*); *ka* cellule en mitose renfermant des inclusions intraprotoplasmiques identiques à certaines inclusions intranucléaires.

Fig. 2. Cellules renfermant des inclusions à masse protoplasmique multinucléée (*a*, *b*, *cr*, *at*) et des inclusions volumineuses avec corps en flammèche (*res*, *mn*).

Fig. 3, 4, 5. Cellules en mitose renfermant des inclusions de type intranucléaire.

Fig. 6. Grande cellule globuleuse kystiforme, à paroi cornée, à noyaux multiples discoïdes, renfermant une inclusion volumineuse à fines divisions nucléaires (*x*).

Fig. 7 à 59. Cellules épithéliales dont le noyau coloré en bleu intense renferme des inclusions de volume et de structure variable colorées en rouge vif.

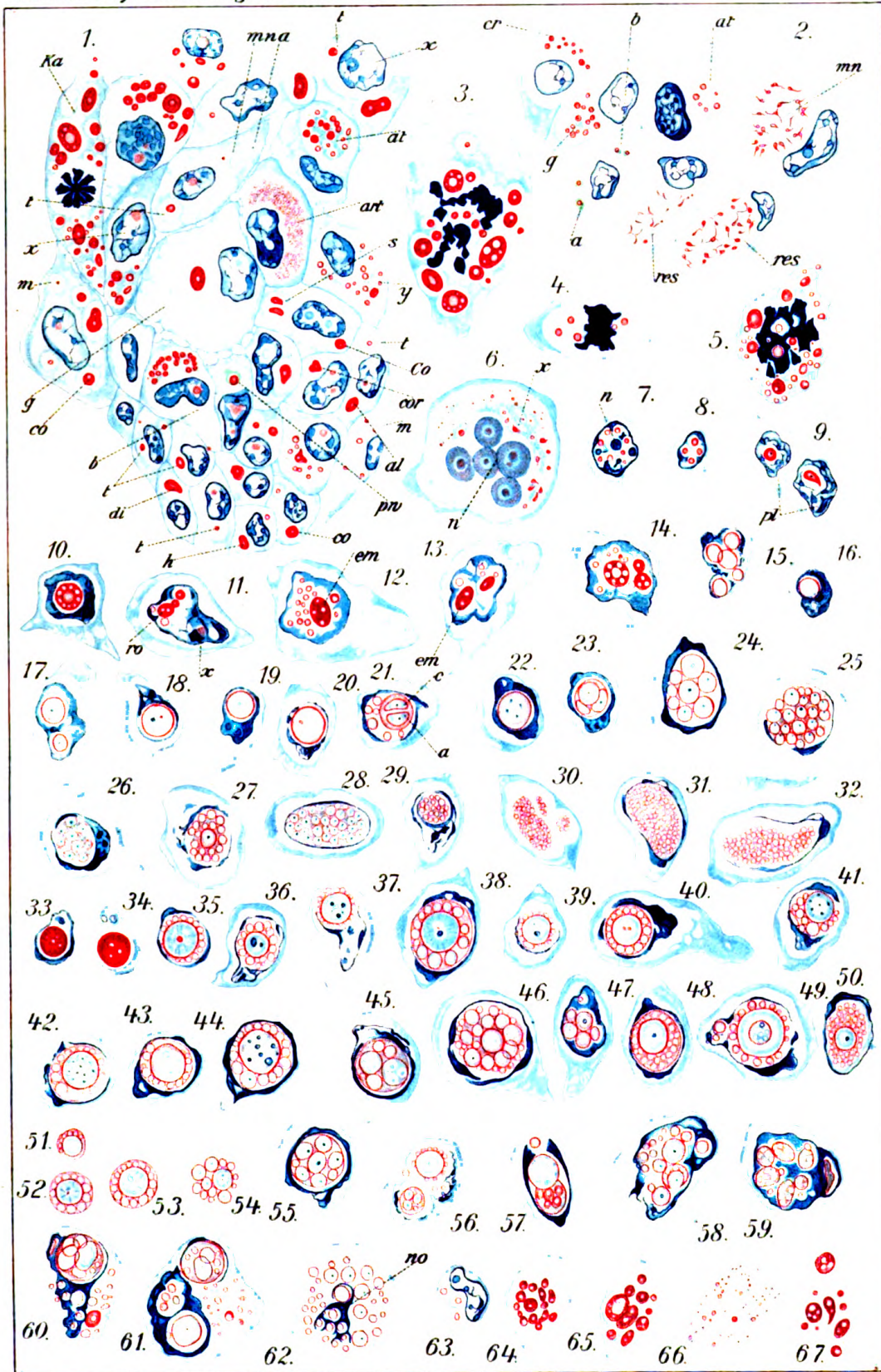
Fig. 56. Noyau distendu et dégénéré.

Fig. 62. *no* Restes nucléaires avec inclusions libérées dans le protoplasma.

Fig. 64, 65, 66. Inclusions libres dans le protoplasma.

#### Planche II.

Inclusions intranucléaires colorées par l'hématoxyline ferrique et l'éosine, la méthode de Mann, le rouge de Magenta, picro-indigo-carmin et étudiées à un fort grossissement: Zeiss, oculaire 18, obj. à imm. homog. *no* noyau, *nu* nucléole.



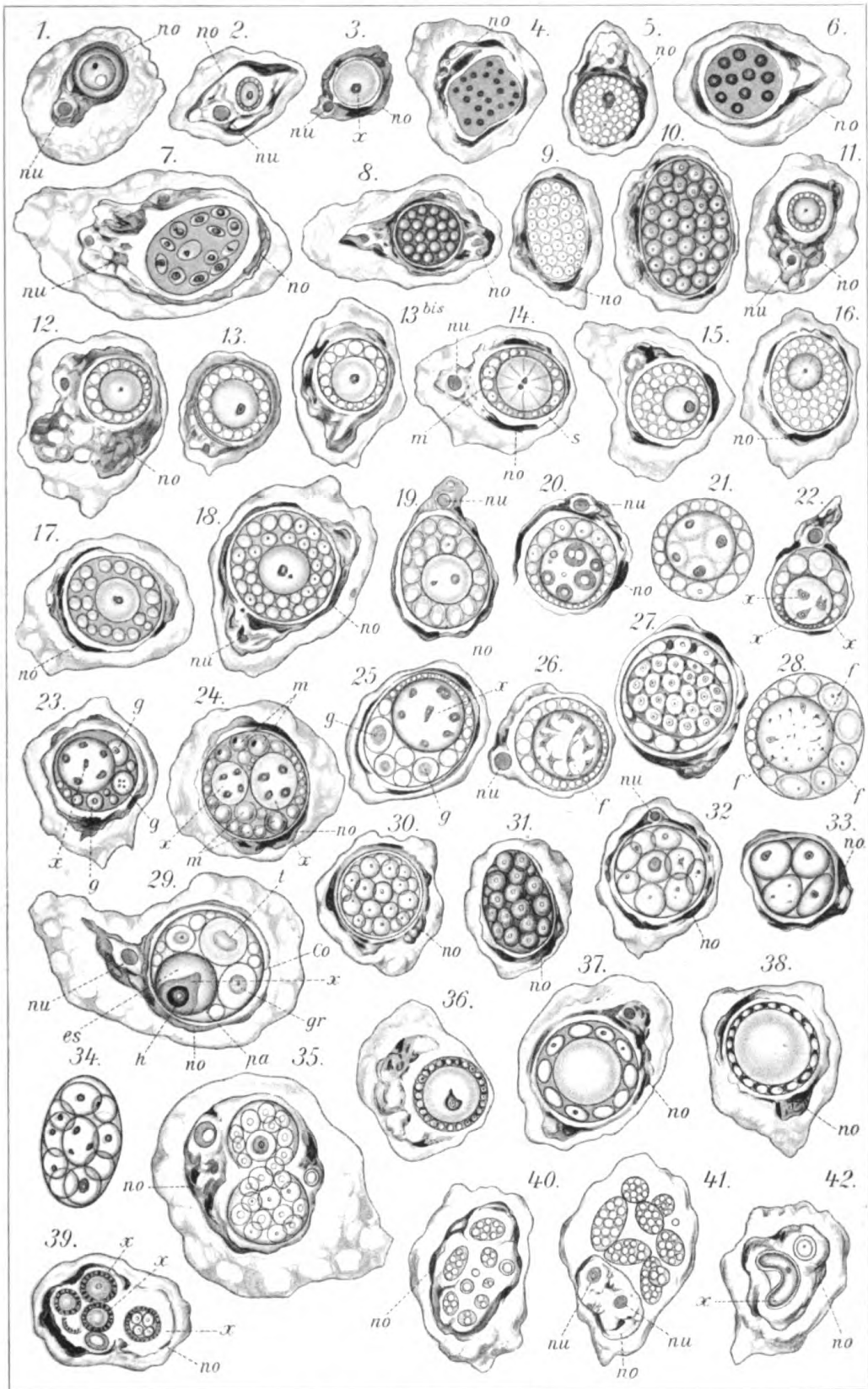
F. J. Bosc del.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith., Jena.







F. J. Bosc del.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

Generated on 2019-09-14 16:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/chi.72903154  
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access\_use#pd-us-google



*Nachdruck verboten.*

## The fixation of alexines by specific serum precipitates.

[From the Pasteur Institute, Brussels.]

By **Frederick P. Gay, M. D.**

We possess already a wealth of experimental detail relative to the specific immune bodies formed in the sera of animals injected either with simple cells or with such complex fluids as defibrinated blood or blood serum. Among the best known of these immune bodies are the specific haemolysins and bacteriolysins the activities of which have been most fruitfully studied. We know, for example, that a given haemolytic immune body (substance sensibilisatrice, amboceptor) formed after the injection of foreign red blood cells, has two important properties, namely, the property of sensitizing the causative cells in such a manner as to allow it to be destroyed by the alexine (complement) of various fresh normal sera; and secondly the power, when it has formed a complex with the causative cell, of fixing an alexine. This second property is perhaps the more important since the alexine can often be shown to have been absorbed by the cell-immune-body complex even when the cell itself is not destroyed. Indeed this absorption of alexine has given the means of determining the existence of sensitizing substances where they might not otherwise have been shown to exist. Bordet and Gengou<sup>1)</sup> have shown that the majority of antimicrobial sera contain "substances sensibilisatrices" which absorb alexine in instances where destruction of the specific bacteria is not produced, and Gengou<sup>2)</sup> has further shown that the injection of certain albuminoids may likewise give rise to specific sensitizing sera which may form with the causative substances mixtures that absorb alexine.

### I.

I was led recently to consider the effect that haemolytic immune serum which had been heated to 55° C, and then left in contact for a time with the specific red blood corpuscles, might have on the activity of an alexine. It surprised me to find that such a treated serum, centrifuged long enough to free it of the corpuscles, had the power of neutralizing the haemolytic activity of an added alexine, as could be shown by introducing subsequently sensitized corpuscles. In controlling more carefully such an experiment I found that the treated immune serum, although freed of all corpuscles by the first short centrifugation, would, when centrifuged a second time, show a slight cloudiness at the bottom of the tube, which microscopically exhibited the amorphous character of specific precipitates. If this precipitate was removed from the treated serum no fixation of the alexine took place. It seems then quite evident that a specific serum precipitate has the power to fix alexine, and the causative factors of such a precipitate must now concern us.

Of the precipitate forming factors, in the experiments to which I have referred, the precipitine was of course furnished by the immune serum, but the source of the precipitogen is not so evident, since washed corpuscles and not native blood was used. Further observations showed

1) Bordet and Gengou, *Annales Pasteur*. T. XV. 1901. p. 289.

2) Gengou, *Annales Pasteur*. T. XVI. 1902. p. 1.

that, although the corpuscles for these experiments had been washed once or twice with a relatively large amount of physiological solution, such washing was not sufficient to remove all the serum which bathed the corpuscles, and which, although markedly diluted, contained the very small amount of precipitogen necessary to form a precipitate with the large amount of immune serum present. As a matter of fact it is extremely difficult to free blood corpuscles of all traces of serum as is clearly shown by some recent experiments of M. Gengou to whom I am indebted for the following unpublished observations. A 4 per cent alcoholic solution of mastic, forms, on the addition of distilled water in the proportions of nine parts of water to one of mastic, an emulsion, which affords a delicate reactive for the albuminoids of blood serum. One drop of normal salt solution containing a trace of serum gives rise to the rapid agglutination and precipitation of 1 ccm of mastic emulsion, whereas such an amount of the fresh physiological solution produces no effect. If 2 ccm of fresh blood of the rabbit is washed in 20 ccm of salt solution, the water of washing, removed after centrifuging, gives an immediate serum reaction with the mastic. If the corpuscles are washed a second time with a fresh amount of physiological solution and centrifuged, the supernatant fluid gives a like reaction. Even the third water of washing gives a positive result with the mastic emulsion. The fourth wash water usually shows no evidence of the presence of serum.

It is evident from these preliminary observations that enough precipitogen is present in the diluted serum which surrounds blood corpuscles washed in the ordinary manner, to give a precipitate in the presence of immune serum. Let us now consider more closely the power of this specific serum precipitate, to fix alexine. The work of Gengou<sup>1)</sup> demonstrated that a serum active against a foreign serum will when mixed with this causative albuminoid absorb alexine, as is shown by the absence of haemolysis in sensitized corpuscles, subsequently added. And the author notes particularly that this absorption of alexine is in proportion to the presence of specific serum precipitates; but he did not determine whether it was the precipitate itself or some other albuminoid in solution which exercised this alexine fixing property. In the light of the present communication it is evident that it is the precipitate itself which fixes the alexine.

The following experiment shows that a specific serum precipitate will fix alexine. To furnish the precipitogen necessary for the formation of this precipitate I have used, instead of dilute separated serum, the supernatant salt solution which had been employed to wash native blood. Such a serum dilution furnishes the same conditions as are obtained when insufficiently washed corpuscles are mixed with the immune serum.

#### Experiment I.

To 2 ccm of fresh ox blood is added 38 ccm of salt solution at 0.85 per cent; the suspension is then centrifuged and the supernatant washing solution removed. The blood is washed with another 38 ccm of the physiological solution and both the washing fluids are used for the following experiment.

1) Gengou, l. c.

Tube 1.	First NaCl washing solution	$\frac{2}{10}$ ccm
	Serum rabbit-ox 55° <sup>1)</sup>	$\frac{6}{10}$ "
" 2.	Second NaCl washing solution	$\frac{2}{10}$ "
	Serum rabbit-ox 55°	$\frac{6}{10}$ "
" 3.	Fresh NaCl solution	$\frac{2}{10}$ "
	Serum rabbit-ox 55°	$\frac{6}{10}$ "
" 4.	First NaCl washing solution	$\frac{2}{10}$ "
	Serum normal rabbit 55°	$\frac{6}{10}$ "

Tubes are left at room temperature 2 hours.

In tube 1. Abundant precipitate  
 " " 2. Trace of precipitate  
 " tubes 3 and 4. No precipitate

Tube 1, is then centrifuged and the supernatant fluid forms tube 1a, while the precipitate is brought to the original volume ( $\frac{8}{10}$  ccm) with salt solution and forms Tube 1. To each of the tubes 1, 1a, 2, 3 and 4, is then added fresh rabbit serum (24 hours)  $\frac{3}{40}$  ccm and contact allowed for two hours at room temperature. To each tube is then added  $\frac{1}{40}$  ccm of sensitized rabbit corpuscles (S. rabbit ox 55°) and the resultant haemolysis is as follows.

Tube 1 (precipitate). No haemolysis  
 Tubes 1a, 2, 3 and 4. Haemolysis complete

This experiment shows clearly, that it is the specific precipitate which fixes the alexine. In tube 2 the haemolysis although finally complete is distinctly delayed owing to partial absorption of the alexine by the very slight precipitate.

The marked difference in dosage between the precipitogen and the precipitine is indicated by the dilutions of ox serum represented by the washing solutions of the last experiment. In fact very small traces of the precipitogen suffice to give a maximum precipitate, provided sufficient immune serum (precipitine) is used. A more accurate idea of the relation of dosage and dilution between the two precipitate forming sera than is given incidentally in the following experiments need not concern us here since we are to deal rather with the properties of precipitates than with their formation.

The question may properly arise as to whether the sensitizing activity of the immune body for the corpuscles has been diminished by the formation of a specific precipitate, and is directly answered by the following experiment.

#### Experiment II.

Two large tubes are prepared.

Tube A.	Serum-ox 55°	$\frac{1}{20}$ ccm
	Serum rabbit-ox 55°	2 "
" B.	NaCl solution 0.85 %	$\frac{1}{20}$ "
	Serum rabbit-ox 55°	2 "

Contact 2 hours. Tube A gives dense precipitate, B. none. Tube A is centrifuged and the supernatant fluid used for the following small tubes:

Series A.	Tube 1.	Treated serum A	$\frac{2}{10}$ ccm
	" 2.	" "	$\frac{1}{10}$ "
	" 3.	" "	$\frac{1}{20}$ "
	" 4.	" "	$\frac{1}{40}$ "
Series B.	" 5.	" B	$\frac{2}{10}$ "
	" 6.	" "	$\frac{1}{10}$ "
	" 7.	" "	$\frac{1}{20}$ "
	" 8.	" "	$\frac{1}{40}$ "

1) Which abbreviation is used to indicate the serum of a rabbit which has been immunized against ox blood. Such serum, as indicated, has been heated to 55° C for one-half hour to deprive it of alexine.

All tubes are brought to the same volume ( $\frac{2}{10}$  ccm) with salt solution, and then to each tube is added

Washed ox corpuscles  $\frac{1}{20}$  ccm (washed four times)  
Alexine rabbit  $\frac{1}{20}$  "

Resultant haemolysis is as follows:

Series A.		Series B.	
Tube 1.	Complete	Tube 5.	Complete
" 2.	Nearly complete	" 6.	Nearly complete
" 3.	Marked	" 7.	Marked
" 4.	"	" 8.	"

As is evident from this experiment the haemolytic immune body is not affected by the formation of the specific precipitate.

The alexine fixing power of the precipitate is not specific as regards alexine — that is, it is able to absorb alexines other than those of the species furnishing the precipitate. The fixation of guinea-pig alexine, for example, is shown by:

### Experiment III.

Two tubes are prepared:

Tube 1.	Serum-ox 55°	$\frac{1}{2}$ ccm ( $\frac{1}{10}$ ccm of dilution 1—4)
	Serum rabbit-ox 55°	"
" 2.	NaCl solution	$\frac{1}{2}$ "
	Serum rabbit-ox 55°	"

To each tube is added alexine of the guinea-pig  $\frac{1}{30}$  ccm, and contact allowed for  $\frac{1}{2}$  hour. In tube 1, a considerable precipitate is formed; in tube 2, none. Then to each tube is added  $\frac{1}{20}$  ccm ox corpuscles sensibilized with S. rabbit-ox 55° ( $1\frac{1}{2}$  haemolytic doses).

Resultant haemolysis.

Tube 1.	No haemolysis
" 2.	Haemolysis complete

Which shows that the precipitate has fixed the guinea-pig alexine.

### II.

That a disregard of this fixation of alexine by specific precipitates has led to many erroneous impressions of the mechanism of haemolysis will undoubtedly prove true, but I wish to commit myself only on such phases of the question as I have been able hitherto to submit to experimental study.

Recently Pfeiffer and Friedberger<sup>1)</sup> have given the resumé of a study of the antibacteriolytic, or "antagonistic" substances which are said to occur in normal sera. These authors have found that certain normal sera, which in themselves possess no anti-lytic properties, acquire distinct anti-bacteriolytic power when previously put in contact with the bacteria on which they are destined subsequently to act. For example, normal rabbit serum treated with typhoid bacilli has the power to prevent in vivo the destruction of sensibilized typhoid organisms; untreated serum has no such power, nor does the serum treated with typhoid bacilli show any antilytic effect for cholera vibrios sensibilized with anti-cholera serum. A further consideration of these most interesting observations concerning bacteria need not concern us here, but an analogous series of facts in haemolysis, which was soon published by Sachs<sup>2)</sup>, and

1) Pfeiffer und Friedberger, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 1. p. 6.

2) Sachs, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 18. p. 705.

the conclusions of this author, must be regarded more in detail. Normal rabbit serum heated to 55° when treated with equal parts of sedimented red-blood corpuscles of the sheep or of the pig inhibits the action of guinea-pig alexine on the properly sensitized corpuscles of the blood in question. Normal untreated serum has no such antihæmolytic property and the treated serum itself acts only to protect the species of corpuscles with which this serum has been digested. The explanation which Sachs offers for the facts up to the present point is as follows. Normal rabbit serum contains a series of normal hæmolytic amboceptors of which some are specific for sheep corpuscles. When treated with sheep corpuscles rabbit serum loses its sheep amboceptors, but the remaining amboceptors (which can act against other corpuscles), although unattached to their specific cells have a greater affinity for complements than do the sheep corpuscles sensitized with serum rabbit-ox, which are added as a test for alexine; and hæmolysis of these test corpuscles does not take place<sup>1</sup>).

If we repeat in detail Sachs' first experiment, together with a control suggested by the facts I have already adduced, it is evident that his explanation of this interesting phenomenon is certainly incorrect. I have worked with sheep blood only and have employed the specific serum used by Sachs, that is, the serum of a rabbit immunized against ox blood, (which of course readily destroys ox red blood corpuscles but also works satisfactorily against the red cells of the sheep).

#### Experiment IV.

Three tubes are prepared as follows:

Tube A.	Sheep corpuscles (the sediment of blood washed once in 15 volumes of NaCl solution at 0.85 %)	1½ ccm
	Normal rabbit serum 55°	1½ "
" B.	Normal rabbit serum 55°	1½ "
" C.	Sheep corpuscles (the sediment of blood washed five successive times with fresh volumes of NaCl)	1½ "
	Normal rabbit serum 55°	1½ "

Of these tubes A and B correspond exactly in dosage to those give by the German author. Just how completely he washed the sheep corpuscles he does not state, but we may presume not far differently from the manner I have employed in tube A, since the result is the same. Tube C differs from Tube A only in the fact that every trace of sheep serum has been removed by the repeated washings. The succeeding steps follow exactly the conditions and dosage of Sachs.

Tubes A, B, and C are left at 37° C for 1 hour. Tubes A and C are then centrifuged and the supernatant treated sera as well as the contents of Tube B serve to make the following tubes:

Tube 1.	Treated serum A	1 ccm
	Serum guinea pig (alexine)	1/10 "
" 2.	Treated serum A	2/10 "
	Alexine guinea pig	1/10 "
" 3.	Serum B	1 "
	Alexine guinea pig	1/10 "

1) As is usual with the Ehrlich school, an hypothesis was invented in harmony with the lateral chain theory, to explain the Neisser-Wechsberg phenomenon; and it is this hypothesis and not fundamental experimental facts which is used as a foundation for further hypotheses. It has never been proved that an alexine can unite with an immune body unless the latter has formed a complex with the cell or substance, the injection of which has given rise to the specific serum. The Neisser-Wechsberg phenomenon, which has been accepted by the Ehrlich school as proving this union is, in reality, unquestionably due to another cause as I shall consider later.

Tube 4.	Treated serum C	1	ccm
	Alexine guinea pig	$\frac{1}{10}$	"
" 5.	Treated serum C	$\frac{2}{10}$	"
	Alexine guinea pig	$\frac{1}{10}$	"

Contact at 37° for  $\frac{1}{2}$  hour. Then to each tube is added 1 ccm of a 5 per cent suspension of washed sheep corpuscles (5 times) plus  $\frac{4}{10}$  ccm serum rabbit-ox 55° (about two haemolytic doses). Resultant haemolysis is as follows:

Tube 1 } No haemolysis	Tube 3 } Haemolysis complete
" 2 }	" 4 }
	" 5 }

That is, in rabbit serum treated with imperfectly washed sheep corpuscles there is a substance which prevents the haemolysis of test corpuscles added at the end; this is the Sachs experiment. If the corpuscles are washed so as to remove all sheep serum there is no antagonistic substance found. That there is an alexine fixing substance present in tube "A", is true, but it is the precipitate formed at the end by the interaction of the immune serum and the sheep precipitogen carried by the treated rabbit serum, and not the treated serum itself. That no true "anti-complement action" exists in the digested normal rabbit serum itself in the experiment of Sachs is easy of proof and would have been evident in the tubes of this experimenter had he only subjected the tubes which he compares, to the same experimental conditions. The details of his last experiments, which show a grave experimental error, are the following. The normal rabbit serum treated with insufficiently washed sheep corpuscles brought about the inhibition of haemolysis already noted, when for the sensitizing of the test corpuscles he used S. rabbit ox 55°. In this case the excess of sensitizing serum was left with the test corpuscles, and of course a precipitate was formed in the last stage of the experiment and haemolysis thereby inhibited. No such "anticomplement" action took place if he sensitized the corpuscles both with serum rabbit-ox 55° and with heated normal rabbit serum. In this instance he removed the excess of both sensitizing sera, and no precipitate was formed. And again he notes that no inhibition of haemolysis occurred if for sensitizing the test corpuscles he used normal rabbit serum alone. Incidentally the serum was removed in this case but of course no inhibition would have taken place anyway as no precipitate is formed<sup>1)</sup>. Manifestly the fixation of alexine (inhibition of haemolysis) occurs only in the presence of a precipitate formed by the interaction of an excess of immune serum and the precipitogen of the sheep serum carried from the first incompletely washed corpuscles. The following experiment comprises a complete refutation of Sachs' hypothesis and puts in evidence the alexine fixing precipitate.

#### Experiment V.

Two tubes are prepared as follows:

Tube A.	Sheep corpuscles (washed once)	3	ccm
	Serum normal rabbit 55°	3	"
" B.	Sheep corpuscles (washed five times)	3	"
	Serum normal rabbit 55°	3	"
	Contact 1 hour at 37° C.		

<sup>1)</sup> Sachs, l. c. compare Tabelle 2, Kol. I and II; Tabelle 3, Kol. B and Tabelle 2, Kol. I.



Centrifugalization, and from the supernatant treated sera A and B are formed two tubes:

Tube A'. Treated serum "A"	2 $\frac{1}{2}$ ccm
Alexine guinea-pig	$\frac{5}{20}$ "
" B'. Treated serum "B"	2 $\frac{1}{2}$ "
Alexine guinea-pig	$\frac{5}{20}$ "

Contact  $\frac{3}{4}$  hour at room temperature, and then the following tubes are made.

Tube 1. A' mixture	$\frac{11}{10}$ ccm
Serum rabbit-ox 55°	$\frac{4}{10}$ "
" 2. A' mixture	$\frac{11}{10}$ "
Serum normal rabbit 55°	$\frac{4}{10}$ "
" 3. B' mixture	$\frac{11}{10}$ "
Serum rabbit-ox 55°	$\frac{4}{10}$ "
" 4. B' mixture	$\frac{11}{10}$ "
Serum normal rabbit 55°	$\frac{4}{10}$ "

After contact, a precipitate is seen in Tube 1 but none in Tubes 2, 3 and 4. Then to each tube is added  $\frac{1}{20}$  ccm of washed sheep corpuscles which have been sensitized with S. rabbit ox 55° and the excess of immune serum removed by centrifugeing.

The resultant haemolysis is as follows:

Tube 1.	No haemolysis
Tubes 2, 3 and 4.	Haemolysis complete

This experiment clearly demonstrates that the so called "amboceptor anticomplement" action of Sachs is simply due to specific precipitates.

As will suggest itself the alexine fixing action of serum precipitates may readily be brought forward to explain the Neisser-Wechsberg phenomenon of "complement deviation". This it will be remembered, was demonstrated in the case of bacteria where it was found that an excess of immune serum prevented the complete destruction of a given dose of bacteria by an amount of alexine which destroyed perfectly the same amount of organisms if the optimal dose of immune serum were used. The authors reconciled these experiments with the Ehrlich hypothesis by supposing that the mass action of the excess of free amboceptors deviated the complement. But no one has been able to demonstrate the haemolytic analogue of this phenomenon. Morgenroth<sup>2)</sup>, it is true, by making certain suppositions as regards the union of "complements" with free amboceptors, and by introducing certain other bodies ("anti-amboceptors") has obtained somewhat similar results, but his analogy is far from exact. The discussion of this subject, together with definite experimental demonstration that deviation of the alexine may exist in haemolysis under conditions absolutely identical to those described for bacteriolysis by Neisser and Wechsberg, will appear presently in the *Annales Pasteur*. I may note simply that it is indeed the conjectured role of precipitates which does cause this alexine deviation in haemolysis.

### Conclusions.

1) As was noted by Gengou, the serum of an animal of species A' injected with the blood serum of species B, contains specific "Substances sensibilisatrices" which when the immune serum A is mixed with serum B forms a complex which fixes alexine. This alexine-fixing substance is the specific serum precipitate formed by the interaction of the two sera.

2) Morgenroth, *Centralbl. f. Bakt. etc.* Bd. XXXV. 1904. p. 504.

2) Repeated washings of blood with relatively large amounts of physiological solution are necessary to remove all traces of serum. A very small amount of this serum contains enough precipitogen to form a large precipitate if enough precipitine (immune serum) be present.

3) The formation of a serum precipitate does not affect the sensibilizing strength of the haemolytic immune body.

4) The so-called "anti-complements of normal sera" of Sachs and probably also the "antagonistic substances" of Pfeiffer and Friedberger are simply specific serum precipitates able to fix alexine.

5) A disregard of the presence and the alexine-fixing properties of serum precipitates has doubtless given rise to many erroneous impressions of the mechanism of haemolysis.

It is a pleasure to acknowledge the great value of the counsel which Dr. Bordet has afforded me during these studies.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine neue sichere und gefahrlose Immunisierung gegen die Pest.

Von Prof. Dr. F. Hueppe und Dr. Y. Kikuchi.

Die bisherigen Versuche, gegen die Pest Immunität zu erzielen, bewegten sich im Rahmen der bakteriolytischen Lehre, teilweise unter Mitverwendung der Auffassungen über Antitoxine. Nach den allgemeinen Ermittlungen über Pathologie und Bakteriologie der Pest, auf die aber hier nicht weiter eingegangen werden kann, scheint diese Seuche sowohl für die empfänglichen Versuchstiere wie für den Menschen durch obligat invasive Parasiten ausgelöst zu werden, und es traten uns öfters Erscheinungen entgegen, welche wir in Analogie zu den Erhebungen von Bail und Pettersson über Milzbrand stellen mußten.

Nachdem nun inzwischen in unserem Institute durch die Versuche von Bail, Kikuchi und Weil die Beziehungen einer großen Zahl von Infektionskrankheiten zur Invasion, Bakteriolyse und Antitoxinwirkung wesentlich gefördert worden waren, wurde es unerlässlich, auch die Verhältnisse bei der Pest daraufhin zu prüfen. Die Einrichtung von Räumen, welche das Arbeiten ohne jede Gefahr für die Umgebung ermöglichen, gestattete endlich diese Versuche in Angriff zu nehmen, und frühere Versuche wieder aufzunehmen. Für Ueberlassung von 2 Stämmen der Bakterien sind wir Herrn Geheimrat Gaffky zu Dank verpflichtet. Die folgende kurze Mitteilung erfolgt aus rein äußeren Gründen jetzt bei Schluß des Sommersemesters, um uns wegen einiger prinzipieller Fragen die Priorität zu sichern und dadurch spätere unnötige literarische Auseinandersetzungen zu vermeiden. Ein Eingehen in die Literatur und eine Kritik der bisherigen Arbeiten wird absichtlich unterlassen und einer anderweitigen Veröffentlichung vorbehalten.

Die von dem einen von uns (Hueppe) schon 1887 eingeführten intraperitonealen Serienimpfungen zur Steigerung der Virulenz konnten leider nicht lange genug fortgesetzt werden, um höhere Grade der Virulenz zu erreichen. Die Virulenz entsprach im allgemeinen der durchschnittlichen der Pestkulturen. Die Hitze war eine so enorme, daß schon bald nach dem Tode Fäulniserscheinungen auftraten, wobei besonders Streptokokken

und eine Art anaërober Stäbchen das Resultat trübten, so daß die Serien nur 4—5 Tiere (Meerschweinchen) umfaßten. Diese Versuche dienten teilweise gleichzeitig dazu, in der Peritonealhöhle Aggressin zu gewinnen. Bei der ersten Uebertragung war der Inhalt stets dick, eitrig, zum Zentrifugieren oft ganz ungeeignet, bei den späteren Uebertragungen wurde er dünner, serös.

Daß es sich in den letzteren Fällen wirklich um die Anwesenheit von Aggressin handelte, ergaben ad hoc angestellte Versuche:

M 14 erhält 4 ccm Aggressin von M 11 plus 2 Tropfen einer Aufschwemmung tierischer Bacillen desselben Tieres, stirbt innerhalb 20 Stunden; die Bauchorgane sind stark hyperämisch, in der Bauchhöhle 3 ccm dünnes, blutiges Exsudat mit zahlreichen Bacillen. Das Kontrolltier M 15, welches statt des Aggressin 4 ccm Kochsalzlösung mit der gleichen Bakterienmenge erhielt, starb nach 2 Tagen und enthielt in der Bauchhöhle 2 ccm dickes zähes Exsudat mit zahlreichen Bakterien.

M 26 erhielt 4 ccm Aggressin von M 23 mit 1 Tropfen Bouillonkultur und stirbt nach  $2\frac{1}{2}$  Tagen, während das Kontrolltier, welches statt des Aggressin 4 ccm Kochsalzlösung mit den Bakterien erhalten hatte, nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen stirbt. Die Peritonealhöhle enthielt in beiden Fällen ca. 5 ccm dickes, zähes, trübes Exsudat; Milz vergrößert; bei dem Aggressintiere enthielten die Peritonealblätter und Darmwand viele kleine Hämorrhagieen, bei dem Kontrolltiere nicht. Das Exsudat enthielt zahlreiche große und kleine polynukleäre Leukocyten und zahlreiche Bakterien, das Herzblut enthielt ebenfalls zahlreiche Bakterien. Im letzteren Falle waren dieselben typisch polar färbbar, während die Bacillen im Exsudate vielfach degeneriert, verquollen und blasig aufgetrieben aussahen.

Auch in einem anderen Versuche war dasselbe allgemeine Verhalten. M 32 erhielt 3 ccm Aggressin von M 29 mit 2 Tropfen Bouillonkultur und stirbt nach  $1\frac{1}{2}$  Tagen, während das Kontrolltier mit Kochsalzlösung nach  $2\frac{1}{2}$  Tagen stirbt. Trotz zahlreicher Leukocyten war keine Phagocytose zu vermerken.

Das Exsudat enthielt also tatsächlich Aggressin, da es bei gleicher Infektionsweise den Tod der Tiere entschieden beschleunigte. Wir durften deshalb erwarten, daß bei Versuchen zur Erzielung aktiver Immunität sich einerseits durch Einführen genügender Mengen und Abwarten genügender Zeit ein absolut sicherer Impfschutz erzielen ließ, wie wir auf der anderen Seite bei zu großen oder zu schnell wiederholten Aggressingaben Ueberempfindlichkeit erwarten mußten. Beides traf zu.

Die Versuche mit Meerschweinchen ergaben, daß eine einmalige Vorimpfung den Tod nur bedeutend hinausschiebt, aber noch nicht sicher schützt.

M 17 erhält am 2. Juni 1,5 ccm Aggressin subkutan und wird am 15. Juni mit 1 Tropfen Bouillonkultur intraperitoneal geimpft; stirbt nach 6 Tagen, während das Kontrolltier bereits nach  $2\frac{1}{2}$  Tagen stirbt. Bei dem Kontrolltier nach 2 Tagen starke Vermehrung der Bakterien bei der Probeentnahme; die Sektion ergibt Oedem an der Impfstelle, Milz vergrößert, 10 ccm dünnes trübes Exsudat. Im Exsudat viele Bacillen, im ödematösen Gewebe keine. Bei dem vorbehandelten Tiere war bis zum 4. Tage keine Vermehrung der Bacillen, und die Bauchhöhle enthielt reinen Eiter und nur spärliche Bacillen; bei der Sektion fällt starke Abmagerung des Tieres auf, die Bauchorgane selbst scheinen atrophisch und nur die Milz ist stark vergrößert. Vereinzelt Hämorrhagieen; ca.

4 ccm dünnes trübes Exsudat. Dieses, sowie Milzsaft und Herzblut enthalten zahlreiche Bacillen.

Eine zweimalige Vorbehandlung schützt Meerschweinchen, z. B.:

M 8 am 2. Juni 1,5 ccm Aggressin von M 3, und am 16. Juni 2 cm Aggressin von Kaninchen 4, beide Male subkutan, Probeimpfung am 2. Juli mit 1 Tropfen Bouillonkultur intraperitoneal. Das Kontrolltier stirbt typisch nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen, das vorbehandelte zeigte nie eine Reaktion, und die Kapillarentnahme nach 5 Tagen zeigte in der Brusthöhle reinen Eiter.

Die Immunitätsversuche bei Mäusen hatten fast genau dasselbe Resultat. Eine einmalige Vorbehandlung verzögerte den Tod: Maus 3 erhält am 2. Juni 0,5 ccm Aggressin von M 3 subkutan, und am 15. Juni  $\frac{1}{4}$  Tropfen Bouillonkultur ebenfalls subkutan. Das Kontrolltier starb nach 2, das vorbehandelte nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen. In beiden Fällen gleicher Sektionsbefund, das Unterhautgewebe ist an der Impfstelle eitrig-fibrinös und in demselben und im Herzblut massenhaft Bacillen. Maus 6, welche am 19. Juni 0,2 ccm Aggressin von Kaninchen 5 erhalten hatte, erhielt am 1. Juli  $\frac{1}{5}$  Tropfen Bouillonkultur subkutan und stirbt erst nach 4 Tagen.

Ein zweimaliges Vorbehandeln schützte aber selbst Mäuse sicher gegen die tödliche Dosis. Maus 4 erhielt am 2. Juni 0,5 ccm Aggressin von Meerschweinchen 3, und am 19. Juni 1,0 ccm Aggressin von Kaninchen 5, beide Male subkutan, am 1. Juli wurde subkutan  $\frac{1}{5}$  Tropfen Bouillonkultur gegeben und das Tier blieb, ohne Zeichen von Reaktion auf die tödliche Gabe, am Leben.

Bei Kaninchen waren die Resultate noch günstiger und schützte schon eine einmalige Vorbehandlung sicher.

Kaninchen 8 und 9 erhielten am 20. Juni 0,4 ccm Aggressin von K 5 subkutan und am 3. Juli 5 Tropfen Bouillonkultur; beide zeigen an der Impfstelle ein erbsengroßes Infiltrat, sonst keinerlei Reaktion; das Filtrat geht nach einigen Tagen ganz zurück, die Tiere bleiben gesund.

K 2 erhielt am 12. Juni 0,75 ccm Aggressin von Meerschweinchen 13 subkutan, am 16. Juni 2 ccm Aggressin von Kaninchen 4 intravenös; am 28. Juni erhielt es 2 Tropfen Bouillonkultur und am 3. Juli nochmals 0,5 ccm Bouillonkultur. Es zeigt keinerlei Reaktion und keine Spur von Infiltration an der Impfstelle.

Das Kontrolltier vom 28. Juni starb nach 2 Tropfen Bouillonkultur nach 5 Tagen, das Kontrolltier vom 3. Juli nach 5 Tropfen nach 3 Tagen, so daß der Impfschutz als ein ganz bedeutender bezeichnet werden muß. Bei den Kontrolltieren bildete sich an der Impfstelle ein sich immer weiter ausdehnendes Oedem aus und von der Impfstelle aus waren eine Reihe von Lymphdrüsen bis zur Achselhöhle beiderseits, ebenso wie die Inguinaldrüsen geschwollen. In Oedem, Lymphdrüsen und Blut reichlich Bacillen.

Bei Meerschweinchen wurde einmal auch typische Ueberempfindlichkeit beobachtet, als die Probeimpfung gemacht wurde, ehe das Aggressin ganz verarbeitet war. M 6 erhielt am 2. Juni 1 ccm Aggressin von M 3, am 16. Juni 2 ccm von Kaninchen 4 und am 22. Juni 1,5 ccm von Meerschweinchen 21, alle subkutan. Die Probeimpfung erfolgte am 3. Juli mit 0,5 ccm Bouillonkultur intraperitoneal. Der Tod erfolgte schon nach  $2\frac{1}{2}$  Tagen, während das Kontrolltier nach 4 Tagen starb. Bei dem vorbehandelten Tiere waren am nächsten Tage nach der Infektion im Bauchhöhlenexsudat viele Leukocyten, ganz vereinzelt Bacillen, vom 2. Tage ab nahmen die Bacillen intensiv zu und viele Makrophagen zeigten schöne Phagocytose; bei der Sektion war das Exsudat voll von Bacillen, viele

Leukocyten, aber keine Phagocytose. Das Herzblut enthielt massenhaft Bacillen.

Bei unseren Versuchen verhielten sich die Pestbacillen ganz typisch wie obligat invasive Parasiten, und die mit Hilfe von Aggressin erzielte aktive Immunität trat sicher ein. Wir verfügen demnach mit unserer Methode zum ersten Male über eine absolut unschädliche, gefahrlose aktive Immunisierung gegen die Pest, die zugleich an Sicherheit alle bisherigen Methoden übertrifft.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die bakteriziden Leukocytenstoffe und ihre Beziehung zur Immunität.

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

Von Dr. Alfred Pettersson.

(Schluß.)

Nun würde man vielleicht sagen, daß der Hund kein gutes Beispiel darstellt in Bezug auf die Bedeutung des Serumimmunkörpers für die Milzbrandimmunität, da sein Serum auf Milzbrandbacillen nie bakterizide Wirkung entfaltet. Deshalb wurde auch die weiße Ratte der Untersuchung unterzogen. Von den Tieren, die gegen Milzbrandbacillen wirksames Serum liefern, zeigt bekanntlich nur die Ratte eine geringe Widerstandsfähigkeit gegen Milzbrandinfektion. Eine größere Anzahl dieser Tiere wurde mit steigenden Dosen Milzbrandbacillen vorbehandelt. Die Immunisierung wurde mit abgeschwächter Kultur begonnen und die zu injizierende Menge der virulenten Kultur sehr vorsichtig erhöht. Der größte Teil der Ratten ging jedoch an Milzbrandinfektion ein und nach 7 Monaten waren nur 6 Tiere am Leben, die eine Injektion von  $\frac{1}{2}$  Oese hochvirulenter Milzbrandbacillen überstanden hatten. Mit den Sera dieser immunisierten Ratten wurden nun in derselben Weise wie früher bakterizide Versuche bei Anwesenheit von Organbrei angestellt.

Tabelle XXII.

Zwei immunisierte Ratten. Die Organe wurden nach Abkühlen auf Eis sofort verarbeitet. Die Abscheidung des Serums wurde durch Zentrifugieren beschleunigt. Zum Versuche wurde außerdem Serum einer immunisierten Katze verwendet. Einsaat: *Bacillus anthracis*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Std.	Nach 8 Stunden
1 ccm Rattenserum		0	0
1 " " + $\frac{1}{2}$ g Leber	1455 im Mittel	7441	Vermehrung
1 " " + $\frac{1}{2}$ " Milz		164	968
1 " " + $\frac{1}{2}$ " Niere		872	9158
1 " " + $\frac{1}{2}$ " Muskel		4267	Vermehrung
1 " Katzenserum		23 150	"
0,8 ccm Katzenser. + 0,2 ccm Rattenser.		0	0
0,8 " " + 0,2 " " + $\frac{1}{2}$ g Leber		3116	Vermehrung
0,8 " " + 0,2 " " + $\frac{1}{2}$ " Milz		1704	"
0,8 " " + 0,2 " " + $\frac{1}{2}$ " Niere		5348	"
0,8 " " + 0,2 " " + $\frac{1}{2}$ " Muskel		8013	"

Von allen Organen, am wenigsten von der Milz, wird die bakterizide Wirkung des eigenen Serums ebenso wie die des mit Rattenserum aktivierten Katzenserum in kürzester Zeit aufgehoben. Die von Natur aus resistente Ratte, deren Immunität durch Vorbehandeln mit Milzbrandbacillen außerdem erhöht war, verhält sich also in Bezug auf die Serumalexine genau so wie das sehr empfängliche Kaninchen. Eine Bedeutung der genannten Substanzen für die Milzbrandimmunität ist auch in diesem Falle auszuschließen. Unter solchen Umständen wirkt es auch nicht befremdend, daß die Ratte bisweilen unwirksames Serum liefert. Von den 6 immunisierten Ratten gab nämlich ein Tier ein Serum, das fast unwirksam war, und Katzenserum konnte damit nicht aktiviert werden.

Nur unter ganz besonderen Verhältnissen können die Serumbakteriolysine eine Keimvernichtung bei der Milzbrandinfektion hervorbringen. Wird einem nicht immunisierten Hunde eine mittelgroße Menge, z. B. eine halbe Agarkultur Milzbrandbacillen intraperitoneal injiziert, so beobachtet man während der zwei folgenden Stunden ein reichliches extracelluläres Zugrundegehen der eingeführten Bacillen. Für den endgültigen Ausgang der Infektion hat diese Bakterizidie aber ebensowenig Bedeutung, wie das von van Leent (10) nachgewiesene Absterben der Milzbrandbacillen in der Bauchhöhle des Meerschweinchens die Infektion verhindern kann. Diese Keimvernichtung beruht offenbar darauf, daß die Serumalexine in den serösen Körperhöhlen dem nachteiligen Einflusse der Körperorgane entzogen sind.

Nach der jetzt landläufigen Ehrlichschen Anschauung über den Mechanismus der Immunität muß auch die Immunisierung selbst Aufschluß geben können, ob der zu den Milzbrandbacillen passende Immunkörper für die Immunität von irgend einer Bedeutung ist. Die durch das Immunisieren hervorgerufene Neubildung von Immunkörpern wird ja allgemein als die regelmäßige Folge eines Verbrauches derselben bei der Infektion angesehen. Wenn beim Vorbehandeln eine Neubildung, beobachtet wird, dürfte man auch berechtigt sein, anzunehmen, daß ein Verbrauch stattgefunden hat. Die entgegengesetzte Schlußfolgerung: wenn eine Neubildung ausbleibt, ist ein Verbrauch nicht anzunehmen, ist vielleicht nicht ganz unanfechtbar, immerhin aber sehr wahrscheinlich. Nun habe ich schon in einer vorigen Arbeit (8) nachweisen können, daß auch bei einer recht hochgetriebenen Immunisierung des Hundes gegen Milzbrand eine Vermehrung des zu den Milzbrandbacillen passenden Immunkörpers im Serum nicht stattfindet. Meines Erachtens deutet auch diese Beobachtung darauf hin, daß der Serumimmunkörper für die Milzbrandimmunität belanglos ist, denn wird er beim Immunisieren nicht gebunden, so dürfte er auch bei der Keimvernichtung nicht in Wirksamkeit treten.

Dagegen scheinen die bakteriziden Leukocytenstoffe bei der Immunisierung in der Tat eine Vermehrung zu erfahren. Zahlenmäßig ist dies nicht möglich nachzuweisen, da man nicht in der Lage ist, die Wirkung der Leukocyten vor der Immunisierung und nach derselben zu vergleichen, und die Exsudate verschiedener Hunde öfters bedeutende Unterschiede aufweisen, unter anderem in Bezug auf Gehalt an roten Blutkörperchen. Bei der Arbeit mit einer größeren Anzahl Tiere habe ich die Auffassung gewonnen, daß die Leukocyten der immunisierten Hunde und Katzen im allgemeinen bedeutend wirksamer sind als die der nicht vorbehandelten. Damit stimmt die vorher gemachte Beobachtung (8) gut überein, daß

das Knochenmark eines immunisierten Hundes stärker bakterizid wirkte als das eines normalen vom selben Wurf. Ich glaubte damals, daß diese Zunahme der bakteriziden Wirkung des Knochenmarkes auf eine Neubildung von Komplement hindeutet. Nach dem genaueren Studium der Leukocytenstoffe scheint sie mir auf eine Vermehrung der bakteriziden Zellenstoffe im Knochenmark zurückgeführt werden zu müssen. Eine sichere Vermehrung des Komplements während des Immunisierens ist meines Wissens nicht beobachtet. Es wäre übrigens schwer zu verstehen, daß eine Neubildung von Komplement eintreten würde, wenn der Immunkörper bei der Immunität keine Rolle spielt.

Nach den vorigen Ausführungen dürfte es ganz klar sein, daß die Milzbrandimmunität derjenigen Tiere, die bei meiner Untersuchung in Betracht kamen, nicht auf einer Wirkung der Serumbakteriolysine beruht, sondern im Gegenteil auf der Bakterizidie der Leukocytenstoffe und ähnlicher Substanzen, die allein im stande sind, im Tierkörper unter allen Verhältnissen eine Keimvernichtung der eingeführten Milzbrandbacillen zu bewirken.

#### IV. Sind die bakteriziden Leukocytenstoffe mit den Serumalexinen zu identifizieren?

Die Geschichte der bakteriziden Leukocytenstoffe fällt zum größten Teil mit den Untersuchungen über den Ursprung der Serumalexine zusammen. Es war von vornherein anzunehmen, daß die bakteriziden Substanzen aus irgend welchen Zellen stammten. Es gelang auch Hahn (11), aus Milz und Lymphdrüsen keimfeindliche Stoffe auszuziehen. Auch die Leukocyten wurden von ihm als Quelle bakterizider Serumstoffe angegeben, die von den eosinophilen (später amphophilen) Leukocyten ausgeschieden wurden (12). Diese Zellen wurden deshalb von ihm Alexocyten genannt. Zu derselben Anschauung kamen auch Kantschack und Hardy (13). Etwas Befremdendes hatte diese Anschauung eigentlich nicht, nachdem Vaughan und Mc Clintock (14) und Kossel (15) in dem Kerne der Leukocyten Nukleinsäure nachgewiesen hatten, die auf mehrere Bakterien stark keimtötend wirkte. Eine allgemeinere Anerkennung fand diese Vorstellung von den Serumalexinen als Sekretionsprodukt nur der eosinophilen Leukocyten nicht.

Denys wies nun im Verein mit Kaisin (16) und Havet (17) nach, daß Blut und leukocytenreiche Exsudate nach dem Entfernen der Leukocyten erheblich geringere bakterizide Wirkung entfalteten als vorher. Dagegen wirkte nach einer Injektion von Milzbrandbacillen das Blut von Hunden stärker bakterizid auf diese Stäbchen als vor der Infektion, offenbar infolge der nach der Injektion entstandenen Leukocytose.

Die Beobachtung, daß leukocytenreiche Exsudate stärker bakterizide Wirkung zeigen als das Serum, wurde von Buchner (18) bestätigt.

Er fand weiter, daß das  $\frac{1}{2}$ -stündige Erhitzen bei  $+56^{\circ}$  die bakterizide Wirkung der Leukocyten ebenso wie die des Serums aufhob und folgerte daraus die Identität der bakteriziden Leukocytenstoffe und der Serumalexine.

Hahn (19) machte später ähnliche Beobachtungen. Da bei den vorigen Versuchen die Zellen und der flüssige Anteil des Exsudates nicht getrennt untersucht worden waren, so war die Beteiligung der Leukocyten an der Wirkung des Exsudates in der Tat nicht einwandfrei bewiesen, denn die stärkere Bakterizidie des Exsudates konnte auch dadurch bedingt sein, daß die keimfeindlichen Stoffe in der Exsudatflüssig-

keit in stärkerer Konzentration vorhanden waren, als im Blutplasma. Hahn suchte die Frage dadurch zu entscheiden, daß er die isolierten Leukocyten zu dem Serum hinzufügte, und konnte bei dieser Anordnung eine Erhöhung der Serumwirkung nachweisen.

Erst Schattenfroh (20) erhob einige Bedenken gegen die Identität der beiden Substanzen. Er konnte nämlich mehrere Unterscheidungsmerkmale nachweisen zwischen den bakteriziden Leukocytenstoffen und den Serumalexinen. Er fand die ersteren bedeutend widerstandsfähiger gegen Erhitzen als die letzteren; sie wurden beim  $\frac{1}{2}$ -stündigen Erhitzen erst bei etwa  $+85^{\circ}$  zerstört, während die Wirkung der Serumalexine schon bei  $60^{\circ}$  aufgehoben wurde. Weiter fehlte eine Konkordanz zwischen Serum und Leukocyten der verschiedenen Tiere in Bezug auf Gehalt an bakteriziden Stoffen. Bei solchen Mikroben, die der Serumwirkung gegenüber äußerst empfindlich sind (Choleravibrionen), versagten nämlich die Leukocytenstoffe gewisser Tiere mehr oder weniger vollständig. Schließlich beobachtete er, daß die Wirkung der Leukocytenstoffe im Gegensatz zu der der Serumalexine vom Salzgehalte der Flüssigkeit unabhängig ist.

Neben den hitzebeständigen glaubte Bail (21) auch thermolabile Stoffe aufzufinden.

Däubler (22) hält die bakteriziden Stoffe des Blutserums einerseits und der Leukocyten andererseits nicht für identisch. Bei der Immunisierung von Hunden gegen Typhus konnte er auch keine Erhöhung der bakteriziden Kraft der Leukocyten nachweisen. — Die Verschiedenheit der Leukocyten- und Serumstoffe wird weiter auch von Landsteiner (23) und Gruber (24) nachdrücklich hervorgehoben.

Schon bei den vorigen Versuchen war eine gewisse Thermostabilität

Tabelle XXIII.

Kaninchen, etwa 18 Stunden vor dem Verbluten mit Aleuronat intraperitoneal injiziert. Serum und in gewöhnlicher Weise mit Bouillon hergestelltes Leukocytenextrakt. Einsaat: Prot. Zenkeri U.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Stunden
1 ccm Kaninchenserum	1012 im Mittel	0
1 „ Kaninchenserum erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+58^{\circ}$		36
1 „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ $+65^{\circ}$		42 357
1 „ Bouillon		28 044
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		0
1 „ „ „ erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+65^{\circ}$		1
1 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ $+80^{\circ}$		108
1 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ $+90^{\circ}$	7377	

Tabelle XXIV.

Meerschweinchen. Bouillonextrakt aus Leukocyten nach intraperitonealer Aleuronat-injektion. Einsaat: Proteus Zenkeri U.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.
1 ccm Bouillon	3095 im Mittel	21 751	Vermehrung
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		6	2
1 „ „ „ erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+58^{\circ}$		2144	1856
1 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ $+65^{\circ}$		5151	7186
1 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ $+80^{\circ}$		21 369	Vermehrung



Tabelle XXV.

Große normale Katze, etwa 36 Stunden vor dem Verbluten mit Aleuronat intraperitoneal injiziert. Mit Bouillon hergestelltes Leukocytenextrakt.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 5 Std.	Nach 8 Std.
Einsaat: Prot. Zenkeri U.				
1 ccm	Bouillon	1072 im Mittel	9730	Vermehrung
1 "	Bouillonleukocytenextrakt		11	3
1 "	" erhitzt 1/2 Stunde bei 58°		15	2
1 "	" " 1/2 " " 65°		3	3
1 "	" " 1/2 " " 80°		7	4
1 "	" " 1/2 " " 85°		72	13
Einsaat: Prot. mirabilis Sthlm.				
1 ccm	Bouillon	9221 im Mittel	>20000	Vermehrung
1 "	Bouillonleukocytenextrakt		7	2
1 "	" erhitzt 1/2 Stunde bei + 58°		9	0
1 "	" " 1/2 " " + 65°		34	2
1 "	" " 1/2 " " + 80°		102	10
1 "	" " 1/2 " " + 85°		90	46

Tabelle XXVI.

Bouillonextrakt der Leukocyten des nach Aleuronatinjektion erhaltenen Pleuraexsudates des großen Hundes No. III, der seit 2 1/2 Wochen mit Milzbrandbacillen vorbehandelt worden war. Einsaat: Bacillus anthracis.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 5 Std.	Nach 7 Std.
1 ccm	Bouillon	932 im Mittel	16027	Vermehrung
1 "	Bouillonleukocytenextrakt		352	672
1 "	" erhitzt 1/2 Stunde bei + 55°		1088	1770
1 "	" " 1/2 " " + 60°		>25000	Vermehrung
1 "	" " 1/2 " " + 65°		>25000	"

der Leukocytenstoffe zu beobachten. Bei speziell darauf angestellten Versuchen erwies sie sich in mehreren Fällen noch bedeutend höher.

Die Leukocytenextrakte verschiedener Tiere zeigen ungleiche Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen. Sehr labil sind die gegen Milzbrandbacillen wirksamen Stoffe der Hundeleukocyten. Bei der Katze konnte ich keine bestimmte Inaktivierungsgrenze feststellen. Die Bakterizidie nahm beim Erhöhen der Temperatur allmählich ab. Doch war auch nach 1/2-stündigem Erhitzen bei + 80° eine deutliche Entwicklungshemmung der Milzbrandbacillen zu beobachten. Auch die labilsten Leukocytenstoffe, die des Hundes gegen Milzbrandbacillen sind aber beständiger als die gewöhnlichen Alexine, denn die ersteren werden erst bei 60° wirkungslos. In Bezug auf die Leukocytenstoffe, die noch bei 80° thermostabil sind, genügt schon diese Eigenschaft, um sie von den Serumalexinen endgültig zu trennen. Komplemente, die bei dieser Temperatur nicht zerstört werden, sind meines Wissens nicht nachgewiesen. Die höhere Widerstandsfähigkeit der Leukocytenstoffe in den zellenfreien Serum- oder Bouillonextrakten muß doch die Einwendung hinfällig machen, daß die Alexine in den Zellen in einer widerstandsfähigeren Modifikation vorhanden sind. Sonst wird es nötig anzunehmen, daß dieses Mazerationsverfahren auch eine konservierende Einwirkung auf die Serumalexine habe. Bezüglich der Hinlänglichkeit der höheren Thermostabilität der Leukocytenstoffe als Merkmal zur Unterscheidung von den Serumalexinen bemerke

ich nur, daß diese Eigenschaft der einzige bis jetzt bekannte Unterschied ist zwischen verschiedenen Komplementen z. B. beim Kaninchen.

Nun zeichnen sich freilich nicht alle Leukocytenstoffe durch hohe Thermostabilität aus. Diese verhalten sich aber in anderen Beziehungen so abweichend von den Serumalexinen, daß sie unmöglich mit diesen identifiziert werden können. Die Leukocytenstoffe werden von den lebenden Zellen nicht oder in nur sehr beschränkter Menge abgeschieden. Dies geht schon aus der Tatsache hervor, daß meines Wissens im Serum bakterizide Substanzen niemals aufgefunden sind, die in Bezug auf Thermostabilität den bakteriziden Leukocytenstoffen gleichkommen. Doch sind diese hitzebeständigen Leukocytenstoffe offenbar sehr verbreitet. Erst nach gründlichem Mazerieren gelingt es, den Zellen diese Substanzen zu entziehen. Sie zeigen in dieser Hinsicht große Aehnlichkeit mit den Endoenzymen.

Das Serumalexin — oder richtiger der eine Bestandteil desselben, das Komplement — wird dagegen normal von den lebenden Zellen abgeschieden oder wenigstens nach den geringfügigsten Reizen bzw. Schädigungen abgegeben. Es ist auch nicht ein einziges Mal gelungen, durch Vorsichtsmaßregeln, die geeignet sind, jede Schädigung der Leukocyten zu umgehen, wirklich alexinfreies Plasma oder Serum zu bekommen.

Es wird von gewissen Seiten — siehe z. B. Ascher (25) und unlängst A. Wolff (26) — verneint, daß die Leukocyten Komplemente enthalten. Diese Ansicht kann jedenfalls nicht verallgemeinert werden. So dürfte es keinem Zweifel unterliegen, daß die Kaninchenleukocyten auf Milzbrandbacillen wirksames Komplement enthalten. Auch die Hundeleukocyten geben beim Behandeln mit Serum kleine Mengen solchen Komplementes ab. Die Beobachtung von Buchner, daß die Substanzen, welche die Ueberlegenheit der leukocytenreichen Exsudate über das Serum in Bezug auf bakterizide Wirkung auf *Bacterium coli* bedingten, ebenso hitzebeständig waren wie die Serumalexine, deutet darauf hin, daß es sich um Komplemente handelte. Die auf *Bact. coli* wirksamen Leukocyten waren somit immer sehr thermostabil. Wahrscheinlich sind auch die von Bail in den Leukocyten aufgefundenen thermolabilen Stoffe nichts anderes als Komplemente. Es ist übrigens nicht bewiesen, daß die von Buchner gefundenen Stoffe zu den Leukocyten gehörten, da er die Zellen zusammen mit der Exsudatflüssigkeit verarbeitete. Daß auch die Flüssigkeit sehr reich an Komplement sein kann, beweist eine Beobachtung von Moxter (27), den Cholera vibrio betreffend. Bei einer Verdünnung der Bauchhöhlenexsudatflüssigkeit mit Kochsalzlösung von 1 : 7 hörte die Granulabildung auf; wurde dagegen Meerschweinchenserum als Verdünnungsmittel gebraucht, so erfuhr die Granulabildung keine Einschränkung. Diese Beobachtung wird übrigens von Metschnikoff als Beweis betrachtet für seine Ansicht, daß die Komplemente aus den Leukocyten stammen.

Die oben hervorgehobene Eigenschaft der Leukocyten, daß sie die sogenannten Leukocytenstoffe nicht ausscheiden, so lange sie unbeschädigt bleiben, während die Komplemente als Sekretprodukte angesehen werden müssen, ist eben die Ursache der zuerst von Schattenfroh beobachteten Tatsache, daß die bakteriziden Wirkungen des Blutserums und der Leukocytenflüssigkeiten durchaus nicht parallel laufen. Dies trifft auch in Bezug auf die *Proteus*- und Milzbrandbacillen in hohem Grade zu. So sind die Leukocyten des Meerschweinchens gegen gewisse *Proteus*-

Arten stark wirksam, während das Serum desselben Tieres völlig unwirksam ist. Gegen den Cholera vibrio ist die Wirkungsweise völlig umgekehrt. Die Katze verhält sich wie das Meerschweinchen. Das Serum entfaltet gegen dieselben Proteus-Arten gar keine bakterizide Wirkung, das Leukocytenextrakt mit Bouillon wirkt aber deutlich keimtötend. Das letztgenannte ist dagegen in Bezug auf den Typhusbacillus wirkungslos, der gegen die Serumwirkung äußerst empfindlich ist. Beim Kaninchen ist das Serum dem Milzbrandbacillus gegenüber hochwirksam, die Leukocyten aber unwirksam. Auf Proteus sind dagegen beide Körper sehr wirksam. Dieser Umstand kann aber kaum mehr als Beweis dafür gebraucht werden, daß die Serumalexine mit den Leukocytenstoffen identisch sind, denn sie unterscheiden sich sofort durch die ungleiche Thermostabilität, wie oben hervorgehoben wurde.

Schließlich spricht noch ein Umstand dafür, daß die genannten Substanzen verschiedener Natur sind. Das Immunisieren des Hundes gegen Milzbrand gibt, wie ich vorher nachgewiesen habe (8), zu keiner Vermehrung des Immunkörpers Veranlassung. Dasselbe ist von Bail beim Schafe beobachtet (28). Sogar Sobernheim (29), der die künstlich erzeugte Immunität immerhin auf antibakterielle Einflüsse zurückführt, gibt zu, daß durch sonst bewährte Methoden weder außerhalb noch innerhalb des Tierkörpers eine höhere bakterizide Wirkung des Milzbrandimmunserums als die des normalen aufgedeckt werden konnte. In gutem Einklange damit stehen die Beobachtungen von Bail und mir (30), daß der Gehalt des normalen Serums an Immunkörpern in keiner Beziehung steht zur Höhe der Immunität der betreffenden Tierart. Daß die Widerstandsfähigkeit gegen Milzbrand durch das Immunisieren der Tiere erhöht wird, unterliegt nun keinem Zweifel. Da die bakteriziden Leukocytenstoffe eben die Schutzmittel der Tiere sind und eine Vermehrung derselben während des Immunisierens unzweifelhaft stattfindet, so wäre es nicht zu verstehen, warum beim Immunisieren gegen Milzbrand, im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Cholera und Typhus, eine Vermehrung des Serumimmunkörpers nicht stattfinden würde, wenn die bakteriziden Leukocytenstoffe und die Serumbakteriolysine identisch wären. Ich halte diese Tatsache für eine sehr wichtige Stütze meiner Ansicht, daß die bakteriziden Leukocytenstoffe von den bakteriziden Serumstoffen verschieden sind.

Die Unterschiede zwischen den bakteriziden Leukocytenstoffen und den Serumbakteriolysinen können nach den vorigen Ausführungen in folgenden Punkten zusammengefaßt werden:

Die Leukocytenstoffe werden unter normalen Verhältnissen von den lebenden Zellen nicht oder nur spurenweise zum flüssigen Teil des Blutes abgegeben.

Die Komplemente der Serumbakteriolysine werden dagegen entweder normal von den Zellen sezerniert oder genügen nur unbedeutende Reize bzw. Schädigungen der Zellen, um ein Austreten ins flüssige Medium hervorzurufen.

Die beiden Substanzen kommen nicht immer bei einer Tierart vor. Das Vorhandensein oder Fehlen gegen bestimmte Bakterien wirkender Leukocytenstoffe scheint bei den verschiedenen Tieren sehr konstant zu sein.

Die Leukocytenstoffe sind öfters weithitzebeständiger als die Serumalexine.

Die Wirkung der Leukocytenstoffe ist nach Schattenfroh unabhängig vom Salzgehalt der Flüssigkeit.

#### V. Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Wenn die angeführten Versuche als beweisend und die gemachten Schlußfolgerungen als richtig gezogen dürfen angesehen werden, so folgt daraus ohne weiteres, daß die bisher einheitlich aufgefaßte sogenannte bakterizide Immunität auf zwei ganz verschiedene Ursachen zurückgeführt werden muß, nämlich auf die keimvernichtende Wirkung einerseits der lytischen Substanzen im Serum, andererseits der bakteriziden Leukocytenstoffe. Als reiner Typus einer durch lytische Serumstoffe hervorgerufenen Immunität kann die natürliche und künstliche Immunität des Meerschweinchens gegen Cholera und Typhus angesehen werden. Bei diesem Tiere sind niemals Leukocytenstoffe einwandfrei nachgewiesen worden, die auf die Erreger der genannten Krankheiten bakterizide Wirkung ausüben. Als Beispiel der allein durch bakterizide Leukocytenstoffe verursachten Immunität ist die natürliche und künstliche Milzbrandimmunität des Hundes und der Katze und weiter die Immunität des Meerschweinchens gegen gewisse *Proteus*-Arten zu nennen. Ob es eine Form der Immunität gibt, die auf der Wirkung beider Körper beruht, also eine so zu sagen gemischte Immunität, läßt sich noch nicht entscheiden. Dagegen kann bei einem Tiere, dessen Immunität auf Gehalt an keimfeindlich wirkenden Körpern der einen Reihe zurückzuführen ist, auch ein gegen denselben Infektionserreger wirksamer Vertreter der zweiten Klasse vorkommen, ohne sich an der Immunität zu beteiligen.

Beim Festhalten dieser Umstände treten mehrere Erscheinungen, die vorher recht schwer verständlich waren, in ein ganz neues Licht. Ganz speziell ist dies der Fall in Bezug auf die Milzbrandimmunität. Es ist natürlich, daß das Immunisieren keine Neubildung von Immunkörpern auslösen kann, wenn die zu den Milzbrandbacillen passenden Serumambozeptoren für die Immunität belanglos sind. Sie werden beim Vorbehandeln des Tieres nicht verbraucht, und eine Regeneration ist deshalb nicht nötig. Dagegen ist das aktiv immunisierte Tier ganz sicher reicher an bakteriziden Leukocytenstoffen. Diese treten aber aus den Zellen ins Serum nicht hinaus, und das Immunserum kann folglich nicht stärker bakterizid wirken als das normale Serum.

Die vorstehende Anschauung kann anfangs recht paradox erscheinen, da es doch eine allbekannte Tatsache ist, daß man mit dem Serum gegen Milzbrand immunisierter Tiere Schutzwirkungen erreichen kann. Nun ist es offenbar, daß die Leukocytenstoffe keine Keimvernichtung hervorbringen können, wenn sie von den Bakterien ferngehalten werden. Bei den tödlichen Infektionen ist das Ausbleiben der Leukocyten von der Infektionsstelle auch eine wohlbekannte Erscheinung, die allgemein auf die negative chemotaktische Wirkung gewisser Bakterienprodukte zurückgeführt wird. Wenn bei dem immunisierten Tiere eine positive Chemotaxis auftritt nach dem Einführen einer Bakterienmenge, die bei dem normalen das Ausbleiben der Leukocyten hervorruft, so muß dies nicht notwendigerweise auf einer Gewöhnung der Leukocyten an die negativ chemotaktisch wirkenden Substanzen beruhen, denn das Zuströmen der Leukocyten tritt auch bei der passiven Immunität auf, wo von einer Gewöhnung keine Rede sein kann. Eher ist diese positive Chemotaxis die Folge eines Paralyisierens der die Leukocyten abstoßenden Produkte der

Bakterien. Solche paralyisierende Stoffe sind schon von Wright und Douglas (31) sowie von Bulloch und Atkin (32) und Bulloch (33) im normalen Serum nachgewiesen. Sie werden von den ersten Forschern Opsonine genannt. Der Name bezieht sich auf ihre Eigenschaft, die Bakterien für die Phagocytose zu präparieren. Daß sie mit den Immunkörpern, die von Gruber Präparatoren benannt werden, nichts zu tun haben, geht aus ihrer Thermolabilität mit aller Deutlichkeit hervor. Von den Bakterien werden sie wie die Ambozeptoren gebunden, und durch Behandeln mit Bakterien kann dem Serum das Opsonin entzogen werden.

Auch andere Beobachtungen lassen sich in demselben Sinne deuten. Von Bail (28) ist der Nachweis erbracht, daß Kaninchen nach Injektion von keimfrei gemachtem Milzbrandödem einen andauernden ausgiebigen Schutz gegen Milzbrandinfektion erlangen. Das Serum dieser immunen Tiere besaß nicht die Eigenschaften der gewöhnlichen bakteriziden Sera, es wirkte nicht stärker bakterizid und enthielt nicht mehr Immunkörper als das normale Kaninchenserum, aber es zeigte einen ausgesprochenen Schutzwert. Bail nimmt an, daß der Milzbrandbacillus besondere Stoffe ausscheidet, welche die Fähigkeit besitzen, die Abwehrkraft des Kaninchens lahmzulegen. Es ist dies dieselbe Anschauung, die Kruse schon vor geraumer Zeit in seiner bekannten Lysintheorie entwickelte. Diese Stoffe werden von Bail (34) auf Kruses Vorschlag Aggressine genannt. Das Milzbrandödem ist reich an Aggressin. Das Vorbehandeln mit dem Oedem ruft eine Bildung von Antiaggressin hervor, und da dieses sich mit dem Aggressin der eingeführten Bacillen vereinigt, hört die Aggressinwirkung der letzteren natürlich auf und die Bacillen gehen durch die Wirkung der keimvernichtenden Kräfte des Tieres zu Grunde. Diese Theorie wurde später auf alle pathogenen Bakterien ausgedehnt.

In Bezug auf Milzbrand trifft dies alles zu, nur ist es keineswegs nötig, einen neuen Namen einzuführen, denn die Aggressine sind offenbar mit den die negative Chemotaxis bewirkenden Produkten der Milzbrandbacillen identisch. Die Antiaggressine sind dann dieselben Substanzen, die von Wright und Douglas Opsonine genannt werden. Daß die Antiaggressine schon im normalen Körper vorhanden sind, ist nicht zu verwundern. Es hat sich ja erwiesen, daß die Immunkörper der Immun- und Normalsera auch identisch sind. Von Interesse ist die von Bail gemachte Beobachtung, daß die Schutzwirkung der durch Vorbehandeln mit Oedem gewonnenen Immunsera durch das Behandeln derselben mit gewaschenen Bakterien nicht aufgehoben wird. Behandeln mit nicht gewaschenen Bacillen vernichtet dagegen die Schutzwirkung. Dies steht mit der Natur der chemotaktisch wirkenden Substanzen in engstem Zusammenhang. Als echte Sekretprodukte müssen sie natürlich aus den Bakterienleibern durch Waschen vollständig entfernt werden können. Die Schutzwirkung eines Milzbrandimmunserums besteht darin, daß es den Abwehrstoffen des Tierkörpers Gelegenheit gibt, ihre Wirkung zu entfalten. Wenn ein Tier über solche nicht verfügt, d. h. wenn seine Leukocyten keine auf Milzbrandbacillen wirksame Stoffe enthalten, so bleibt der Effekt der Seruminjektion aus.

Durch die oben angeführten Umstände läßt sich die ganz enorme Virulenz gewisser Milzbrandstämme erklären. Eine Virulenz von  $\frac{1}{20\,000\,000}$  Oese scheint nichts Ungewöhnliches zu sein. Wenn der Bacillus genügende Mengen negative Chemotaxis hervorrufender Stoffe produziert, um die Leukocyten vollständig fernzuhalten, so ist seine Entwicklung

im Tierkörper gesichert, wenn auch nur ein einziger Bacillus eingeführt wird. Bei genügend virulenter Kultur hat die eingeführte Bacillenmenge bekanntlich auch keinen Einfluß auf den tödlichen Ausgang der Infektion. Wenn die keimvernichtenden Stoffe sich im Plasma befänden, wäre eine solche Virulenz ganz undenkbar, insofern man nicht zu einer gewagten Hypothese von Antiambozeptoren bei den Bakterien übergehen will, die übrigens nicht in unbeschränkter Menge vorhanden sein können. Bei Cholera und Typhus ist eine höhere Virulenz als  $\frac{1}{20}$  Oese wohl selten erreicht.

Selbstredend können sich die oben dargestellten Anschauungen auch auf andere Bakterien beziehen, wenn die Leukocyten sich an der Vernichtung derselben im Tierkörper beteiligen. Für die eitererregenden Kokken und die echten Septikämiebakterien ist dies sogar sehr wahrscheinlich. Daß die Leukocyten verschiedener Tiere gegen die Staphylokokken wirksame bakterizide Stoffe enthalten, ist eine allbekannte Tatsache. Es ist auch immer mit Schwierigkeiten verbunden gewesen, ein gegen diese Kokken wirksames Immunserum herzustellen, und die Virulenz der Streptokokken und Septikämiebakterien erreicht leicht dieselbe staunenerregende Höhe wie die des Milzbrandbacillus.

Bei der Infektion des Meerschweinchens mit Cholera und Typhus finden die obigen Ansichten dagegen in Bezug auf die Keimvernichtung gar keine Anwendung. Ich kann auch nicht den unlängst von Bail (34) bezüglich dieser Infektionserreger dargestellten Anschauungen beipflichten. Nicht als ob die negative und positive Chemotaxis nicht in ungefähr ähnlicher Weise auftreten würde, wie bei Milzbrand. Im Gegenteil, nach dem Reichtum des Peritonealexsudates an Leukocyten läßt sich sogar der Ausgang der Infektion gewissermaßen beurteilen. Die Leukocyten sind aber für die Bakterizidie bedeutungslos. Es ist nicht gelungen, gegen den Choleravibrio und den Typhusbacillus wirkende Leukocytenstoffe beim Meerschweinchen einwandfrei nachzuweisen. Bail scheint solche Versuche überhaupt nicht angestellt zu haben. Die Bakterienauflösung ist ein chemischer Prozeß, und wenn er auf die Tätigkeit bestimmter Zellen zurückgeführt wird, muß man fordern, daß die wirkenden Substanzen in diesen können nachgewiesen werden. Aus der bloßen Anwesenheit der Leukocyten und einer eintretenden Phagocytose kann nichts gefolgert werden. Dadurch wird selbstverständlich eine etwaige Rolle der Leukocyten bei der Giftzerstörung nicht verneint. Von den Beobachtungen, die von Bail angeführt werden, um die Gültigkeit der Aggressintheorie auch bei Cholera und Typhus zu beweisen, können die meisten auch in anderer Weise erklärt werden, und zwar in Uebereinstimmung mit den bisher herrschenden Anschauungen sogar ohne Zuhilfenahme der von Pfeiffer und Friedberger (35) nachgewiesenen antibakteriolytischen Substanzen der normalen Sera. Als aggressinhaltig bezeichnet Bail die klar zentrifugierte, bacillenarme Peritonealexsudatflüssigkeit eines der Infektion erlegenen Tieres. Die Aggressine besitzen nun folgende Eigenschaften: Nicht tödliche Mengen von Typhusbacillen und Choleravibrionen werden bei gleichzeitiger Anwendung von Aggressin tödlich; tödliche Mengen von Bacillen, die aber sonst nur den Todesbefund der verhältnismäßig leichten Infektion hervorrufen, erzeugen mit Hilfe von Aggressinen den der schweren; mit Hilfe von Aggressinen gelingt es, die schützende Wirkung eines bakteriziden Immunserums in der Bauchhöhle von Meerschweinchen aufzuheben; es gelingt durch Vorbehandeln mit Aggressinen Immunität zu erzeugen, die

sich von der bakteriziden Immunität wesentlich unterscheidet. Die Exsudatflüssigkeit enthält bekanntlich freie Rezeptoren und giftige Bestandteile der gestörten Bakterienleiber. Von diesen Stoffen wäre nun nach Bail keiner allein im stande, die Aggressinwirkung zu erklären. Beide zusammen dürften doch denselben Effekt hervorrufen können, der den Aggressinen zugeschrieben wird. Da die Bakterien eine hundertfach größere Zahl Rezeptoren besitzen können als die, deren Besatz mit Ambozeptoren nötig ist, um die Auflösung zu ermöglichen, so ist es klar, daß die Exsudatflüssigkeit, in der während der ganzen Infektionszeit Bakterienauflösung stattgefunden hat, eine gewaltige Menge Rezeptoren enthalten muß. Daß die Exsudatflüssigkeit im stande ist, sowohl in Immun- als Normalserum so viel Immunkörper zu besetzen, daß auch nur wenige eingeführte Bakterien sich entwickeln können, ist folglich ebenso wenig befremdend, wie daß lebende oder gar getötete Bacillen diese Wirkung entfalten können. Daß das Exsudat die Giftwirkung der eingeführten Bakterien erhöhen kann, ist auch ganz natürlich. Die Giftigkeit des Exsudates wird von Bail selbst nicht verneint. Der vierte Punkt würde allein die Gütigkeit der Aggressintheorie für Cholera und Typhus wahrscheinlich machen, wenn es sich herausstellen würde, daß die mit Exsudat immunisierten Tiere sich den milzbrandimmunen ähnlich verhalten, d. h., wenn das Serum der ersteren nicht größere Bakterizidie entfalten würde als das normale. Dieser Beweis ist aber von Bail wenigstens bis jetzt nicht erbracht worden. Die Tabelle 47 deutet eher darauf hin, daß die Vernichtung des Typhusbacillus in der Bauchhöhle der mit Exsudat immunisierten Meerschweinchen bedeutend rascher fortschreitet, als bei den passiv immunen. Daß die von Bail hervorgehobenen Unterschiede in Bezug auf den Bakterienauflösungsvorgang hinreichend sind, um die mit Exsudat hervorgerufene Immunität von der gewöhnlichen aktiven bakteriziden zu trennen, scheint wenigstens sehr fraglich. Ob die Verhältnisse bei anderen Tieren sich andersartig gestalten, stelle ich vorläufig dahin. Beim Kaninchen wäre dies insofern nicht undenkbar, als die Leukocyten dieses Tieres tatsächlich auf den Cholera vibrio und Typhusbacillus bakterizid wirkende Stoffe enthalten.

Der Unterschied zwischen den Septikämieerregern und den übrigen pathogenen Bakterien in Bezug auf ihre Verbreitung im Tierkörper dürfte meines Erachtens in den oben hervorgehobenen Eigenschaften der Mikroben und des Tierorganismus mit aller Wahrscheinlichkeit zu suchen sein. Solche Bakterien, gegen welche nur oder hauptsächlich die bakteriziden Leukocytenstoffe oder ähnliche Substanzen wirksam sind, rufen, wenn sie genügend große Mengen die Leukocyten abstoßenden Produkte bilden, Septikämie hervor. Die Bakterien, welche auch im Tierkörper von den Serumalexinen vernichtet werden, können nie in größerer Menge im Blute auftreten, wenn die Bakteriolytine nicht vorher gebunden sind. Bei Cholera tritt eine Ueberschwemmung des Körpers mit Cholera vibriolen vom Darm aus nie ein. Sie können sich im Blute nicht lebend erhalten. Auch in den Geweben sind sie so wenig gefährlich, daß man dem Menschen zu Immunisierungszwecken lebende Cholera vibriolen injiziert hat. Bei Typhus werden die Bacillen allerdings regelmäßig im ganzen Körper verbreitet, finden aber im Blute keine Gelegenheit, sich zu vermehren. Nur in den Organen können sie sich bisweilen vermehren. Von Interesse ist, daß auch das Knochenmark zu den Organen gehört, in denen die Vermehrung öfters eintritt. Beim

Milzbrand ist es ganz anders. Von geringfügigen lokalen Affektionen gehen die Bacillen leicht über in die Blutbahn. Staphylokokken- und Streptokokkensepsis gehen sehr oft von äußerst kleinen, bisweilen völlig übersehenen Primärherden aus.

Stockholm, den 5. Juni 1905.

#### Literatur.

- 1) Lubarsch, O., Dieses Centralbl. Bd. VI. 1889. 2) Bail, O. u. Pettersson, A., Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. (Dieses Centralbl. Bd. XXXIII—XXXVI.) 3) Moxter, Dtsche med. Wochenschr. 1899. p. 687. 4) Schattenfroh, A., Arch. f. Hyg. Bd. XXXV. p. 184. 5) Ders., Arch. f. Hyg. Bd. XXXI. p. 27. 6) Metschnikoff, E., L'Immunité. p. 210. 7) Bordet, J. und Gengou, O., Annales de l'institut. Pasteur. T. XV. 8) Pettersson, Alfred, Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. p. 71. 9) Bail und Pettersson, Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 445. 10) van Leent, Dieses Centralbl., Abt. I. Bd. XXVIII. 11) Hankin, E. H., Dieses Centralbl. Bd. IX. 12) Ders., Dieses Centralbl. Bd. XII u. Bd. XIV. 13) Kanthack und Hardy, Proc. of the Royal Soc. London. Vol. LII. 1892. Philos. Transact. Vol. CLIV, II. 1894. 14) Vaughan und Mc Clintock, Med. News. 1893. 15) Kossel, A., du Bois-Reymonds Arch. f. Physiol. 1893. p. 164. 16) Denys et Kaisin, La Cellule. T. IX. 1893. 17) Denys et Havet, La Cellule. T. X. 1894. 18) Buchner, H., Münch. med. Wochenschr. 1894. p. 499. Dieses Centralbl. Bd. XVI. 1894. Hahn, M., Arch. f. Hyg. Bd. XXV. p. 133. 20) Schattenfroh, A., Arch. f. Hyg. Bd. XXXI u. XXXV. 21) Bail O., Arch. f. Hyg. Bd. XXXII. 22) Däubler, C., Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXV. 23) Landsteiner, Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXV. 24) Gruber, Münch. med. Wochenschr. 1901. 25) Ascher, L., Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 26) Wolff, A., Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 27) Moxter, Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXVI. 28) Bail, O., Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXVI. 29) Sobernheim, G., Immunität bei Milzbrand. (Kolle und Wassermanns Handbuch.) 30) Bail u. Pettersson, Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 31) Wright und Douglas, The Lancet 1904. Vol. II. p. 1138. 32) Bulloch und Aihin, Proc. of the Royal Soc. London. Vol. LXXIV. 1905. 33) Bulloch, Gazette. 1905. 34) Bail, O., Arch. f. Hyg. Bd. LII. 35) Pfeiffer und Friedberger, Dtsche med. Wochenschr. 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Experimentelle Untersuchungen über das Fortwuchern von Typhusbacillen in der Gallenblase.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees.]

Von Dr. Robert Doerr, k. und k. Regimentsarzt.

In einer vor kurzem erschienenen vorläufigen Mitteilung<sup>1)</sup> wurden die Resultate mehrerer Versuchsreihen angeführt, welche hier des Interesses wegen, das sie in klinischer und hygienischer Beziehung bieten, eingehender besprochen werden sollen.

Die Veranlassung zu diesen Experimenten bot, wie erwähnt<sup>2)</sup>, die genaue bakteriologische Untersuchung eines mit Steinbildung komplizierten Falles von Cholecystitis suppurativa, bei dem sowohl der Eiter als auch das Innere der Konkremeente enorme Mengen von Typhusbacillen in Reinkultur enthielt. Der Prozeß hatte sich etwa ein halbes Jahr nach einer leichten, nicht diagnostizierten Typhusattacke entwickelt;

1) Wiener klin. Wochenschrift. No. 33. 1905.

2) a. a. O.



da der Abgang von Konkrementen mit dem Stuhle im Spital festgestellt wurde, so kann kein Zweifel darüber bestehen, daß die völlig unverdächtige Patientin, wenn auch nicht kontinuierlich, so doch schubweise nach jedem Kolikanfalle durch geraume Zeit virulente Typhuskeime mit den Faeces ausgeschieden hatte.

Die Bedeutung solcher Beobachtungen liegt auf der Hand. Die Epidemiologie des Typhus abdominalis ist reich an Tatsachen, die bisher eine nur hypothetisch konstruierte, nicht aber eine auf exakte bakteriologische Untersuchungen und einwandfreie Versuche gestützte Erklärung fanden. Dahin gehört vor allem das zähe Festhalten des Typhus an bestimmten Lokalitäten (Ortschaften, Häusergruppen, Häusern), ferner die oft auffallend langen zeitlichen Intervalle, die zwischen den einzelnen Typhusfällen oder Typhusepidemien in einem Orte liegen, und endlich das Auftreten sporadischer, scheinbar autochthoner Erkrankungen inmitten einer völlig gesunden Umgebung. Alle diese Erscheinungen sind seit langem bekannt und von vielen Autoren festgestellt [Weichselbaum<sup>1)</sup>, Almquist<sup>2)</sup>]. Man berief sich auf die hohe Widerstandsfähigkeit der Typhusbacillen gegenüber den schädigenden Einflüssen der Außenwelt, auf die sogenannte Tenazität, die durch Laboratoriumsexperimente unter künstlichen, den Verhältnissen in der Wirklichkeit wenig oder gar nicht entsprechenden Bedingungen bewiesen werden sollte; dadurch sollten die Keime befähigt sein, eine jahrelange saprophytische Existenz im Boden, im Wasser etc. zu führen und unter günstigen Bedingungen Neuinfektionen zu veranlassen. Bei den sporadischen Fällen nahm man einfach an, daß Infektionsquelle und Infektionsweg sich der Wahrnehmung entzogen hatten. Allerdings hat sich in neuerer Zeit durch die bahnbrechenden Arbeiten Kochs und seiner Schüler auf diesem Gebiete ein völliger Umschwung vollzogen; die Bedeutung der Wasser- und Bodeninfektionen erscheint heute auf das richtige Maß reduziert und als Hauptfaktor bei der Propagation der Typhuskeime gilt die jedenfalls schon a priori viel natürlichere und verständlichere Kontaktinfektion, die direkte oder vermittelte Uebertragung des Virus vom Kranken auf den Gesunden. Das bakteriologisch völlig sichergestellte Vorkommen der „Bacillenträger“, d. h. solcher Personen, die monatelang nach überstandener Erkrankung noch Typhusbacillen im Stuhle ausscheiden, gestattete schließlich auch, das Auftreten von Typhusfällen nach langen Zeiträumen zu erklären.

Das Rätsel, das noch ungelöst blieb, waren aber diese „Bacillenträger“ selbst. Die permanente oder schubweise Elimination der spezifischen Keime mit dem Stuhle setzte eine beständige Regeneration derselben im Organismus voraus, welche nur die eine, wenig einleuchtende und zudem rein hypothetische Erklärung zuließ, daß die Typhusbacillen, einmal in das Darmlumen gelangt, sich dort ansiedeln, bei intakter Schleimhaut saprophytisch fortwuchern und gewissermaßen so wie das verwandte Coli-Bakterium einen Repräsentanten der harmlosen Darmflora bei Typhusrekonvaleszenten bilden, der erst nach langer Zeit, oft nach Jahren, verschwindet.

Solche Fälle, wie der eingangs erwähnte, eröffnen uns jedoch ein besseres Verständnis für die Vorgänge im Organismus der Bacillenträger.

1) Epidemiologie in Weyls Handb. d. Hygiene, 1899, p. 441.

2) Verhandlg. d. X. internat. med. Kongr. in Berlin, Bd. V. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt., Bd. II. Samml. klin. Vorträge, 1890.

Sie zeigen, daß die in die Gallenblase eingedrungenen Keime daselbst jahrelang fortwuchern und mit der Galle bei den Kontraktionen des Organs in das Darmlumen gelangen können. Von diesem Bacillenreservoir aus kann also geradezu durch unbegrenzte Zeit [Droba<sup>1)</sup> 17 Jahre, Writer<sup>2)</sup> 20 Jahre] eine beständige Reinfektion der Faeces erfolgen.

Damit wären dann auch die epidemiologischen Verhältnisse beim Typhus lückenlos geklärt, besonders wenn der Nachweis gelingt, daß die Invasion der Keime in die Gallenblase und ihr Fortvegetieren daselbst nicht etwa einen exzeptionellen Fall, sondern ein relativ häufiges Ereignis darstellt.

Ueber die Konstanz des Auftretens von Typhusbacillen in der Gallenblase nun sind wir seit langem unterrichtet; schon 1888 haben Anton und Fütterer<sup>3)</sup> diesen Befund an Typhusleichen erhoben, spätere Autoren [Chiari<sup>4)</sup>, Chiari und Kraus<sup>5)</sup>, Blackstein und Welch<sup>6)</sup>] konnten die Typhuskeime häufig, Kanthack<sup>7)</sup> und Drigalski<sup>8)</sup> stets in der Galle nach typhöser Infektion vorfinden. Der Weg, auf dem die Bacillen dahin gelangen, war allerdings bisher ungeklärt.

Auch die Tatsache, daß sich die eingedrungenen Keime im Gallenblaseninhalte sehr lange lebend erhalten und zu lokalen Entzündungen teils leichter katarrhalischer<sup>9)</sup>, teils schwerer eitriger oder nekrotisierender<sup>10)</sup> Natur Veranlassung geben können, wird vielfach berichtet. Neufeld<sup>11)</sup> erwähnt nun in seiner Monographie über den Abdominaltyphus, daß „Blackstein und Welch<sup>12)</sup> für diese merkwürdige klinische Tatsache auch eine experimentelle Analogie erhalten haben wollen; sie geben an, bei einigen intravenös mit Typhusbacillen injizierten Kaninchen noch lange Zeit, bis zu 128 Tagen nach der Injektion, die Bacillen in der Galle gefunden zu haben, während alle anderen Organe steril waren“. Die Publikationen von Blackstein und Welch enthalten bestimmte und bemerkenswerte Angaben. Sie hatten am 13. März 1891 einem Kaninchen von 1370 g intravenös 0,5 ccm einer 48-stündigen Typhusbouillonkultur injiziert. Das Tier bot keine spezifischen Symptome und wurde am 18. Juli zu einem anderen Experimente benutzt, nämlich zur subkutanen Injektion von Schweinepestbacillen. Nach 18 Stunden verendete das Tier. Bei der Autopsie enthielt nun das Blut und die verschiedenen Organe in großer Anzahl die kleinen, ovalen, polar gefärbten Schweinepestbacillen, in der Galle fanden sich dagegen nur kurze, ziemlich plumpe Stäbchen mit allen morphologischen und kulturellen Merkmalen des Typhusbacillus. Die Galle war frei von Gallenpigment, stellte eine dicke, graue, rahmige Masse dar; die Gallenblase war klein, kontrahiert, ihre Wände grauweiß, opak, sehr dick (0,75 mm). Die Bacillen,

- 1) Wiener klin. Wochenschr. 1899.
- 2) Johns Hopk. Hosp. Bull. 1899.
- 3) Münch. med. Wochenschr. 1888.
- 4) Prager med. Wochenschr. 1893.
- 5) Zeitschr. f. Heilk. Bd. XVIII. Heft 5 und 6.
- 6) Johns Hopk. Hosp. Bull. June 1899.
- 7) Baumgartens Jahresber. 1897.
- 8) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. 1904.
- 9) Ryska, Münch. med. Wochenschr. 1899.
- 10) Literatur bei Neufeld, Handb. d. path. Mikroorg. Bd. II. Ehret und Stolz, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. III, VII u. VIII. Humer, Johns Hopk. Hosp. Bull. 1899.
- 11) a. a. O.
- 12) Johns Hopk. Hosp. Bull. 1899.

die neben reichlichen, desquamierten Cyliinderepithelien in den Deckglaspräparaten sichtbar waren, erschienen nach Form und Färbbarkeit, wie aus dem Texte zu entnehmen, gut erhalten und waren unbeweglich. Doch gewannen sie bei Bouillonzusatz und Bruttemperatur ihre Motilität bald wieder. In einer anderen Arbeit Blacksteins wird über mehrere Kaninchen berichtet, welche mit Typhus- und Coli-Bouillonkulturen intravenös injiziert wurden. Bei einem Teile der später getöteten Tiere konnten die eingespritzten Bacillen in der Galle bis zu 109 Tagen nachgewiesen werden, während die anderen Organe um diese Zeit bereits steril waren. Bei anderen Kaninchen ergab die Untersuchung auch nach viel kürzeren Intervallen ein negatives Resultat (?). Nicht vorbehandelte Tiere hatten eine keimfreie Galle. Die Gallenblase wies meist verdickte Wände auf, ihr Inhalt war trübe, gelbweiß, frei von Gallenpigment, zuweilen rahmig eingedickt. Die Kulturen waren nach den damaligen Methoden, also lediglich kulturell, genauestens geprüft worden.

Eine neuerliche Durchführung dieser Experimente versprach mir Aufklärung über die hier in Betracht kommenden Fragen. Zunächst sollte eruiert werden, ob der Uebertritt der Typhusbacillen in die Gallenblase bei intravenösen Injektionen (in die Ohrvene) konform den Angaben Blacksteins und Welchs tatsächlich erfolgt, ob diese Erscheinung konstant ist, oder ob die Individualität des Versuchstieres, die Menge der injizierten Keime etc. hier eine Rolle spielt und schließlich, ob man nicht bei einem anderen Infektionsmodus dasselbe Resultat erhält. Zu diesem Zwecke wurde folgender Versuch angestellt:

Kaninchen 1. 1130 g.  $\frac{1}{4}$  Normalöse Typhusagarkultur (24-stündig) am 15. März intravenös injiziert. Nach 48 Stunden getötet. In der Galle zahlreiche Typhusbacillen.

Kaninchen 2. 1570 g.  $\frac{1}{8}$  Normalöse Typhuskultur am 15. März. Nach 24 Stunden getötet. In der Galle zahlreiche Typhusbacillen.

Kaninchen 3. 2000 g. 2 Oesen intravenös am 15. März. Nach 24 Stunden reichliche Keime in der Galle.

Kaninchen 4. 1370 g. 1 Oese Typhuskultur subkutan. Nach 48 Stunden Galle steril.

Kaninchen 5. 1020 g. 2 Oesen subkutan. Nach 4 Tagen Galle steril.

Kaninchen 6. Mit Schlundsonde 30 ccm 24-stündiger Typhusbouillonkultur am 16. März dem 1870 g schweren Tier in den Magen eingeführt. Am 17. März durch Nackenschlag getötet. Galle steril. Typhuskeime im Magen- (und Dünndarm-)Inhalte nachweisbar.

Kaninchen 7. 2050 g. Am 18. März 30 ccm Typhusbouillonkultur stomachal. Am 21. März getötet. Galle steril. Typhusbacillen im Magen und Darm nicht mehr nachweisbar (Drigalski-Platte ohne Anreicherung).

Kaninchen 8 und 9 wurden peritoneal mit  $\frac{1}{2}$  Oese und 2 Oesen infiziert, 8 nach 24, 9 nach 48 Stunden getötet, die Galle in beiden Fällen steril.

Die gewonnenen Kulturen wurden natürlich stets sorgfältig, auch durch Agglutination mit hochwertigem Immuserum (1:20000) identifiziert. Die Galle nicht behandelter, gesunder Tiere (Kaninchen) erwies sich bei 5 ad hoc durch Nackenschlag getöteten Exemplaren stets als keimfrei. Damit war der Nachweis geliefert, daß lebende Typhusbacillen wirklich in der Gallenblase auftreten und zwar ausschließlich nach Einbringung in die Blutbahn. Diese Bedingung ist nun beim menschlichen Abdominaltyphus ganz regelmäßig erfüllt. Wir wissen heute, daß die Typhusbacillen besonders während der Eruptionszeit der Roseolen konstant wahrscheinlich durch den Lymphapparat ins Gefäßsystem eindringen und daß die negativen Ergebnisse früherer kultureller Blutuntersuchungen lediglich auf eine mangelhafte Technik oder die Wahl eines ungünstigen Zeitpunktes (fieberfreie Zeit) zurückgeführt werden müssen. Mit den

verbesserten Methoden der letzten Zeit konnte z. B. Castellani in 14 Fällen 12, Schottmüller in 50 Fällen 40, und ein zweites Mal in 69 58 positive Resultate<sup>1)</sup> erhalten. Dabei sind es nicht etwa nur besonders schwere Typhen, in deren Verlauf diese Bakteriämie zustande kommt, sondern nachgewiesenermaßen auch alle Fälle mit mildem, abortivem Verlauf, zu welchen ja auch der von mir beschriebene zählt. Dieser Punkt ist in doppelter Hinsicht von Bedeutung. Einerseits entziehen sich solche Patienten meist der Aufmerksamkeit des Arztes und wird daher die Desinfektion der Stühle, die nach modernen Prinzipien auch in der Rekonvaleszenz zu erfolgen hat und zwar bis zum völligen Verschwinden der Bacillen aus den Faeces, unterbleiben. Es ist klar, daß nur eine solche fortgesetzte Desinfektion der Abgänge imstande ist, die von der infektiösen Galle der Genesenen her drohenden Gefahren zu beseitigen. Andererseits ist die Festlegung der Tatsache, daß die Typhusbakteriämie und folglich auch die Invasion der Keime in die Gallenblase in leichten und leichtesten Fällen ebenso zu stande kommt, wie in schweren, noch in anderer Hinsicht von prinzipieller Wichtigkeit. Wird die vorausgegangene typhöse Infektion übersehen, und es muß jeder zugeben, daß das sehr leicht möglich ist, und findet man dann in der Galle solcher Personen die spezifischen Keime, so könnte sich die Anschauung entwickeln, daß das Auftreten von Typhusbacillen in der Gallenblase gar nicht an einen vorausgegangenen Typhus gebunden ist, sondern daß ein Gesunder oder besser gesagt Nichttyphöser zum „Bacillenträger“ werden kann. In der Tat sind derartige Fälle beschrieben. Nicht immer liefert die mit dem Serum angestellte Agglutinationsprüfung einen Aufschluß wie in dem eingangs erwähnten und bereits ausführlich beschriebenen<sup>2)</sup> Falle. Hier betrug das Intervall zwischen Typhuserkrankung und Blutuntersuchung nur 9 Monate. Verstreichet ein längerer Zeitraum, wie bei F a i t o u t - R a m o n d<sup>3)</sup> 6 Jahre, dann kann das Serum des Patienten jede agglutinierende Fähigkeit verloren haben, ohne daß man zu dem Schlusse berechtigt wäre, daß das Individuum nie an Typhus gelitten hat. Die Anwesenheit der Typhusbacillen in der Galle vermag nämlich — wie noch gezeigt werden soll — nicht, den agglutinatorischen Titre des Blutes zu erhalten.

Es ist auch schwer vorstellbar, wie Typhusbacillen in die Gallenblase eines gesunden Individuums gelangen sollen. Die oben beschriebenen Versuche, die als *conditio sine qua non* des Eindringens von Bacillen in das Organ ihr Kreisen in der Blutbahn ergaben, widersprechen direkt einer solchen Annahme. Daß mit der Nahrung aufgenommene Typhuskeime aus dem Darm (durch den Ductus choledochus) in die Gallenblase gelangen, ohne an der Darmschleimhaut die typischen Läsionen zu setzen, und dann im Inhalte derselben in Reinkultur gefunden werden, ist unwahrscheinlich. Um über diesen Punkt und den Weg, den die Bacillen vom Blute aus einschlagen, um in das Innere der Blase zu gelangen, ins klare zu kommen, wurde bei zahlreichen Tieren teils der Ductus choledochus, teils der D. cysticus unterbunden und nach 3—5 Tagen eine Dose lebender Typhusagarkultur ( $\frac{1}{2}$ —1 Oese) intravenös injiziert. Nach 24 Stunden wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet, und die mit sterilen Glaskapillaren entnommene Galle kulturell (Anreicherung

1) Zit. nach Neufeld. Handb. d. path. Mikr. Bd. II.

2) a. a. O.

3) Compt. rend. de la Soc. de Biolog. 1896.

in Bouillon und Drigalski-Platten) untersucht. Zwischen Operation und Injektion wurde absichtlich ein längeres Intervall eingeschaltet, um den Tieren (Kaninchen) Zeit zur Erholung zu lassen, hauptsächlich aber, um einen direkten Uebertritt der Keime aus eröffneten Gefäßen in das Innere der Gallenblase zu verhüten. Es seien hier 2 dieser Versuche angeführt:

Kaninchen 10. 3000 g. Am 20. April den *D. cysticus* in Morphiumnarkose doppelt unterbunden, zwischen den Ligaturen durchtrennt. Am 25. April 1 Oese Typhusagarkultur intravenös injiziert. 26. April durch Nackenschlag getötet. Galle steril.

Kaninchen 11. 2700 g. Am 20. April den *D. choledochus* doppelt unterbunden. Am 22. April 8 Uhr früh  $\frac{1}{2}$ , Oese Typhuskultur intravenös. † 22. April 5 Uhr p. m. Galle enthält zahllose Typhusbacillen. Hier müßte das Intervall kürzer gewählt werden, weil bei der Unterbindung Gefäße mitgefaßt werden (*Art. hepatica*); infolgedessen entstehen rasch umfangliche Nekrosen der Leber, die den Tod der Tiere in ca. 3 Tagen herbeiführen.

Es kann danach als gesichert gelten, daß die injizierten Bakterien in der Leber in das Gallensekret übertreten [was übrigens durch die Versuche von Biedl und Kraus<sup>1)</sup>, Fütterer<sup>2)</sup> und Pawlowsky<sup>3)</sup> bereits einwandfrei erwiesen wurde] und mit der Galle in die Gallenblase gelangen. Daher verhindert die Unterbindung des *D. cysticus*, nicht aber die des *D. choledochus* die Invasion. Auch zeigte sich (s. o.) bei stomachaler Einverleibung nie ein Uebertritt von Typhuskeimen in die Galle.

Wie lange die Bacillen brauchen, um, vom Momente des Einbringens in die Gefäßbahn an gerechnet, in der Gallenblase zu erscheinen, wird natürlich von der zeitlich und individuell variierenden Geschwindigkeit der Lebersekretion abhängen. Die folgende Versuchsreihe sollte auch nicht das Minimum ermitteln, sondern nur ungefähr darüber orientieren, nach welcher Zeit man erwarten darf, die eingespritzten Keime in der Gallenblase anzutreffen.

Es wurden 6 Kaninchen mit je 2 Oesen Typhusagarkultur zur selben Zeit intravenös injiziert und nach Intervallen von je 2 Stunden durch Nackenschlag getötet. Die mit sterilen Kapillaren entnommene Galle wurde in Bouillon eingesät (je 1 cem), um vereinzelte Bacillen durch Anreicherung zu eruieren; eine Oese auf Drigalski-Agar gebracht, um über die Keimzahl Aufschlüsse zu erhalten (+ bedeutet mäßig reichliche, ++ sehr reichliche Keime).

Kan. No.	getötet nach	Blut	Harn	Galle
43	2 Stunden	++	⊖	⊖
44	4 "	+	⊖	⊖
45	6 "	+	⊖	⊖
46	8 "	+	⊖	+
47	10 "	+	⊖	++
48	12 "	+	⊖	++

Die weiteren Untersuchungen bezogen sich auf die Dauer des Fortwucherns der Typhusbacillen in der Gallenblase. Am 28. März wurde eine Serie von 10 Kaninchen mit je 2 Oesen lebender 24-stündiger Typhusagarkultur intravenös injiziert und nach verschiedenen Zeiträumen durch Nackenschlag getötet. Blut, Harn und Galle wurden in der eben geschilderten Art auf ihren Gehalt an Typhuskeimen geprüft. Von der Leber, dem Knochenmark, der Niere, der Milz, ferner vom Inhalte des

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVI. 1897.

2) Berl. klin. Wochenschr. 1899.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIII. 1900.

Duodenums und der tieferen Darmabschnitte wurden unter Einhaltung aller Kautelen Teilchen auf Drigalski-Platten verstrichen, andere Partikelchen in Bouillon gebracht; blieben die Platten steril und zeigten die Bouillonröhrchen Wachstum, so wurden mit einer Oese der Bouillonkultur Verdünnungen auf Drigalski-Agar angelegt. Alle aus den Organen gewonnenen Typhuskulturen wurden durch die Agglutination mit hochwertigem Serum identifiziert. Stets wurde auch der agglutinatorische Titre des Serums der getöteten Kaninchen festgestellt. Ueber die Details gibt folgende Tabelle Aufschluß.

Tabelle 1.

Kan. No.	Lebensdauer nach der Injektion	Galle	Blut	Harn	Leber	Knochenmark	Milz	Darm	Agglut.-Titre des Blutes
26	4 Tage	++	spärl.	spärl.	++	++	spärl.	—	—
130	7 "	++	⊖	⊖	++	+	⊖	⊖	1:1000
140	10 "	++	⊖	⊖	++	⊖	⊖	⊖	1:1600
52	14 "	++	⊖	++	+	⊖	⊖	⊖	1:3200
53	21 "	++	⊖	spärl.	⊖	⊖	⊖	spärl. (Duoden.)	1:3200
54	33 "	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	+	1:1600
55	40 "	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	(Duoden.) ⊖	1:1600
56	54 "	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	1:400
59	100 "	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	1:100
80	120 "	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	++ (Duoden. und unt. Dünnd.)	1:100

Anmerkung: — = nicht untersucht, ⊖ = keine, + = mäßig reichliche ++ = reichliche Typhusbacillen.

Es konnten, also noch nach 120 Tagen, reichliche Typhusbacillen im Gallenblaseninhalte nachgewiesen werden und sehr wahrscheinlich würde eine weitere Ausdehnung der Versuchsreihe noch höhere Ziffern ergeben haben. Es zeigte sich aber, daß der Befund nur bis zu einer gewissen Grenze konstant bleibt und daß von hier ab die Keime nicht bei allen Tieren (siehe No. 59) mehr nachweisbar sind. Vielleicht hängt dieses verschiedene Verhalten davon ab, ob die Invasion der Keime für die Gallenblasenwand unschädlich bleibt oder nur vorübergehende Störungen verursacht, oder ob sich krankhafte, durch den Typhusbacillus verursachte Prozesse chronischer Natur entwickeln; diese Vermutung fände auch eine Stütze in den beim Menschen gemachten Erfahrungen, wo die Typhusbacillen nach längerer Zeit meist in Gallenblasen konstatiert wurden, die pathologische Veränderungen (Cholecystitis, Cholelithiasis) aufwiesen. Auch das Experiment drängt zu dieser Annahme. Kan. No. 59 hatte eine Blase von normalen Dimensionen, die Wand war dünn, die Schleimhaut zart, der Inhalt völlig klar, lichtgrün. No. 80 mit positivem Bacillenbefund hatte eine enorm ausgedehnte Gallenblase mit verdickten Wandungen, die Schleimhaut war sammetartig aufgelockert, der Inhalt schleimig, von konsistenten Eiterflocken durchsetzt und von gelblichweißer, völlig pigmentloser Farbe.

Völlig ohne Reaktion der Mucosa scheint sich allerdings die Invasion der Typhuskeime nie zu vollziehen. Schon nach 2 Tagen (Versuch nicht in der Tabelle) ist die Galle pigmentfrei, von Eiterflocken durchsetzt,

die Blase ausgedehnt, ihre Wand verdickt. Diese Cholecystitis fand sich bei 26, 130, 140, 52, 53, 54, 55, nicht mehr aber bei 56 und 59. Sie klingt also offenbar in manchen Fällen (beim Kaninchen) wieder ab und dann scheinen auch die Bacillen zu verschwinden. Bleibt sie bestehen (No. 80), so erhalten sich auch die Typhuskeime. Leichte, mehr katarrhalische Cholecystitiden scheinen sich im Verlaufe oder im Anschlusse an den Typhus auch beim Menschen oft zu entwickeln [Ryska<sup>1)</sup>], während die schweren eitrigen oder nekrotisierenden Entzündungen doch zu den Seltenheiten gehören. Liegen die Verhältnisse im menschlichen Organismus so wie im Kaninchenkörper, so wird also nur eine Minderzahl von Typhusrekonvaleszenten zu „Bacillenträgern“ aus den angedeuteten Gründen.

Bemerkenswert ist, daß sich bei einem Tier (No. 55) zwei linsengroße, grüne Konkreme in der Gallenblase vorfanden, ein Befund, den Verf. bei gesunden Kaninchen niemals erheben konnte. Soweit bei der Kleinheit des Objektes festzustellen, enthielt ihr Inneres reichliche Mengen von Typhuskeimen (kulturell, daher Möglichkeit einer Verunreinigung durch anhaftende Galle). Nun sind auch in den meisten Fällen beim Menschen Steine in der Gallenblase gefunden worden, wenn die Typhusbacillen längere Zeit nach abgelaufenem Typhus in der Galle nachweisbar waren. Meist dürfte allerdings die Steinbildung längere Zeit vorher schon bestanden haben, wie sicher in dem in der Wien. klin. Wochschr. No. 34 beschriebenen Fall. Vielleicht kann aber die Entwicklung der Konkreme auch direkt mit der typhösen Infektion des Blaseninhaltes zusammenhängen. Die sich regelmäßig (?) entwickelnde Cholecystitis gibt Gelegenheit zur Inkrustation von Schleim- oder Eiterflocken; es könnte aber auch eine direkte Inkrustation der Bacillen erfolgen. Diese liegen, wie man sich leicht im Deckglaspräparat überzeugen kann, infolge der agglutinierenden Wirkung der Galle in enormen Haufen beisammen, so daß man denselben Eindruck erhält, wie von einem Präparat aus einer agglutinierten Bouillonkultur. Diese Bakterienklumpen sind oft makroskopisch bereits sichtbar und die Möglichkeit, daß sie den Kern für eine Steinbildung abgeben können, ist gewiß nicht von der Hand zu weisen.

Richardson<sup>2)</sup> will sogar durch Injektion bereits agglutinierter Typhusbacillen in die Gallenblase eines Kaninchens experimentell die Steinbildung erzeugt haben.

Daß es sich in den vorliegenden Versuchen um ein effektives Wuchern der Typhusbacillen im Gallenblaseninhalte und nicht etwa um eine fortgesetzte Neueinschleppung derselben von irgend einem anderen Depot aus handelt, ergibt sich aus der Tatsache, daß bereits nach zwei Wochen sowohl das Herzblut als sämtliche Organe keimfrei sind (siehe Tabelle) und daß nach weiteren 8 Tagen auch die bei einzelnen Tieren zu beobachtende Bakteriurie sistiert. Aus dem Blute und den meisten inneren Organen, besonders auch der Milz, verschwinden die Typhusstäbchen übrigens viel rascher, schon nach 5—6 Tagen, nur in der Leber und in zweiter Linie im Knochenmark verweilen sie, wie erwähnt, etwas länger; schließlich sind sie aber auch hier nicht mehr anzutreffen, und es folgt nun eine lange Periode, während welcher eben nur das Innere der Gallenblase bacillenhaltig ist.

1) Münch. med. Wochenschr. 1899.

2) Ref. Baumgartens Jahresber. 1899.

Daß mit der Galle schubweise Bacillen auch in das Darmlumen gelangen müssen, ist ja selbstverständlich, ebenso wie der Umstand, daß ihr Nachweis beim Kaninchen im obersten Dünndarm, dessen Inhalt bei aërober Züchtung auf Drigalski-Platten bei normalen Tieren fast stets steril ist, leichter gelingt, als in den tiefen Darmpartieen, wo die spezifischen Keime eine erhebliche Verdünnung und Vermengung mit anderen Arten (besonders Coli) erfahren haben. Da nun die Typhusbacillen in den Darm entleert werden, so kann es sich nicht um eine bloße Konservierung derselben in der Galle handeln; wir müssen vielmehr ein beständiges, ziemlich lebhaftes Vegetieren der eingedrungenen Stäbchen annehmen<sup>1)</sup>. Offenbar kann selbst nach ausgiebiger Entleerung der Gallenblase (Kolikanfälle beim Menschen) eine Regeneration der Typhusbacillen von einzelnen in Schleimhautrecessus, Drüsenmündungen oder Konkrementen zurückgebliebenen Exemplaren aus erfolgen. Vielleicht ist es eben die fortwährende Erneuerung des Nährsubstrates durch frisches Schleimhautsekret oder zuströmende Galle, die ein beständiges Fortwuchern der Bacillen ermöglicht und verhindert, daß das Wachstum etwa wie in einer Bouillonkultur nach einiger Zeit zum Stillstande kommt. Die Galle (sowohl beim Kaninchen als auch beim Menschen) muß jedenfalls ein vorzüglicher Nährboden für Typhusbacillen sein. Es hebt auch Drigalski<sup>2)</sup> hervor, daß sie (die Typhusbacillen) „sowohl in Menschen- wie in Ochsen-galle zwar langsam, aber stetig und besser als die meisten anderen (z. B. B. coli) wuchern, so daß man sie selbst bei Einsaat von Bakteriengemischen nach einmaliger Einimpfung noch wochenlang findet“ und stellt weitere Untersuchungen über diesen Gegenstand in Aussicht.

Soweit es zur Klärung und zum Verständnis der Frage notwendig war, wurden auch im obigen Laboratorium derartige Versuche angestellt. Es zeigte sich, daß die Typhusbacillen nicht nur in reiner, steriler Menschen- oder Tiergalle oder auf stark gallehaltigen Nährböden (Gallenbouillon, Gallenagar) vorzüglich gediehen, sondern auch sehr lange (bisher über 5 Monate) lebensfähig blieben, wobei die Zahl der entwicklungsfähigen Keime (im Gegensatz zu den alten Agarkulturen) nur wenig abgenommen hatte. Auf Gallenagar waren ferner Typhuskolonien in derselben Zeit ca. doppelt so groß, als gleichzeitig auf dieselbe Platte geimpftes Coli. Von einer bakteriziden Wirkung der normalen Galle kann also wenigstens für die Typhus-Coli-Gruppe keine Rede [Talm a<sup>3)</sup>] sein. Allerdings handelt es sich nicht um normale Galle; die Typhusbacillen wuchern bei Mensch und Kaninchen im immunen Körper und sollte man daher, so wie im Blute, auch in der Galle bakterizide Stoffe vermuten, um so mehr, als ja die agglutinierende Fähigkeit solcher Gallen ziemlich beträchtlich ist (Verklumpung der Stäbchen). Es wurde nur ein Versuch in dieser Richtung angestellt; in mit Immungalle (1:4) versetzter Bouillon trat lebhafte Entwicklung von Typhusbacillen ein, keine Spur von Wachstumshemmung oder Keimzerstörung. Weitere Experimente wurden nicht angestellt, weil sie ohnehin nur rein theoretisches Interesse haben, und ein zu großes Tiermaterial erfordert hätten. In vitro war jedenfalls von einer destruirenden Wirkung der Galle nichts zu bemerken; wie solche Galle etwa im Meerschweinchenperito-

1) Dafür spricht auch, daß in Deckglaspräparaten aus solchen Gallen die Stäbchen morphologisch und tinktoriell gut erhalten sind, wie in einer jungen Kultur.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. p. 790.

3) Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. XLII. 1901. p. 354—370.)



neum wirkt, ist wohl für die vorliegende Frage irrelevant. Die im flüssigen Inhalte der Gallenblase suspendierten Bacillen befinden sich eher unter Verhältnissen, die denen *in vitro*, als denen in der Bauchhöhle von Meerschweinchen ähneln.

Schließlich sei noch das Verhalten der Agglutination speziell bei Kan. No. 59 und No. 80 hervorgehoben. Geht schon aus der Tabelle (bei 54, 55 und 56) ohnedies hervor, daß die Anwesenheit der Keime in der Galle die agglutinierende Fähigkeit des Blutes nicht zu erhalten vermag, so zeigt sich bei diesen zwei Tieren besonders deutlich, daß der Titre nur von dem zeitlichen Intervall zwischen Injektion und Untersuchung, nicht aber von der Fortexistenz der Typhuskeime in der Galle abhängt.

Um zu eruieren, ob das geschilderte Verhalten nur bei Typhusbacillen in Erscheinung tritt oder auch bei anderen verwandten Arten, wurden ferner intravenöse Injektionen mit einer Oese Agarkultur von menschlichem Darmcoli, von Paratyphusbacillen (Typus A und B) und Flexnerschen Ruhrstäbchen vorgenommen und die Kaninchen nach 24 Stunden, 4 Tagen und zwei Wochen getötet. Die in der schon geschilderten Art vorgenommene Untersuchung ergab, wie Tabelle 2 zeigt, daß tatsächlich auch die mit dem Typhusbacillus verwandten Arten nicht nur in die Gallenblase gelangen, das wird (siehe Biedl und Kraus l. c.) wohl bei den meisten im Blute zirkulierenden und daher in der Leber ausgeschiedenen Keimen der Fall sein, sondern daß speziell Coli- und Paratyphus-Arten, nicht aber Ruhrstäbchen ganz wie der *Bacillus typhi* im Gallenblaseninhalte fortwuchern zu einer Zeit, wo die Keime aus dem Blute und sämtlichen Organen bereits eli-

Tabelle 2.

Kan. No.	Injiziert	Lebensdauer	Blut	Harn	Leber	Milz	Knochenmark	Galle
100	Paraty A	1 Tag	+	⊖	+	+	+	++
101		4 Tage	⊖	⊖	+	+	+	++
102		14 „	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	++
103	Paraty B	1 Tag	+	⊖	-	+	+	⊖
104		4 Tage	+	⊖	+	+	+	++
105		14 „	⊖	⊖	+	⊖	⊖	++
106	Coli	1 Tag	+	⊖	+	+	+	+
107		4 Tage	⊖	⊖	+	+	+	++
108		14 „	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	++
109	Flexner	1 Tag	⊖	⊖	+	+	+	++
110		4 Tage	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
111		14 „	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

miniert sind. Das ist insofern von Bedeutung, als bei Colibacillosen und Paratyphuserkrankungen gleichfalls Bakteriämie entsteht, so daß also Gelegenheit zur Entstehung von Cholecystitiden einerseits, zur Infektion der Faeces mit Paratyphuserregern andererseits geboten sein wird. In der Tat konnten Paratyphusbacillen sowohl vom Typus A [H. Kayser<sup>1)</sup>] als vom Typus B [Forster und Kayser<sup>2)</sup>] bereits in der Galle nachgewiesen werden.

Forster und Kayser haben übrigens (a. a. O.) auf Grund ähnlicher Versuchsanordnungen gleiche Schlüsse wie Verf. für die Patho-

1) Deutsche med. Wochenschr. 1904.

2) Münch. med. Wochenschr. 1905.

genese der Cholecystitis gezogen und an der Hand ihrer ausgedehnten Leichenuntersuchungen und der Resultate ihrer Experimente die nämliche Erklärung der „Bacillenträger“ gegeben. Die vor kurzem und knapp nach Abschluß meiner Versuche erschienene ausführliche Arbeit erfährt nun, wie ich glaube, durch die vorliegende Mitteilung nicht nur eine in dieser wichtigen Frage erwünschte Bestätigung, sondern vielleicht auch manche Erweiterung. Ich hielt daher die Publikation meiner Versuchsergebnisse für gerechtfertigt.

Wie Forster und Kayser sich mit der für die Typhusbekämpfung überaus wichtigen Frage befaßten, ob und durch welche Mittel eine Beseitigung oder Vernichtung der infektiösen Keime im Gallenblaseninhalte des Menschen gelingt, so wurden auch hier derartige Experimente, leider mit völlig negativem Resultate unternommen. Am meisten versprach noch das Urotropin, daß beim Menschen und, wie auch unsere Versuche zeigten, in gleicher Weise beim Kaninchen, den Harn so prompt von Bacillen befreit. Aber weder die stomachale Einverleibung noch die fortgesetzte tägliche intravenöse Injektion selbst hoher Dosen beeinflusste den Gehalt des Gallenblaseninhaltes an Typhusbacillen im mindesten. Ueber Versuche mit cholagogen Mitteln soll später berichtet werden. Vorläufig sind wir wohl auf die sorgfältige bakteriologische Untersuchung der Stühle von Typhusrekonvaleszenten und die Desinfektion derselben, solange sie spezifische Keime enthalten, angewiesen.

Herrn Dozenten Dr. C. Sternberg sage ich für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse und ihre vielfache Förderung meinen besten Dank.

Wien, August 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Erhöhung der Leistungsfähigkeit des Endoschen Fuchsinagars durch den Zusatz von Koffein.

Von Dr. med. **Walter Gaetgens**,

Assistenten an der bakteriologischen Anstalt für Typhusbekämpfung zu Straßburg i. E.

Bei dem dringenden Bedürfnis, die bakteriologische Typhusdiagnose durch den Nachweis der Eberthschen Bacillen in den Entleerungen der Kranken möglichst frühzeitig zu stellen, ist im Laufe der letzten Jahrzehnte eine Reihe von Methoden zur Erreichung dieses Zieles ausgearbeitet worden. Ohne auf die älteren derselben einzugehen, möchte ich gleich die in neuester Zeit angegebenen Verfahren erwähnen, welche einerseits lediglich eine Vervollkommnung des einfachen Plattenverfahrens anstrebten, andererseits durch eine vorausgehende Anreicherung den Nachweis der Typhusbacillen zu erleichtern suchten. Von den ersteren sind vor allen Dingen die Anwendung des Lackmusmilchzuckeragars (v. Drigalski und Conradi)<sup>1)</sup> und des Fuchsinagars (Endo)<sup>2)</sup> als Nährboden zu nennen, von letzteren die Vorkultur auf Malachitgrünagar

1) v. Drigalski u. Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweise der Typhusbacillen. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XXXIX.)

2) Endo, Ueber ein Verfahren zum Nachweise der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. 1903.)

(Lentz und Tietz)<sup>1)</sup> und die Anreicherung in Koffeinbouillon (Ficker und Hoffmann)<sup>2)</sup>.

Während nun die Grenzen, welche dem einfachen Plattenverfahren gezogen sind, sich als recht beschränkt erwiesen haben, wie aus den zahlreichen vergleichenden Untersuchungen Klingers<sup>3)</sup> hervorgeht, konnte mit Hilfe der letztgenannten Methoden eine wesentliche Verbesserung der Resultate erzielt werden. Nach den Angaben Klingers konnten die Typhusbacillen nachgewiesen werden durch den Lackmusagar in 34,3 Proz. der Fälle, durch den Fuchsinagar in 42,9 Proz., mit der Anreicherungsflüssigkeit nach Ficker und Hoffmann in 58,9 Proz. und durch die Vorkultur auf Malachitgrünagar in 68,6 Proz. Diese Zahlen beweisen zur Genüge, daß gegenüber dem einfachen Plattenverfahren in der Tat ein bedeutender Fortschritt gemacht worden war. Allein bei der praktischen Anwendung, zumal wenn es sich um größere Mengen von täglich einlaufendem Untersuchungsmaterial handelt, haben sich doch auch die unleugbaren Nachteile dieser Methoden gezeigt. Die Anreicherung mit Koffeinbouillon ist in ihrer Ausführung ein recht mühsames, zeitraubendes Verfahren, die Vorkultur auf Malachitgrünagar ermöglicht die bakteriologische Typhusdiagnose erst nach Verlauf von ca. 48 Stunden, also einer noch einmal so langen Zeit wie das einfache Plattenverfahren.

Es lag mithin der Gedanke nahe, die Prinzipie beider Richtungen miteinander zu verbinden durch den direkten Zusatz eines Mittels, welches die Coli-Bakterien in ihrem Wachstum hemmt, zu den gewöhnlichen Endoschen bzw. v. Drigalskischen Agarplatten. Die Forderungen, welche an ein solches Verfahren gestellt werden mußten, waren einfache Ausführung, mindestens gleiche Leistungsfähigkeit wie die oben genannten Anreicherungsverfahren und die Möglichkeit, schon nach ca. 24 Stunden die Diagnose stellen zu können. An die Lösung dieser Frage trat ich mit Einwilligung von Herrn Prof. Forster im Februar dieses Jahres heran und habe dann, nachdem die Vorversuche ein positives Resultat ergeben hatten, eine Reihe von Faecesuntersuchungen ausgeführt, um einen Maßstab über die praktische Anwendbarkeit meines Verfahrens zu erhalten.

Ich benutzte bei meinen Versuchen chemisch reines, kristallinisches Koffein, welches ich zunächst in verschieden abgestuften Dosen dem Fuchsinagar von Endo hinzufügte. Die Vorzüge des letzteren vor dem Lackmusmilchzuckeragar sind in letzter Zeit mehrfach der Gegenstand der Erörterung einiger Autoren<sup>4)</sup> gewesen, so daß ich mich zur Rechtfertigung meiner Wahl auf wenige Worte beschränken kann. Der Endosche Nährboden bietet, abgesehen von der einfacheren und billigeren Herstellung, die Möglichkeit, auch bei künstlichem Lichte zu arbeiten,

1) Lentz u. Tietz, Eine Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbacillen. (Münch. med. Wchnschr. 1903. No. 49.)

2) Ficker u. Hoffmann, Ueber neue Methoden des Nachweises von Typhusbacillen. (Hyg. Rundschau. Bd. XIV. 1904.)

3) Klinger, Ueber neuere Methoden zum Nachweise des Typhusbacillus in den Darmentleerungen. [Diss.] Straßburg 1904.

4) Petkowitsch, Beitrag zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusbakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1904.) — Clauditz, Untersuchungen über die Brauchbarkeit des von Endo empfohlenen Fuchsinagars zur Typhusdiagnose. (Hyg. Rundschau. Bd. XIV. 1904.) — Marshall, Die Bedeutung des Endoschen Nährbodens für die bakteriologische Typhusdiagnose. (Centralblatt f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905.)

erleichtert die Erkennung verdächtiger Kolonien, weil das Gesamtbild nicht so bunt ist wie auf den Lackmusplatten, und liefert demgemäß bei der Typhusdiagnose bessere Resultate. Diese bereits von verschiedenen Seiten gemachten Erfahrungen haben sich, wie aus den weiter unten folgenden Angaben hervorgeht, bei meinen Untersuchungen vollauf bestätigt.

Die Herstellung des Nährbodens geschah nach der Vorschrift Endos, indem 2 l Leitungswasser, 20 g Liebig's Fleischextrakt, 20 g Pepton sicc. Witte, 10 g Kochsalz und 80 g Stangenagar zusammen auf 2 Stunden in den Autoklaven bei 110° kamen und, nachdem völlige Lösung des Agars eingetreten war, einmal durch Watte filtriert wurden. Zu diesem Gemisch wurden dann 20 g Milchzucker, 10 ccm einer 10-proz. alkoholischen Fuchsinlösung und Natriumsulfatlösung (5 g Natriumsulfat : 50 ccm Wasser) hinzugefügt, die Flüssigkeit in Erlenmeyer'sche Kölbchen zu je 200 ccm abgefüllt und im Dunkeln aufbewahrt. Vor dem Gebrauch wurde der Agar im strömenden Dampfe wieder gelöst, mit verschiedenen Mengen von Koffein und Normalnatronlauge versetzt und dann in flache Glasschalen von 20 cm Durchmesser ausgegossen. Nach dem Erstarren hat es genau dasselbe Aussehen wie der Endosche Nährboden, indem es im durchfallenden Lichte farblos erscheint und im auffallenden eine zarte Rosafärbung zeigt. Von dem flüssigen Agar kamen noch vor dem Zusatze von Milchzucker, Fuchsin etc. 50 ccm in ein Kölbchen und dienten zur Feststellung des Reaktionsgrades.

Auf den zum Gebrauche fertigen Platten wurde nun je 0,1 ccm einer auf  $\frac{1}{100000}$  verdünnten, 24-stündigen Typhus- bzw. Coli-Kultur, von der gleichzeitig zur Kontrolle der Aussaat eine Petri-Schale gegossen wurde, mit dem v. Drigalskischen Glasspatel ausgestrichen. Nach 24—30-stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C gelangten dann die Platten zur Besichtigung.

Die Resultate dieser Untersuchungen waren folgende:

Tabelle I.

Koffein	Bacillus	Aussaat	Normalnatronlauge unter dem Phenolphthalein-neutralpunkt					
			2%	1,6%	1,2%	1%	0,8%	0,4%
0,5 Proz.	Typhus	3000	0	0	0	0	0	0
	Coli	8000	0	0	0	0	0	0
0,4 „	Typhus	3600	0	300**	250**	200**	160**	0
	Coli	9000	0	0	0	0	0	0
0,3 „	Typhus	3600	350*	1200	600	2500	600	350
	Coli	5000	300**	1000*	2000	1600	1500	1200
0,27 „	Typhus	3600	0	600	2000	1000	1200	75
	Coli	5000	0	1000	1600	2000	1400	700
0,25 „	Typhus	3000	0	0	2000	2800	1200	1000
	Coli	6000	0	1200	2500	2800	3200	4800

Anmerkung: \* bedeutet kleine, \*\* sehr kleine Kolonien.

Wie aus diesen Ergebnissen hervorgeht, gelangt bei einem Zusatze von 0,4 Proz. Koffein zu dem Fuchsinagar noch eine wenn auch nur recht beschränkte Zahl von Typhusbacillen zur Entwicklung, während die Coli-Bakterien in ihrem Wachstum völlig gehemmt werden. Fügt

man dem Nährboden nur 0,3 Proz. Koffein hinzu, so kommt zwar eine beträchtlich größere Menge von Typhusbacillen zum Auskeimen, aber auch die Coli-Bakterien finden dann bedeutend bessere Wachstumsbedingungen, so daß von einer praktischen Verwendbarkeit dieser Kombination nicht die Rede sein konnte. Es war daher die Aufgabe der folgenden Untersuchungen, die genauere Grenze zu bestimmen, bei welcher die Entwicklung der Typhusbacillen bei gleichzeitiger Hemmung der Coli-Bakterien noch in hinreichendem Maße möglich ist.

Ferner lehren die obigen Versuche, daß das Optimum der Alkalinität zwischen einem Zusatze von 1,6 und 1 Proz. Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkte zu suchen ist.

Ich kam nun zu folgenden Resultaten:

Tabelle II.

Koffein	Bacillus	Aussaat	Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkt				
			2 ‰	1,8 ‰	1,5 ‰	1,2 ‰	1 ‰
0,32 Proz.	Typhus	4500	0	1000*	4500	3500	4500
	Coli	9000	0	0	40**	0	3500
0,34 "	Typhus	4500	0	1000**	4000	2500	3200
	Coli	9000	0	0	100**	800**	0
0,36 "	Typhus	4500	0	500**	2500*	1600*	900*
	Coli	9000	0	0	0	0	0
0,38 "	Typhus	4500	0	400**	2500*	2000*	3000*
	Coli	9000	0	0	0	0	0

Anmerkung: \* bedeutet kleine, \*\* sehr kleine Kolonien.

Es gibt also, wie diese Ergebnisse zeigen, in der Tat einen Punkt in dem Gehalt des Fuchsinagars an Koffein, wo die Entwicklung der Typhusbacillen ungehindert vor sich geht, während das Wachstum der Coli-Bakterien in dem Grade gehemmt wird, daß eine ernstliche Beeinträchtigung der Eberth'schen Mikroben durch sie völlig ausgeschlossen erscheint. Dieses Optimum liegt bei einem Koffeinzusatz zwischen 0,32 und 0,34 Proz. und einer Alkalinität von 1,5 Proz. Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkt. Ich habe daher bei allen nachfolgenden Untersuchungen dem Agar eine Konzentration von 0,33 Proz. Koffein und die genannte Reaktion gegeben und zur Nachprüfung wiederholt mit Reinkulturen Versuche angestellt, von denen ich hier einen des Beispiels halber anführe.

Versuch vom 16. Juni 1905:

Bacillus	Aussaat	Endo + 0,33 Proz. Koffein
Typhus	3000	2500
Coli	3600	150

Für die Diagnose der Typhusbacillen ist die Tatsache von Bedeutung, daß ihre Entwicklung auf den Koffeinplatten etwas mehr Zeit in Anspruch nimmt als auf dem gewöhnlichen Endoschen Nährboden. Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank haben sich die Keime nur zu überaus zarten, durchsichtigen Kolonien von 1—1½ mm Durchmesser entwickelt. Dieses Wachstum macht erst in den nächsten 4 bis 6 Stunden einen beträchtlichen Fortschritt, so daß nun die Erkennung keine Schwierigkeiten mehr bietet. Nach 30 Stunden haben die Kolo-

nien eine Größe von 2—3 mm im Durchmesser erreicht und heben sich von dem leicht geröteten Nährsubstrat deutlich und scharf ab. Sie sind von runder, platter Form, in den meisten Fällen mit feinen, zackigen Ausläufern versehen und erscheinen im durchfallenden Lichte total farblos, im auffallenden zart rosa.

Ferner ist bemerkenswert, daß sich die Typhusbacillen, wahrscheinlich unter dem Einfluß des Koffeins, zuweilen zu mehr oder weniger langen Fäden auswachsen, welchen eine etwas geringere Beweglichkeit als den normalen Stäbchenformen zukommt. Infolgedessen erfährt auch das Bild, welches man bei der orientierenden Deckglasagglutination erhält, eine kleine Veränderung. Während sich die auf gewöhnlichen Platten gezüchteten Bacillen unter der Einwirkung des Immunserums zu unregelmäßigen, körnigen Häufchen zusammenballen und am Rande derselben in äußerst lebhafter Vibration befinden, haben die Konglomerate der auf den Koffeinplatten gezüchteten Mikroben eher das Aussehen zahlloser wirr durcheinander geschlungener Fäden, deren randständige Glieder nur träge Bewegungen ausführen. Immerhin ist auch diese Agglutination so charakteristisch und erfolgt so regelmäßig — bei schwer agglutinablen Typhusstämmen natürlich erst nach Verlauf von 15—20 Minuten —, daß man bei einiger Uebung schon daraufhin die Diagnose auf Typhusbacillen mit ziemlicher Sicherheit stellen kann. Daß diese Veränderung der Form und Beweglichkeit lediglich eine Folge der Einwirkung des Koffeins ist, folgt aus dem Umstande, daß die von solchen Kolonien auf Agar überimpften Bakterien sich wieder zu völlig normalen Individuen entwickelten.

Im Gegensatz zu den Eberth'schen Stäbchen erfahren die Coli-Bakterien auf den Koffeinplatten eine starke Hemmung in ihrem Wachstum, so daß nur vereinzelte Keime zur Entwicklung gelangen. Nach 30-stündigem Aufenthalt bei 37° C bilden sich kümmerlich entwickelte, rot gefärbte Kolonien von 1—2 mm Durchmesser, welche mit zackigen Ausläufern versehen sind.

Nachdem ich durch diese Ergebnisse einen festen Anhaltspunkt für weitere Versuche gewonnen hatte, ging ich dazu über, mit diesem Nährboden die Entleerungen typhuskranker und typhusverdächtiger Personen auf die Anwesenheit von Typhusbacillen zu untersuchen. Von jeder Stuhlprobe wurden gleichzeitig je 2 Endosche und v. Drigalskische Platten zum Vergleiche angelegt.

Der Ausstrich geschah in der Weise, daß von den dünnflüssigen Faeces etwa 0,5 ccm auf einer Koffeinplatte verrieben wurden und dann mit demselben Glasspatel auf eine zweite Platte übergegangen wurde. Dieses Verfahren nimmt natürlich etwas mehr Zeit in Anspruch, als der Ausstrich auf einer gewöhnlichen Endo-Platte, auf der in der Regel nur 1—2 Tropfen, d. i. ungefähr 0,1 ccm verarbeitet werden können, hat aber dafür den Vorteil, daß eine wesentlich größere Menge von Material zur Untersuchung kommt. Das Anlegen einer dritten und vierten Platte halte ich für überflüssig, obgleich es unter Umständen auch von Nutzen sein könnte. Mir hat wenigstens eine einzige Verdünnungsplatte stets genügt, und ich glaube auch nicht, daß ich durch Verwendung von mehr Platten eine namhafte Verbesserung meiner Resultate erzielt haben würde. Außerdem würde sich eine solche bedeutende Steigerung des Verbrauches an Platten von selbst verbieten wegen der Massenuntersuchungen an den Typhusuntersuchungsanstalten, wo die Zahl des täglich eintreffenden Materiales im Durchschnitt 20 Proben beträgt.

Die Platten kamen dann in den Brutschrank bei 37° C und nach 28—30 Stunden zur Untersuchung. Eine frühere Besichtigung möchte ich nicht empfehlen, weil sich nach 24 Stunden die Unterschiede zwischen den Typhusbacillen und übrigen Faecesbakterien noch nicht so deutlich ausgeprägt haben wie nach 28—30 Stunden. Unter Umständen, wenn sich nämlich im Stuhle besonders viele Eberthsche Bacillen befinden, ist die Diagnose allerdings auch schon nach 24 Stunden möglich, und mir selbst gelang es in einigen Fällen, bereits nach Verlauf dieser Zeit die Anwesenheit von Typhusbacillen festzustellen. Im allgemeinen soll aber erst die nach 28—30 Stunden erfolgende Besichtigung maßgebend sein.

Die erste Platte ist mit verschwindenden Ausnahmen übersät und für die Untersuchungen nicht zu gebrauchen, die zweite dagegen bietet ein recht charakteristisches Bild. Die Typhuskeime heben sich als klare, farblose Kolonien scharf und leicht erkennbar von dem schwach geröteten Nährsubstrat und den übrigen Faecesbakterien ab. Ich möchte es als einen weiteren Vorzug des Koffeinfuchsinagars vor dem „Endo“ bezeichnen, daß eine Reihe von Bakterien, welche auf dem letzteren wegen ihres typhusähnlichen Wachstums leicht zu Täuschungen Anlaß geben, auf den Koffeinplatten sich durch Form und Aussehen wesentlich von den Typhuskeimen unterscheiden und daher weit seltener Verwechselungen hervorzurufen imstande sind. Ich selbst habe bei allen meinen Untersuchungen nur etwa 6—7mal farblose Kolonien gefunden, welche sich nicht als Typhusbacillen bestätigen ließen.

Den Ausschlag über die Natur typhusverdächtiger Ansiedelungen gab stets die sofortige orientierende Deckglasagglutination, welche in den meisten Fällen das bereits oben beschriebene Bild zeigte. Zur definitiven Sicherstellung der Diagnose wurde dann die Abimpfung der betreffenden Kolonie auf Traubenzuckerbouillon, Lackmusmolke und Agar, sowie am folgenden Tage die makroskopische Reagensglasagglutination vorgenommen. Ergaben auch diese Proben ein positives Resultat, so wurden die isolierten Stäbchen endgültig als Eberthsche Bacillen angesprochen.

Auf diese Weise habe ich im ganzen 168 vergleichende Untersuchungen an fiebernden Typhuskranken und Rekonvaleszenten, Bacillenträgern und typhusverdächtigen Individuen ausgeführt. Davon entfielen auf 48 fiebernde Patienten und 12 Bacillenträger, im ganzen also 60 Personen, bei denen die Anwesenheit von Typhusbacillen mit Bestimmtheit angenommen werden durfte, 100 Untersuchungen. Es konnten dabei die Bacillen nachgewiesen werden:

durch den Lackmusagar	37mal, d. i. in 37 Proz.,
durch den Fuchsinagar	48mal, d. i. in 48 Proz.,
durch den Koffeinfuchsinagar	66mal, d. i. in 66 Proz.

Aus diesen Resultaten geht die zweifellose Ueberlegenheit des Koffeinnährbodens über den Lackmusmilchzuckeragar und das Fuchsinagar hervor. Zieht man zum weiteren Vergleich die oben bereits erwähnten Angaben Klingers heran, so sieht man, daß das Koffeinfuchsinagar auch die Koffeinbouillon (58,9 Proz.) in seiner Leistungsfähigkeit etwas übertrifft und dem Malachitgrünverfahren (68,6 Proz.) wenigstens nahezu gleichkommt.

Es erübrigt noch zu bemerken, daß der Koffeinnährboden auch für die Paratyphusbacillen, insbesondere die vom Typus B, günstige Wachstumsbedingungen bietet. So gelang mir der Nachweis der Stäbchen

vom Typus B auf den Koffeinplatten in zwei Fällen, wo das einfache Fuchsinagar einmal, das Lackmusmilchzuckeragar beide Male versagte.

Es sei mir gestattet, die Ergebnisse meiner Untersuchungen in Kürze zusammenzufassen:

1) Durch den Zusatz von 0,33 Proz. chemisch reinem, kristallinischem Koffein zu dem Endoschen Fuchsinagar bei einer Alkalinität von 1,5 Proz. Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkt gelingt es, eine beträchtliche Wachstumshemmung der Coli-Bakterien zu erzielen, ohne die Entwicklung der Typhus- und Paratyphusbacillen zu beeinträchtigen.

2) Der Koffeinnährboden ermöglicht die Benutzung einer größeren Menge von Material und gibt bessere Untersuchungsergebnisse als das einfache Plattenverfahren.

3) Das Koffeinfuchsinagar ermöglicht die Typhusdiagnose nach 28 bis 30 Stunden und ist darin, bei nahezu gleicher Leistungsfähigkeit, dem Malachitgrünverfahren überlegen.

Auf Grund dieser Ergebnisse glaube ich, den Koffeinnährboden als brauchbares diagnostisches Hilfsmittel neben den üblichen Untersuchungsmethoden empfehlen zu dürfen. Ein Idealnährboden beansprucht er allerdings nicht zu sein; einen solchen würden wir erst in einer Anreicherungsflüssigkeit, ähnlich dem Peptonwasser zum Nachweise des Choleravibrio, erhalten.

Zum Schluß erlaube ich mir, Herrn Prof. E. Levy für das Interesse, welches er der vorliegenden Arbeit entgegengebracht hat, sowie Herrn Oberarzt Dr. Klinger für seine freundlichen Ratschläge meinen besten Dank auszusprechen.

### Berichtigung.

S. 154 ist zu lesen Z. 22 v. u.: 0,57 statt 0,75, 58,8 statt 56,3 und Z. 18 v. u.: 0,62 statt 0,26.

### Inhalt.

- |  |  |
|--|--|
| <p><b>Ankersmit, P.</b>, Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. (Forts.), p. 574.</p> <p><b>Baruchello, L.</b>, Untersuchungen über die Darmstreptokokken des Pferdes, p. 569.</p> <p><b>Bosc, F. J.</b>, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). III. (Schluß.), p. 594.</p> <p><b>Bürgi, Moritz</b>, Die Staphylokokkeninfektion bei den Hasen, p. 559.</p> <p><b>Doerr, Robert</b>, Experimentelle Untersuchungen über das Fortwuchern von Typhusbacillen in der Gallenblase, p. 624.</p> <p><b>Ernst, Wilhelm</b>, Ueber Pyelonephritis diphtherica bovis und die Pyelonephritis bacillen, p. 549.</p> <p><b>Gaetgens, Walter</b>, Ueber die Erhöhung der Leistungsfähigkeit des Endoschen Fuchsinagars durch den Zusatz von Koffein, p. 634.</p> <p><b>Gay, Frederick P.</b>, The fixation of alexines by specific serum precipitates, p. 603.</p> <p><b>Ghon, Anton und Mucha, Victor</b>, Bei-</p> | <p>träge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. III., p. 497.</p> <p><b>Hueppe, F. und Kikuchi, Y.</b>, Ueber eine neue sichere und gefahrlose Immunisierung gegen die Pest, p. 610.</p> <p><b>Kleine, F. K. und Möllers, B.</b>, Ueber Hühnerpest bei Gänsen, p. 545.</p> <p><b>Koraen, Gunnar</b>, Pathogene Bakterien, in Gegenwart von Luft und unter kontrollierbarer Luftleere kultiviert, p. 508.</p> <p><b>Lädke, H.</b>, Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie. II., p. 512.</p> <p><b>Mereshkowsky, S. S.</b>, Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. (Forts.), p. 584.</p> <p><b>Pettersson, Alfred</b>, Ueber die bakteriziden Leukocytenstoffe und ihre Beziehung zur Immunität. (Schluß.), p. 613.</p> <p><b>Roux, Louis</b>, Anaërobe Bakterien als Ursache von Nekrose und Eiterung beim Rinde, p. 531.</p> |
|--|--|

Berichtigung, p. 640.



*Nachdruck verboten.*

**Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.**

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

**III. Zur Aetiologie der Peritonitis.**

**II. Mitteilung.**

Von Dr. Anton Ghon und Dr. Victor Mucha.

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

Die Gasanalyse einer 8 Tage alten 1-proz. Traubenzucker-Fleischbrühekultur der 20. Generation im Kölbchen nach Smith ergab:

CO<sub>2</sub> = 33,33 Proz.<sup>1)</sup>  
N = 4,33 "  
H = 62,34 "

Das Wachstum des Bacillus erfolgte bei höheren Temperaturen (Brutofen) immer rascher und üppiger als bei niederen (Zimmertemperatur). Bei 37° C zeigten die Kulturen in den ihnen zusagenden Nährmedien schon innerhalb der ersten 24 Stunden mehr oder minder üppiges

1) Der Gang der Untersuchung, die von dem einen von uns im Universitätslaboratorium für medizinische Chemie (Vorstand: Prof. Dr. Ludwig) ausgeführt wurde, war folgender:

**Gas (feucht):**

Gasvolumen	102,5 mm
Temperatur	20,8°
Druck	654,23 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	66,3 mm.

**Gas — CO<sub>2</sub>, (trocken):**

Gasvolumen	68,5 mm
Temperatur	20,6°
Druck	634,7 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	44,22 mm.

**Analyse im Endliometer.**

**Gas von CO<sub>2</sub>, befreit (feucht):**

Gasvolumen	146,2 mm
Temperatur	20,8°
Druck	259,93 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	38,54 mm.

**Gas + Luft (feucht):**

Gasvolumen	345,8 mm
Temperatur	20,6°
Druck	461,25 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	153,66 mm.

**Gas nach dem Verpuffen (feucht):**

Gasvolumen	266,0 mm
Temperatur	20,7°
Druck	381,34 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	99,86 mm.

Aetzkali absorbierte nichts.

Nach Zusatz von Knallgas und Verpuffen trat keine Kontraktion ein, wodurch die Abwesenheit von Sauerstoff bewiesen war.

Wachstum, bei 21° C erfolgte dieses am frühesten nach 48 Stunden, meist aber viel später.

Für das Gedeihen des Bacillus war alkalische Reaktion des Nährbodens notwendig. Die nachstehende Tabelle zeigt, daß bei Zusatz von 0,5—0,7 ccm Normalnatronlauge zu lackmusneutraler Zuckergelatine Wachstum und Gasbildung am üppigsten waren. Zusatz von Normalmilchsäure zu lackmusneutraler Zuckergelatine hinderte auch schon in geringen Mengen (0,1 ccm) jegliche Entwicklung.

Tabelle II.

Nährboden	Zusatz von Normal-Natronlauge	Temperatur	Wachstum nach			
			24 Stunden	48 Stunden	72 Stunden	8 Tagen
Lackmusneutrale Zuckergelatine (1 Proz. Traubenzucker, 12 Proz. Gelatine)	0,1 ccm	37° C	0	?	+	+
	0,2 "	37° "	0	?	+	+
	0,3 "	37° "	0	+	++	++
	0,4 "	37° "	0	+	++	++
	0,5 "	37° "	0	+	+++	+++
	0,7 "	37° "	0	+	+++	+++
	1,0 "	37° "	0	+	+++	+++
					mit Gas ++	mit Gas ++

Zeichenerklärung: 0 = kein Wachstum; ? = fragliches Wachstum; + = deutlich erkennbares Wachstum; ++ = üppiges Wachstum; +++ = sehr üppiges Wachstum.

Die Lebensfähigkeit des Bacillus in Kulturen (Zuckeragar, Zuckergelatine und Gelatine) war eine verschiedene, wohl in erster Linie abhängig von der Sporenbildung. Da diese in den genannten Nährböden eine unregelmäßige und im allgemeinen keine reichliche war, erschienen die Verschiedenheiten hinsichtlich der Lebensfähigkeit in den Kulturen genügend erklärt. In der Regel ließen sich auch mehrere Monate alte Kulturen, gleichgültig ob sie im Brutofen bei 37° C oder bei 22° C aufbewahrt wurden, ohne Anstand überimpfen.

### Tierpathogenität.

Im allgemeinen erwies sich für unsere Versuchstiere der Bacillus als wenig pathogen. Kleinere Versuchstiere, wie weiße Mäuse und Sperlinge, reagierten prompter und gleichmäßiger als Meerschweinchen und Tauben. Es bedurfte aber auch für die kleineren Tiere verhältnismäßig großer Kulturmengen, um die Tiere zu töten. Der Befund der gefallen Tiere ähnelte dem jener Tiere, die nach Impfung mit dem Bacillus des malignen Oedems eingingen, nur erschienen die Veränderungen weniger stark entwickelt. Gasbildung erfolgte nur ausnahmsweise.

Der Bacillus war im stande, eitrig und eitrig-fibrinöse entzündliche Veränderungen beim Meerschweinchen zu erzeugen.

Zu den Tierversuchen wurden junge, 24—28-stündige (37°) Zuckergelatinekulturen verwendet (10 Proz. Gelatine mit 1 Proz. Traubenzucker, deutlich alkalisch), die üppiges Wachstum mit starker Gasbildung gezeigt hatten. War die Kultur nicht mehr gleichmäßig stark getrübt, so wurde der obere klare Teil der verflüssigten Kulturmasse abgegossen und nur der untere Teil mit dem mehr oder weniger dichten Bodensatz zur Impfung benützt.

Die gefallen Tiere wurden sobald als möglich nach ihrem Tode

seziert. Ging dies nicht an, so wurden sie in der Zwischenzeit auf Eis gelegt.

**I. Weiße Mäuse (8 Versuche).**

Subkutane Injektion von 1,5—2,5 ccm 24-stündiger Zuckergelatinekultur hatte nicht immer den gleichen Erfolg: die Tiere blieben auch bei solchen Kulturmengen häufig am Leben, nachdem das Injektionsinfiltrat rasch zurückgegangen war. Erlagen hingegen die Tiere der Infektion, so erfolgte der Tod rasch, noch innerhalb von 24 Stunden post infectionem. Der Sektionsbefund zeigte dann ein mehr oder weniger ausgebreitetes Oedem der Bauchhaut als auffälligsten Befund neben degenerativen Veränderungen der parenchymatösen Organe. Das Oedem war in einem Falle fleischfarben.

Auch bei intraperitonealer Injektion genügten Mengen bis zu 2,5 ccm 24-stündiger Zuckergelatinekulturen nicht unter allen Umständen, um das Tier zu töten. Fiel das Tier, so fand man meist — aber nicht in jedem Fall — ein lokales Oedem der Bauchhaut im Bereiche der Injektionsstelle, dazu in verschiedener Menge trübe, rötlich- oder gelblich-graue, viscide oder dünne Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Mikroskopisch zeigte diese Flüssigkeit in einigen Fällen reichlich mehrkernige Leukocyten. Das Peritoneum parietale und viscerales war meistens nur wenig gerötet, die Milz immer klein. Leber und Nieren ließen aus ihrer Färbung und Konsistenz mit Sicherheit auf das Vorhandensein von degenerativen Prozessen schließen, die Nebennieren blieben gewöhnlich blaß-gelb oder zeigten nur eine geringe Rötung. In den Pleurahöhlen fand sich mitunter in geringer Menge klare Flüssigkeit.

Die Tiere erlagen auch der intraperitonealen Injektion in unseren Versuchen ausnahmslos schon innerhalb der ersten 24 Stunden p. i.

Der Bacillus ließ sich in jedem Falle in ziemlich reichlicher Menge in den gefallenem Tieren wieder nachweisen: bei den subkutan geimpften im subkutanen Oedem, bei den intraperitoneal geimpften im Peritonealexsudat. Fand man in diesen Fällen gleichzeitig auch lokales subkutanen Oedem und Pleuraerguß, so ließ sich der Bacillus auch in diesen pathologischen Produkten nachweisen, allerdings in nicht so reichlicher Zahl als im Peritonealexsudat.

Im Herzblute konnte der Bacillus nicht in allen Fällen nachgewiesen werden. Nach unseren Erfahrungen schien das Vorhandensein der Bacillen im Herzblute nicht immer davon abzuhängen, ob das gefallene Tier rasch oder spät nach dem Tode obduziert wurde.

**W. Ma<sub>3</sub>:**

Am 8. Oktober 1904 subkutan 2,0 ccm einer Zuckergelatinekultur, 3. Generation, 24 Stunden alt (37° C), verdünnt mit Peptonwasser.

Tod des Tieres in der Nacht vom 8.—9. Oktober, zwischen 10 und 19 Stunden p. i.

Sektionsbefund (bald nach dem Tode): Das subkutane Gewebe der Schenkelbeugen und ihrer Umgebung reichlich durchsetzt von fleischfarbener Flüssigkeit, die deutlich säuerlichen Geruch hat. Die Inguinaldrüsen makroskopisch nicht verändert. Die Bauchmuskulatur in ihrer unteren Hälfte fleischfarben. Das Peritoneum blaß, die Bauchhöhle frei von Flüssigkeit. Milz klein, dunkel. Die Leber rötlich-graugelb, sehr morsch. Nieren hellbraun, Nebennieren gelb, Lungen blaß. Herz prall gefüllt.

**Deckglaspräparate:**

- 1) Subkutanen Oedem: reichlich und ausschließlich der Bacillus.
- 2) Herzblut: keine Bakterien.

**Kulturen:**

- 1) Subkutanen Oedem:
  - a) Aërob: steril.
  - b) Anaërob: sehr reichlich und ausschließlich der Bacillus.

- 2) Herzblut:  
 a) Aërob: steril.  
 b) Anaërob: steril.

**W. Ms<sub>6</sub>:**

Am 20. November 1904 intraperitoneal 1,5 ccm einer Zuckergelatinekultur der 6. Generation, 24 Stunden alt.

Tod des Tieres am 21. November früh, innerhalb von 12 Stunden p. i.

Sektionsbefund (12 Stunden p. m., Eis): Das subkutane Gewebe der Bauchhaut stark ödematös, aber blaß. In der Bauchhöhle ziemlich reichlich dünne, trübe Flüssigkeit mit spärlichen, kleinen Gasbläschen zwischen den Darmschlingen. Milz klein. Leber gelblichbraun. Nieren graubraun. Nebennieren klein, blaßrot-grau. Peritoneum rosafarben. In den Pleurahöhlen in mäßiger Menge klare Flüssigkeit. Lungen blaß.

**Deckglaspräparate:**

- 1) Peritonealexsudat: reichlich und ausschließlich der Bacillus.
- 2) Pleuraerguß: reichlich und ausschließlich der Bacillus.
- 3) Herzblut: spärlich und ausschließlich der Bacillus.

**Kulturen:**

- 1) Peritonealexsudat:
  - a) Aërob: steril.
  - b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.
- 2) Herzblut:
  - a) Aërob: steril.
  - b) Anaërob: spärlich und ausschließlich Kolonien (4) des Bacillus.

**W. Ms<sub>7</sub>:**

Am 26. November 1904 intraperitoneal 2,0 ccm einer Zuckergelatinekultur des Stammes aus dem Peritonealexsudate von w. Ms<sub>6</sub>, 2. Generation, 48 Stunden alt.

Tod des Tieres am 27. November, 14 Stunden p. i.

Sektionsbefund (2 $\frac{1}{2}$  Stunden post mortem): Geringes lokales Oedem der linken Inguinalbeuge (Injektionsseite). In der Bauchhöhle sehr viel rötliche Flüssigkeit ohne Gasblasen. Peritoneum leicht gerötet. Milz klein, dunkel. Nebennieren hellgelb. Leber und Nieren gelblich-braun. Pleurahöhlen leer. Lungen blaß.

**Deckglaspräparate:**

- 1) Subkutanes Oedem: in mäßiger Menge und ausschließlich der Bacillus.
- 2) Peritonealexsudat: wie bei 1, keine Eiterzellen.
- 3) Herzblut: keine Bakterien.

**Kulturen:**

- 1) Herzblut:
  - a) Aërob: steril.
  - b) Anaërob: 2 Kolonien des Bacillus.
- 2) Peritonealexsudat: Die Kultivierung mißlang.

**II. Meerschweinchen (16 Versuche).**

Von 5 subkutan geimpften Meerschweinchen verendeten 2: das eine (160 g schwer) hatte 2 ccm einer Zuckergelatinekultur der 3. Generation erhalten und fiel am 14. Tag nach der Infektion. Der Sektionsbefund ergab allgemeine Atrophie der Organe, die bakteriologische Untersuchung war negativ. Ob in diesem Falle der Tod des Tieres auf Rechnung der Impfung zu setzen war, konnte von uns nicht entschieden werden. Das 2. Tier hatte 4 ccm der 7. Generation erhalten. Der Sektionsbefund dieses Tieres (siehe unten) ließ vermuten, daß bei der subkutanen Impfung auch Material in die Peritonealhöhle gelangt war. In diesem Falle fand sich neben dem stark entwickelten Oedem der Bauchwand und dem Peritonealexsudate auch ein reichlicher Erguß in die Pleurahöhlen.

Ein 3. Tier (140 g) hatte 1 ccm der 2. Generation, ein 4. (140 g) 3 ccm der 3. Generation und ein 5. (130 g) 4,5 ccm der 8. Generation subkutan einverleibt erhalten, ohne zu reagieren.

Von 10 intraperitoneal geimpften Meerschweinchen fiel nur eines. Dieses Tier (135 g) hatte 1,5 ccm einer Zuckergelatinekultur der 2. Generation erhalten und ergab den typischen Befund einer eitrigen

bezw. fibrinös-eitrigen, diffusen Peritonitis (siehe unten). Alle übrigen intraperitoneal geimpften Tiere blieben am Leben: die meisten hatten gar keine Reaktion gezeigt, einige erschienen am Tage der Infektion krank, erholten sich aber wieder rasch. Das Gewicht dieser Meerschweinchen schwankte zwischen 130 und 460 g, die Menge der einverleibten, üppig gewachsenen Zuckergelatinekulturen der 8—12. Generation von 2,0—8,0 ccm. Dabei war die Menge des geimpften Materials nicht proportional dem Körpergewicht: so erhielt z. B.  $M_{13}$  (150 g) 8 ccm,  $M_{14}$  (150 g) 4,5 ccm,  $M_5$  (460 g) 2 ccm.

Ohne Reaktion blieb auch jenes Meerschweinchen (255 g), das 1 ccm des Peritonealexsudates vom Menschen intraperitoneal einverleibt erhalten hatte. Dieser Versuch erschien uns aber deshalb nicht vollwertig, weil das Exsudat dem Versuchstiere nicht sofort nach seiner Entnahme eingespritzt wurde, sondern erst 24 Stunden nachher, nachdem es in der Zwischenzeit bei Zimmertemperatur stehen geblieben war.

$M_{12}$  (= 145 g Körpergewicht):

Am 25. Okt. 1904 subkutan 4 ccm einer Zuckergelatinekultur, 7. Generation, 38 Stunden alt.

Tod des Tieres am 26. Okt., 18—21 Stunden p. i.

Sektionsbefund (ca. 12 Stunden p. m., Eis): Das subkutane Gewebe der Bauchhaut, der Inguinalbeugen und der unteren Thoraxhälfte in eine schwappende, sulzige, farblose Masse umgewandelt. Die Lymphdrüsen in den Inguinalbeugen nicht vergrößert, rötlich-grau. Durch die Bauchwand kleine verschiebbare Gasbläschen zwischen den Darmschlingen sichtbar. In der Bauchhöhle sehr reichlich (ca. 5 ccm) rötlich-graue, dünne Flüssigkeit, mit zarten Fibrinflocken durchmengt. Das Peritoneum parietale feucht, fleckweise gerötet, mit einzelnen kleinen, hellroten Blutungen. Die Serosa der Darmschlingen blaß. Netz rötlich-grau, mit zarten Fibrinbeschlägen. Leber klein, braun. Milz klein und blaß. Nieren graubraun. Nebennieren hellgelb. In den Pleurahöhlen reichlich klare Flüssigkeit. Lungen komprimiert, dunkel. Herz gut gefüllt.

Deckglaspräparate:

1) Subkutanes Oedem: spärlich mehrkernige Rundzellen und reichlich der *Bacillus*.

2) Peritonealexsudat: viele mehrkernige Leukocyten und reichlich der *Bacillus*.

3) Pleuraerguß: keine zelligen Elemente und keine Bacillen.

4) Herzblut: keine Bacillen.

Kulturen:

1) Subkutanes Oedem:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des *Bacillus*.

2) Peritonealexsudat:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des *Bacillus*.

3) Herzblut:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: steril.

$M_5$  (= 135 g Körpergewicht):

Am 4. Okt. 1904 intraperitoneal 1,5 ccm einer Zuckergelatinekultur, 2. Generation, 24 Stunden alt.

Tod des Tieres am 6. Okt., ca. 48 Stunden p. i.

Sektionsbefund (24 Stunden p. m., Eis): Im subkutanen Gewebe der Bauchhaut keine Veränderungen. In der Bauchhöhle in mäßiger Menge viscides, eiteriges und eiterig-fibrinöses Exsudat. Das Peritoneum hellrot. Milz klein, blaß. Leber und Nieren gelblich-braun. Nebennieren rot gefleckt. In den Pleurahöhlen etwas klare Flüssigkeit. Lungen blutreich. Herz prall gefüllt.

Deckglaspräparate:

1) Peritonealexsudat: Ziemlich reichlich und ausschließlich der *Bacillus* meist intracellulär gelagert.

2) Herzblut: Keine Bakterien.

Kulturen:

1) Peritonealexsudat:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des *Bacillus*.

## 2) Herzblut:

a) Aërob: steril.

a) Anaërob: spärlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.

## III. Kaninchen (3 Versuche):

Von den 3 verwendeten Tieren erhielt das eine (1160 g) subkutan, das andere (1185 g) intraperitoneal und das dritte (1380 g) intravenös je 3 ccm einer Zuckergelatinekultur der 3. Generation, 24 Stunden alt, üppig gewachsen. Keines der 3 Tiere reagierte auf die Impfung.

## IV. Tauben (4 Versuche):

Benützt wurden zu den Versuchen junge Tiere. Drei zeigten keine Reaktion: davon erhielt Taube I 3 ccm einer Zuckergelatinekultur der 2. Generation intramuskulär (großer Brustmuskel), Taube IV 4 ccm der 17. Generation gleichfalls intramuskulär und Taube II 3 ccm der 2. Generation subkutan.

Taube III, die intramuskulär 3 ccm derselben Kultur erhalten hatte wie Taube IV, verendete 11 Tage nach der Injektion. Das Tier, das schon zur Zeit der Infektion stark abgemagert erschien, zeigte bei der Sektion keine Veränderungen, die mit der Infektion in Zusammenhang gebracht werden konnten: die Organe ergaben den Befund einfacher Atrophie. Aërobe und anaërobe Kulturen von der Injektionsstelle und dem Herzblute blieben steril.

## V. Sperlinge (5 Versuche):

Von den Tieren, die alle intramuskulär geimpft wurden (großer Brustmuskel), verendeten drei innerhalb der ersten 12 Stunden post infectionem und ergaben als Befund im Bereiche der Injektionsstelle ein mäßig entwickeltes Oedem, das in einem Falle (Sperling 1) leicht hämorrhagisch erschien. Der Brustmuskel, in dem die Injektion erfolgt war, unterschied sich vom Muskel der nicht geimpften Seite meist durch sein helles, etwas trübes Aussehen. In einem Falle (Sperling 4) sah man im subkutanen Gewebe der Impfseite kleine Blutungen. Die inneren Organe der Tiere ließen keine besonderen Veränderungen erkennen.

Bacillen konnten mikroskopisch und kulturell stets reichlich am Impforte nachgewiesen werden, zweimal auch im Herzblute.

Ein 4. Tier verendete schon  $1/2$  Stunde nach der Infektion: es handelte sich um einen schon stark abgemagerten, dekrepiden Sperling.

Der 5. Sperling endlich, der nur 0,5 ccm einer Zuckergelatinekultur der 14. Generation intramuskulär erhalten hatte, verendete erst 5 Tage nach der Infektion. Der Sektionsbefund dieses Tieres war ein negativer, die mikroskopische und kulturelle Untersuchung der Injektionsstelle und des Herzblutes ließen Bakterien nicht nachweisen. Der Tod des Tieres stand deshalb kaum im Zusammenhange mit der Infektion.

## Sperling 1:

Am 26. Nov. 1904 intramuskulär (großer Brustmuskel) von einer Zuckergelatinekultur (Stamm vom Peritonealexsudat aus w. M<sub>9</sub>), 48 Stunden alt.

Tod des Tieres innerhalb 12 Stunden p. i.

Sektionsbefund: Das subkutane Gewebe der Brust und des Halses ödematöse Die ödematöse Flüssigkeit an der Seite der Injektion rötlich, an der anderen blaß. Der große Brustmuskel der Injektionsseite bräunlich, von seiner Schnittfläche trübe, rötliche Flüssigkeit abstreifbar. Auf der anderen Seite der Brustmuskel frisch rotbraun. Nirgends Gasbläschen.

Die inneren Organe ohne besonderen Befund.

**Deckglaspräparate:**

1) Subkutanes Oedem der Injektionsseite: ziemlich reichlich der Bacillus.

2) Saft vom großen Brustmuskel der Injektionsseite: sehr reichlich der Bacillus.

3) Herzblut: keine Bakterien.

**Kulturen:**

1) Saft vom Brustmuskel der Injektionsseite:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.

2) Herzblut:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: ziemlich reichlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.

**Sperling 2:**

Am 2. Dez. 1904 intramuskulär 1 ccm einer Zuckergelatinekultur der 12. Generation, 48 Stunden alt.

Tod des Tieres in der Nacht vom 2.—3. Dez., innerhalb 12 Stunden p. i.

Sektionsbefund: Der Brustmuskel der Injektionsseite (rechts) vorgewölbt, feucht und heller als der der anderen Seite. Das subkutane Gewebe der rechten Brustseite feucht. Kein Gas, keine Blutung.

Die inneren Organe ohne besonderen Befund.

**Deckglaspräparate:**

1) Subkutanes Oedem: reichlich der Bacillus.

2) Saft vom Brustmuskel der rechten Seite: reichlich der Bacillus.

**Kulturen:**

1) Saft vom rechten Brustmuskel:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.

2) Herzblut:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: spärlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.

**Sperling 4:**

Am 10. Dez. 1904 intramuskulär 1 ccm einer Zuckergelatinekultur der 14. Generation, 48 Stunden alt.

Tod des Tieres in der Nacht vom 10.—11. Dez., innerhalb 12 Stunden p. i.

Sektionsbefund: Der Befund gleich dem bei Sperling 2, nur fanden sich im subkutanen Gewebe der Injektionsseite kleine Blutungen.

**Deckglaspräparate:**

Muskelsaft: reichlich der Bacillus.

**Kulturen:**

1) Saft des rechten Brustmuskels:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.

2) Herzblut:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: steril.

**Kulturfiltrate:**

**I. Versuchsreihe:**

Vom Pukall-Filtrat einer 6-tägigen üppig gewachsenen Zuckerfleischbrühekultur (1 Proz. Traubenzucker, langhalsiger Kolben, 37° C), 18. Generation, erhielten:

1) 2 weiße Mäuse je 1 ccm intraperitoneal;

2) 2 " " " 2 " "

3) 2 " " " 3 " "

4) 2 " " " 2 " subkutan;

5) 1 Meerschweinchen von 145 g Körpergew. 5 ccm intraperitoneal;

6) 1 " " " 165 " " 8 " "

Alle Tiere blieben ohne Reaktion.

**II. Versuchsreihe:**

Vom Pukall-Filtrat einer 22-tägigen Zuckerfleischbrühekultur der 18. Generation erhielten:

1) 2 weiße Mäuse je 2 ccm intraperitoneal;

2) 2 " " " 3 " "

Auch diese Tiere blieben ohne Reaktion.

**Schaumorgane:**

Am 26. Nov. 1904 erhielt ein mittelgroßes Kaninchen 3 ccm einer 3-tägigen Zuckergelatinekultur der 10. Generation intravenös einverleibt. 5 Minuten nach der Injektion wurde das Tier durch Nackenschlag getötet und dann in den Brutofen (37°) gelegt.

Am 27. Nov. früh, nach 15 Stunden, zeigte das Tier folgenden Befund:

Der ganze Körper des Tieres stark aufgetrieben. Die Haut an keiner Stelle abgehoben. Auf der linken Seite (Liegeseite) in der Inguinal- und Achselbeuge im subkutanen Gewebe in nicht sehr reichlicher Menge rötliche Flüssigkeit angesammelt, untermengt mit kleineren Gasbläschen. Das Abdomen ballonartig aufgetrieben. In den abhängigen Partien der Bauchhöhle etwas trübe graue Flüssigkeit. Der ganze Darm aufgetrieben, seine Wand verdünnt. Die Leber vollständig von verschiedenen großen Gasbläschen durchsetzt, zunderartig und blaß. Die Milz klein, die Nieren blaß. In den Lungen zahlreiche kleine Gasbläschen. Das Herz aufgetrieben, seine Mukulatur morsch und blaß.

**Deckglaspräparate:**

1) Flüssigkeit der linken Inguinalbeuge: reichlich der Bacillus.

2) Peritonealflüssigkeit: reichlich der Bacillus.

3) Lebersaft: reichlich der Bacillus.

4) Herzblut: reichlich der Bacillus.

**Kulturen:**

1) Flüssigkeit der linken Inguinalbeuge:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.

2) Lebersaft:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.

3) Herzblut:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: reichlich und ausschließlich Kolonien des Bacillus.

Die aus den angeführten Organen kultivierten Bacillen erwiesen sich als derselben Art angehörig und identisch mit jener, die dem Tiere intravenös einverleibt wurde.

(Schluß folgt.)







*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie.

### II. Ueber aktive und passive Immunisierung.

Von Dr. **H. Lüdke-Barmen**,

z. Zt. Assistent der medizinischen Klinik zu Würzburg. (Direktor: Geheim. Medizinalrat Prof. Dr. von Leube.)

Mit 11 Kurven.

(Fortsetzung.)

Versuche, die störenden lokalen und allgemeinen Symptome, welche der aktiven Immunisierung unmittelbar folgen, abzuschwächen oder ganz aufzuheben, konnten auch in anderer Form unternommen werden. In der Kombination von passiver Immunisierung durch bakterizides Heilserum mit gleichzeitiger oder nachträglicher Impfung mit virulenten Infektionserregern.

Praktische Versuche der Anwendung dieser Kulturmethode mit sehr günstigen Resultaten wurden zuerst von Lorenz gegen Schweinerotlauf angestellt, der spezifisches Immuneserum mit virulentem, lebendem Impfstoff kombiniert injizierte. Die gleichen Versuche stellten Loeffler, Frosch und Uhlenhuth gegen Maul- und Klauenseuche an. Sobornheim benutzte die gleiche Kombination von Immuneserum zusammen mit abgeschwächten lebenden Bakterien mit Erfolg gegen Milzbrand, Wassermann und Otto desgleichen bei Rinderpest. Endlich wurde diese Kombination der Verwendung von abgetöteten Infektionserregern und spezifischem Immuneserum von Besredka variiert, der diesen Vorschlag, durch Tierexperimente gestützt, für Immunisierungen gegen Pest, Typhus und Cholera machte.

Gegen diese kombinierten Immunisierungsmethoden erhoben sich zuerst theoretische Bedenken, da man eine Paralyse der Wirkung der Bakterien durch das mitinjizierte Immuneserum annahm. Die praktischen Ergebnisse im Kampf gegen die Tierseuchen waren jedoch so zufriedenstellend, daß die theoretischen Bedenken verstummen mußten.

Die Besredkaschen Versuche suchte ich in einigen Experimenten einer Nachprüfung zu unterziehen, indem ich seine Methode bei der Immunisierung gegen den Dysenteriebacillus anwandte.

Als Vorzüge seiner Methode hebt Besredka zwei Umstände besonders hervor, einmal, daß die lokale wie allgemeine Reaktion infolge des mitinjizierten Immunkörpers bei weitem geringfügiger sei, als die Reaktion nach Injektion lebender oder abgetöteter Bakterien. Weiter soll durch die mitinjizierten Bakterien eine längerdauernde Schutzwirkung erzielt werden, während durch die Immunkörper die Immunität sofort eintreten soll. Ausgedehnteres Versuchsmaterial über diese Besredkasche Methode der Simultanimpfung liegt zur Zeit nicht vor.

Versuchen wir die einzelnen, aufeinanderfolgenden Prozesse bei dieser Immunisierungsmethode genauer zu analysieren. Der Kern der Methode besteht in der Einführung immunkörperbeladener Bakterien in dem tierischen Organismus. Den Immunisierungsplan müssen bei diesen Experimenten die quantitativen Verhältnisse zwischen verwendeter Serummenge und Bakterienmaterial beherrschen. Ein Ueberschuß von freien Bakterien, deren Rezeptoren von Immunkörpern nicht abgesättigt waren, mußte eine Störung herbeiführen, indem dadurch der aktive, celluläre

Mobilisierungsplan, die Auslösung von spezifischen Ambozeptoren zu sehr in den Vordergrund trat. In diesem Fall entsprach der Immunisierungsprozeß einfach der Auslösung aktiver Immunität durch geringe Quantitäten bakteriellen Impfmateri als. Ferner würden die mit Immunkörpern beladenen Bakterien bei passendem Komplementzutritt im Organismus der Auflösung anheimfallen und eine Endotoxinwirkung, d. h. eine weitere Ambozeptorenauslösung sich zu der durch die freien, nicht abgesättigten Bakterien sezernierten Ambozeptoren mengen hinzu addieren. Im anderen Falle wäre der Einwand statthaft, daß die eingetretene Bindung zwischen Bakterienrezeptor und Ambozeptor nicht passend im fremden Blut komplettiert würde, so daß überhaupt keine Anregung der Antikörper produzierenden Zellen erfolgte.

Die ersten Versuche, mittelst mit Ambozeptoren beladenen Zellen zu immunisieren, wurden von v. Dungern (15) unternommen. v. D u n g e r n fand bei Injektion von Ochsenblutkörperchen, denen inaktiviertes, spezifisches, lytisches Kaninchenserum zugesetzt war, keine Immunkörperproduktion im Kaninchenorganismus.

S a c h s (16) unterzog diesen Immunisierungsprozeß vermittelt Erythrocyten und beigefügtem spezifischen Immuneserum einer eingehenden Prüfung und gelangte zu der Modifikation, daß völlig abgesättigte Blutkörperchen nach sorgfältiger Entfernung eines Ueberschusses von Ambozeptoren unter 8 Tieren bei 4 Kaninchen eine mehr oder minder starke Immunkörpermenge produziert hatten, jedoch in weit geringerem Grade wie die allein mit Erythrocyten behandelten Kontrolltiere. Durchschnittlich wurde der 5.–10. Teil der bei den Kontrolltieren gelieferten Immunkörpermenge nach S a c h s gebildet.

Die bislang am ehesten zufriedenstellende Erklärung für die Auslösung von Immunkörpern in diesen Fällen wurde von Ehrlich gegeben, der für einzelne Fälle eine Sprengung der Bindung Zellrezeptor und Ambozeptor durch avidere Gewebsrezeptoren annahm. Diese avideren sessilen Gewebsrezeptoren reißen den Blutkörperchenrezeptor an sich und führen somit zu einer mäßigen Sekretion von spezifischen Ambozeptoren.

Die Ehrlichsche Auffassung über die Wechselwirkung zwischen Muttersubstanzen und Antikörpern ist die einer chemischen, quantitativen Gesetzen subordinierten Bindung, die ein neutrales Gemisch z. B. von Antitoxin-Toxin ergibt. Die mehrfach unternommenen Versuche, die Ehrlichschen Ausführungen zu widerlegen, führten jedoch schließlich immer wieder zu einer Bestätigung dieses chemischen Bindungsprozesses, der nach einer reversiblen Phase zu einer dauernden Festigung der Bindung zwischen Ausgangselement und Reaktionsprodukt führt. Außer den Reagenzglasversuchen mit Agglutininen, Präzipitinen, Hämolsinen, die eine vollkommene Uebereinstimmung in der Ehrlich'schen Idee ergaben, liegen weitere Bestätigungen in Immunisierungsversuchen an Tieren mit neutralen, Gift und Gegengift enthaltenden Gemischen vor.

Eine praktische Verwertung solcher Immunisierungsversuche resultierte aus den Bestrebungen, die eine Abschwächung eines Toxins wie einer Bakterienart zu Impfzwecken beabsichtigten. Für derartige experimentelle Untersuchungen waren jedoch die quantitativen Verhältnisse zwischen den beiden Reaktionsbestandteilen genügend zu berücksichtigen.

v. Behring empfahl so bei der Tetanusimmunisierung die Anwendung eines Toxin-Antitoxingemischs, das anfänglich einen kleinen Ueberschuß von Toxin, bei den weiteren Injektionen eine allmählich

zunehmende Verminderung der zugesetzten Antitoxinmenge enthalten sollte.

Eine Immunisierung mit vollkommen neutralen Gemischen wurde zuerst von Babes vorgeschlagen; Kretz publizierte darauf einige scheinbar erfolgreiche Versuche in ähnlicher Hinsicht, wurde jedoch durch eingehende Studien widerlegt. Auch Rehns gelang es nicht, bei Verwendung dieser Technik eine Antikörperproduktion herbeizuführen. In anderen, ähnlichen Versuchen schienen jedoch Rehns, wie Nicolle und Trénel, einen Gegenbeweis gegen die Anschauung einer neutralen Bindung erbracht zu haben. Die Einführung von agglutinierten Typhusbacillen rief nach diesen Experimenten eine Agglutininproduktion im infizierten Organismus ebenso hervor, als wenn die Infektion durch Einverleibung der Bakterien allein stattfand.

Diese Mitteilung Rehns wurde von Neisser und Lubowski (17) widerlegt. Durch sorgfältigste Absättigung der Bakterien mit hochwertigem, spezifischen Immuneserum gelang es diesen Autoren in der Mehrzahl der Fälle keine Agglutininproduktion hervorzurufen; in einigen Fällen war eine nur geringfügige Agglutinationsfähigkeit nachzuweisen. Bei den Versuchstieren, die schon normalerweise geringe Agglutinationswerte ihres Serums besaßen, wurde keine Steigerung dieser Fähigkeit konstatiert; eine Steigerung der Empfindlichkeit gegenüber den agglutinierten Bacillen durch mehrfache Injektion von agglutinierten Bakterien ließ sich ebenfalls nicht nachweisen. Wurden endlich Tiere nach einer erstmaligen Einführung von nicht agglutinierten Bakterien von neuem mit agglutinierten Bakterien injiziert, so erfolgte keine Steigerung der Empfindlichkeit.

Diese Experimente ergeben also einen prinzipiellen Unterschied zwischen den Injektionen von agglutinierten und nicht agglutinierten Bacillen, indem auf die Einspritzung agglutinierten Bacillen häufig gar keine Reaktionsfähigkeit, seltener eine geringe Steigerung des Agglutinationsvermögens erfolgte.

Ueber einen analogen Versuch, den ich vor längerer Zeit mit agglutinierten Dysenteriebacillen (Stamm Shiga) anstellte, möchte ich hier kurz berichten. Als Immuneserum wurde das Serum eines kräftigen Kaninchens benutzt, das noch in einer Verdünnung von 1:800 den Dysenteriebacillus wirksam agglutinierte. Nach wiederholter Absättigung einer abgetöteten Aufschwemmung einer Agarplattenkultur des *Bac. dysenteriae*, die mit einer Verdünnung des inaktivierten Immuneserums von 1:200 versetzt war, wobei die Abgußflüssigkeiten wiederholt auf Agglutiningehalt geprüft wurden, erfolgte die subkutane Injektion bei einem Kaninchen, dessen Serum vorher in einer Verdünnung von 1:40 den *Bac. dysenteriae* noch gut agglutinierte.

Nach der Injektion der agglutinierten Bakterien in einem ungefähren Mengenverhältnis wie bei einem mit nicht agglutinierten Bakterien injizierten Kontrolltiere, dessen Normalserum noch bei einer Verdünnung von 1:20 agglutinierende Fähigkeit erwies, wurde beiden Tieren am 8., 20. und 30. Tage nach der Injektion Blut entzogen und im hängenden Tropfen auf seinen Agglutinationswert geprüft. Während das Kontrolltier eine erhebliche Steigerung seines normalen Agglutinationswertes erfuhr (am 8. Tage in einer Verdünnung von 1:280 wirksam, am 20. und 30. Tage bei 1:400), zeigte das mit agglutinierten Dysenteriebacillen vorbehandelte Tier eine nur sehr geringfügige Steigerung seines ursprünglichen Titres in einer Verdünnung von 1:66 an den drei Prüfungsterminen.

Dieser Beitrag zur Frage einer Agglutininproduktion durch agglutinierte Bakterien fand also seine völlige Uebereinstimmung mit den Neisser-Lubowskischen Resultaten. Eine Steigerung der Agglutininproduktion nach Injektion agglutiniertes Bakterien ist demnach nur in ganz unbeträchtlichem Maße bei wenigen Tieren zu erwarten.

Ganz ähnlich verliefen die Versuche, die mit immunkörperbeladenen Ruhrbakterien angestellt wurden. Schon früher zeigten Pfeiffer und Friedberger (18), daß bei einer nahezu vollkommenen Absättigung von Cholerabakterien durch sehr hohe Dosen eines hochwertigen Cholera-ziegenimmunserums der immunisatorische Effekt vollständig ausblieb.

Verf. wandte bei seinen Versuchen die Immunisierungsmethode an, welche von Besredka gegen Pest, Cholera und Typhus vorgeschlagen wurde. Bei dem eindeutigen, negativen Erfolg dieser Experimente sehe ich von ausführlichen Versuchstabellen ab und will nur die Ergebnisse in Kürze charakterisieren.

Eine 48 Stunden alte Agarschräggkultur von *Bact. dysenteriae* Kruse wurde mit 1—2 ccm steriler, physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, die trübe Bakterienemulsion 1 Stunde bei 60° im Wasserbad erhitzt und diese Abschwemmung in schmale, kurze Reagenzglaschen gefüllt, die etwa 0,1—0,2 ccm stark agglutinierendes Kaninchenimmunserum (Titre 1:660) enthielten. Eine untere Schicht, die des Serums, schied sich dabei zunächst von einer oberen, die Bacillen enthaltenden Schicht; sehr bald begann nun der Agglutinationsprozeß, indem sich an der Schichtgrenze die agglutinierten Bakterien zu Boden senkten; nach ca. 10 Stunden lagen sämtliche Mikroben am Boden des Gefäßes zu Häufchen zusammengeballt, während sich die überstehende Flüssigkeit abklärte. Die überstehende Flüssigkeit wurde darauf abgegossen, und der Bakterienniederschlag 4—5mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Es resultierte schließlich ein weißer Bodensatz, der bei Zusatz von physiologischem Kochsalzwasser zu Injektionen verwandt wurde.

Mittelst dieser nach der Vorschrift Besredkas gewonnenen Vaccine wurden 4 Kaninchen immunisiert. In 2 Fällen, in denen 2 aufeinander folgende subkutane Injektionen gemacht wurden, trat überhaupt keine Auslösung von Schutzstoffen ein; weder war eine Immunkörperproduktion bei einer Prüfung des Serums 10 Tage nach der letzten Einspritzung erzielt (das Kaninchenserum schützte selbst in Dosen von 1,0—1,5 ccm Meerschweinchen nicht vor der einfachen tödlichen Dosis virulenter Ruhrbacillen [=  $\frac{1}{10}$  Oese]), noch war die Agglutinationsfähigkeit des Serums gesteigert. In den beiden anderen Fällen schützte 1,0 ccm Serum gerade vor der tödlichen Minimaldosis der Bakterien.

Auf Grund dieser Versuche war also eine Sprengung der Bindung zwischen Bakterienrezeptoren und Serumkörpern nicht eingetreten; die immunbeladenen Bakterien waren als reizlose, passive Substanz völlig unwirksam. Praktische Erfolge wären demnach mit dem Vaccin Besredkas für Versuche mit dem Ruhrbacillus nicht zu erwarten.

Bald nach der Entdeckung des Ruhrbacillus durch Shiga und Kruse wurden von beiden Forschern Versuche zur Gewinnung eines spezifisch wirksamen, bakteriziden Serum unternommen.

Die Experimente, von kleineren Versuchstieren ein bakterizid wirksames Serum zu erhalten, scheiterten an der enormen Giftwirkung selbst kleinster Dosen des Ruhrbacillus.

Eine größere Versuchsreihe von Prüfungen normaler Tiersera auf

bakterizide Eigenschaften gegenüber dem Ruhrbacillus rührt von Shiga her. Shiga (19) fand normales Pferde-, Rinder-, Meerschweinchen-, Kaninchen-, Hundeserum nicht wirkungsfähig, nur Ziegen- und Hammelserum erwiesen sich in einer Menge von 0,3 ccm nach 3-stündiger Einwirkung auf  $\frac{1}{500}$  mg Ruhrbacillenkultur wirksam. Kruse, Shiga und Gay (20) konstatierten einstimmig eine nur sehr schwache oder vollständig fehlende bakterizide Wirkung normalen Menschenserums auf virulente Ruhrbacillen.

Der Pfeiffersche Versuch, die Auflösung der Ruhrbacillen in Granula in der Peritonealhöhle, mißlang bei Injektionen von normalen Tieren, ebenso bei gleichzeitiger Einspritzung von Kultur und Immunsorum. Bei Versuchen, die bakterizide Wirkung des Ruhrimmunsorum zu prüfen, muß man sich daher nach Lentz (21) mehr an den Ausgang des Versuchs, das Ueberleben bzw. den Tod der Versuchstiere und das Verschwinden der Bacillen aus der Peritonealhöhle halten. Kruse erwähnt dementsprechend in seinen Versuchen mit schützendem Pferdeimmunsorum nur, daß die Bacillen einige Stunden nach der Injektion aus der Peritonealflüssigkeit der überlebenden Versuchstiere verschwunden waren.

Dagegen konnte Lentz, dem Verf. nach zahlreichen, ähnlichen Versuchen zustimmt, bei immunen Meerschweinchen eine Auflösung und Granulabildung lebend eingeführter Ruhrbakterien in der Bauchhöhle konstatieren.

In den letzten Jahren wurde mehrfach an Stelle des kostspieligen Tierversuchs zum Nachweis der bakteriziden Wirkung eines Immunsorum der von Neisser und Wechsberg (22) angegebene Plattenversuch vorgezogen. Shiga fand nun bei der Anwendung dieser Zählmethode, indem er in sterile Glasröhrchen inaktiviertes Pferdeimmunsorum mit einem Zusatz von aktivem, normalem Menschen- oder Pferdeserum brachte, daß Ruhrbacillen in vitro nach 3-stündiger Einwirkung des Serungemischs abgetötet waren, da auf den mit diesen Bacillenaufschwemmungen beimpften Agarplatten kein oder nur sehr spärliches Wachstum erfolgte.

Die bakterizide Eigenschaft eines Ruhrimmunsorum ist jedoch nur ein Ausdruck der aktiven Immunität des Organismus, nur ein Phänomen des gesamten, cellulären Reaktionsprozesses.

In den bakteriziden Immunkörpern können wir nur eine Qualität des Serums erkennen, die cellulären Prozessen in bestimmten Organen subordiniert ist, eine relativ beschränkte Wirkungssphäre auf die eingedrungenen Infektionserreger besitzt und diese Wirkungsäußerung nur für eine kürzere Zeitdauer entfalten kann. Der Reiz, welcher durch die Einverleibung von geringer Qualität bakteriellen Materials gewisse Zellkomplexe zur Hypersekretion spezifischer Elemente angeregt hat, ist mit dem Verschwinden der Reaktionsstoffe aus dem Blut nicht vollkommen abgeklungen. Die Zellen haben sich eine für längere Zeit aufgespeicherte Energie, spezifische Stoffe in einer durch den Reiz beeinflussten, bestimmten Richtung abzusondern, bewahrt, die man durch verschiedene Kunstgriffe (so Injektion aller minimalster, bei normalen Tieren keine Antikörperproduktion auslösender Dosen, durch die Zellsekretion befördernde Mittel, wie Pilocarpin) wieder anregen kann. Die Zellen arbeiten in der durch den ersten Reiz bestimmten Direktion weiter. Schließlich klingt jedoch auch diese latente Energie ab und muß anderen Reizen Raum geben. Eine Bakterien- und eine Giftfestigkeit, wie wir sie bei

natürlich resistenten Tieren beobachten, ist erst das Endziel aller Immunitätsforschung; die Empfindlichkeit und leichte Reaktionsfähigkeit der Zellen ist lediglich eine Vorstufe zur Erzielung der vollkommenen Immunität.

Aktive Immunisierungen wurden, nachdem solche Versuche bei den gebräuchlichen, kleineren Versuchstieren zumeist fehlschlagen, an größeren Tieren, speziell Pferden und Eseln, angestellt. Kruses (23) Versuche gingen darauf aus, von Equiden ein wirksames, bakterizides Heilserum zu gewinnen. Injizierte er Meerschweinchen, die eine tödliche Dosis von Ruhrbacillen subkutan erhalten hatten, Immunserum am 2.—3. Tage nach der Bakterieneinspritzung, so gelang es ihm, die Tiere noch am Leben zu erhalten. Die prophylaktische Impfung ergab nach Kruse (23) folgende Resultate: Meerschweinchen, die intraperitoneal gleichzeitig die gleiche Dosis Ruhrbacillen und verschiedene Mengen Ruhrserum erhielten, wurden durch minimalste Mengen des Serums geschützt;  $\frac{1}{80000}$  g Ruhrserum genügte, um ein Meerschweinchen vor dem innerhalb 24 Stunden bei Kontrolltieren erfolgenden Tode zu retten.

Analog den Kruseschen Experimenten verliefen die Untersuchungen Shigas (24) in Japan. Shiga verdanken wir eine sorgfältige und ausführliche Darstellung von Immunisierungsversuchen am Tier und von therapeutischen Injektionen seines Immunserums bei ruhrkranken Menschen. Injektionen von 1,0 ccm Pferdeimmunserum 5—15 Stunden nach der tödlichen Infektion schützte Meerschweinchen nach einer leichten Erkrankung, während Kontrolltiere, denen Kultur und Normalserum zugleich injiziert war, ad exitum kamen. Bei ruhrkranken Menschen wandte Shiga sein von Pferden gewonnenes Serum im Jahre 1898 bei 65 Personen, 1899 bei 233 Kranken an. Medikamentös wurden 212 Personen behandelt. Aus einzelnen, genauer beschriebenen Fällen geht hervor, daß durch die Serumbehandlung die Ruhrkranken im beginnenden Stadium schnell geheilt wurden. In fortgeschritteneren Stadien wirkte das Serum ebenfalls günstig, am Tage nach der Injektion sank die Zahl der Entleerungen meist ungefähr auf die Hälfte, um dann in Kürze zur Norm zurückzukehren. Der Tenesmus wurde beseitigt, die Blutmenge verminderte sich oder verschwand bald gänzlich, die Leibscherzen hörten auf, das Fieber nahm ab, und der Allgemeinzustand besserte sich. Shiga differenzierte bezüglich der Prognose seiner Ruhrfälle die Lokalisationsverhältnisse der ulcerativen Prozesse im Darm. „Je höher die Herde im Darm lokalisiert sind, desto ungünstiger ist die Prognose.“ Darum ist nach Shiga das erste Prinzip der Ruhrbehandlung, den nach aufwärts fortschreitenden Prozessen Schranken zu setzen.

Die allgemeinen, prognostisch ungünstigen Vergiftungserscheinungen, die nach Shigas Ansicht besonders dann aufzutreten pflegten, wenn die höheren Teile des Dickdarms und der Dünndarm von der Ruhr affiziert waren, ließen sich durch serotherapeutische Behandlung bedeutend besser beeinflussen wie durch medikamentöse. Die Behandlungsdauer war ferner bei medikamentöser Therapie bei weitem länger als bei serotherapeutischer; sie wurde von 40 Krankheitstagen bei der medikamentösen Behandlung auf 25 Tage herabgesetzt. Schließlich wurde die Mortalität durch die Serumbehandlung im Durchschnitt bis auf  $\frac{1}{3}$ , der bei der medikamentösen Behandlung ermittelten und unter die Hälfte des Minimums derselben herabgesetzt. Eine Unterstützung durch geeignete Diät, durch Abführmittel vor der serotherapeutischen Behandlung war in allen Fällen von Erfolg begleitet.



Die aktive Immunisierung von Eseln und Pferden zur Gewinnung eines spezifisch wirksamen bakteriziden Heilserums empfahlen außerdem Mason (25), Gay und Gabritschewski (27). Rosenthal (26) behandelte mit dem von Gabritschewski hergestellten Immunserum 157 Ruhrkranke und verlor von diesen nur 4,5 Proz.; im Gegensatz hierzu starben von den medikamentös behandelten 10—11 Proz. Rosenthal konnte ferner bei Injektion des Serums während der ersten 3 Krankheitstage bereits nach 1—2 Tagen völlige Heilung eintreten sehen.

Versuche, die bacilläre Dysenterie durch Heilsera zu coupieren, waren jedoch bereits vor der Entdeckung des Shiga-Kruseschen Bacillus unternommen.

Celli (28) der mit seinen Mitarbeitern Fiocca und Valenti bei italienischen Ruhrepidemien einen spezifischen Erreger gefunden zu haben glaubte, den von ihm mit der Bezeichnung *Bact. coli-dysentericum* charakterisierten Mikroorganismus, beschrieb fast gleichzeitig mit der Publikation seines bakteriziden Befundes ein vorwiegend antitoxisch wirksames Heilserum.

Celli und Valenti studierten speziell das „Toxin“ ihres Bacillus, der ihrer Ansicht nach eine besonders giftig wirkende Coli-Art war und der jedenfalls nach Shigas und Kruses Forschungen kulturell und auch morphologisch große Differenzen mit dem echten Dysenterieerreger aufwies. Sie verwandten ein Toxin, das durch Niederschlag mit Alkohol aus den durch Filtrierpapier filtrierten Bakterienkulturen erhalten und in Pulverform übergeführt war.

Es gelang ihnen, durch allmählich gesteigerte Dosen dieses Toxins in subkutanen und intravenösen Injektionen bei Eseln ein brauchbares Serum zu gewinnen. Außerdem injizierten sie Esel mit dem Protein dieser Coli-Art und zu Kontrollzwecken mit dem Protein des *Bact. coli commune*.

Immunisierungsversuche mit den auf diese Weise gewonnenen drei Immunsera unternahm Celli zunächst an Katzen. Das erstere, nach seiner Methode hergestellte Serum, erwies sich sowohl präventiv wie als Heilserum wirksam, während das mit den Proteinstoffen erhaltene Serum nur unsichere Erfolge ergab.

Bei genauer Prüfung seiner Versuchsergebnisse resultiert aber ohne weiteres, daß Celli weder mit einem echten Toxin operierte, noch daß es ihm einwandfrei gelungen ist, antitoxische Wirkungen mit seinem Serum zu erzielen. Nach der von ihm beschriebenen Darstellungsweise seines Toxins zu urteilen, handelte es sich lediglich um eine rein bakterizide Schutzwirkung, um die Auslösung von bakteriziden Immunkörpern im Organismus der infizierten Tiere. Celli erklärt auch selbst, daß gleiche Experimente nicht immer in gleicher Weise ausfielen, und überhaupt nicht gelängen, wenn man versuchen wollte, die Menge des Serum zu verringern. Das Gesetz der Multipla kam jedenfalls für dieses scheinbar antitoxische Serum nicht in Betracht.

Zur praktischen Verwendung gelangte sein Serum in einigen Fällen einer Dysenterieepidemie in Udine im Jahre 1899. In 6 Fällen von akuter Dysenterie trat nach Injektion seines Serums baldige Heilung ein, die sich besonders in dem raschen Verschwinden der blutigen Entleerungen dokumentierte, während von 4 an akuter Dysenterie leidenden Individuen, die nicht eingespritzt wurden, 3 starben.

Das Celli-Valentische Serum wurde ferner von Valagassa

während einer akuten Dysenterieepidemie bei Kindern anscheinend mit Erfolg verwandt.

Auch Valagassa beschreibt außer einer bakteriziden Wirkung auch speziell die antitoxische Qualität dieses Serums, das nur dysenterische Darmprozesse, nicht aber die nicht spezifischen Coli-Erkrankungen des Darmes günstig beeinflusste.

Der Annahme, daß ein Ruhrheilserum sowohl bakterizide wie antitoxische Qualitäten enthalten könne, begegnen wir auch in späteren Publikationen, auf die wir noch zurückkommen werden.

Gabritschewski injizierte zunächst ein von Rosenthal angegebene, lösliches Dysenterietoxin Pferden subkutan in einigen steigenden Dosen, denen er Injektionen von allmählich steigenden Gaben lebender Ruhrbacillen folgen ließ; im weiteren Verlauf der Immunisierung wechselte er mit Injektionen des Toxins und der lebenden Bacillen ab. 3—4 Monate nach Beginn der Immunisierung sollen die Pferde ein Serum ergeben haben, das außer guter Agglutinationsfähigkeit sowohl stark bakterizid wie antitoxisch wirksam war.

Gay züchtete Kulturen der Stämme Kruse, Shiga und Flexner auf großen Petri-Schalen, schwemmte diese mit physiologischer Kochsalzlösung ab und versetzte die Bakterienaufschwemmungen mit 0,5 Proz. Trikresol oder erhitzte die Bakterienemulsionen noch vor dem Zusatz des Trikresol. Nach 3—4 subkutanen Injektionen erhielt er ein hochagglutinierendes Serum bei Pferden, nach 4—5 Monate dauernder Immunisierung der Pferde zeigte ihr Blut auch präventive und kurative Eigenschaften. Die abgetöteten und mit Trikresol versetzten Bakterien ergaben dabei einen schwächer wirksamen Impfstoff.

Während der Ruhrepidemien, die seit dem Jahre 1899 im Stadtkreise Barmen alljährlich im Spätsommer und Herbst grassieren, habe ich 1904 eine ausgiebigere Behandlung einer größeren Reihe von Ruherkrankungen, leichteren und schwereren Charakters, mit dem mir von Herrn Prof. Kruse freundlichst zur Verfügung gestellten Heilserum versucht. Herrn Dr. Koll, Oberarzt der inneren Abteilung des Barmer städtischen Krankenhauses, spreche ich für die Ueberlassung dieser Fälle meinen besten Dank aus. Die Kranken, meist der niederen Bevölkerungsklasse angehörig, wurden subkutan entweder an der Außenfläche des Oberschenkels oder seltener in die seitlichen Brustpartieen injiziert. Zur Injektion kamen Kinder, Frauen und Männer, in nur einem Falle wurde eine Person über 50 Jahre eingespritzt. Einen ernsteren Widerstand der Patienten gegen die Serumeinspritzungen habe ich in keinem Falle beobachten können.

Fall 1. Paul S., 17 Jahre alt, Schlosserlehrling. Krankheitsbeginn am 7. VIII. 1904. Aufnahme ins Krankenhaus am 11. VIII.

Anamnese: Erkrankte plötzlich mit leichtem Frostgefühl, auf das unmittelbar intensive, kolikartige Leibschmerzen folgten. Zunächst zweimal Stuhl. Am folgenden Tage, 8. VIII., etwa 15 Stühle, rein flüssiger Konsistenz, Blut wurde noch nicht bemerkt. Patient mußte seine Arbeit einstellen. Mit den Leibschmerzen war starker Tenesmus verbunden, der nach der Entleerung nachließ. Am 9. VIII. wurde zum erstenmal Blut mit Schleim bemerkt. Etwa 20 Entleerungen pro die. Am 10. VIII. dasselbe Bild, am 11. VIII. sucht Patient das Spital auf.

Ursache: Patient erkrankte als letzter Ruhrfall in einem Hause, in dem bereits 3 Personen an Dysenterie krank lagen.

Status praesens: Graciler Bau, dürrtiger Ernährungszustand, blasse

Gesichtsfarbe, dunkle Schatten um die Augen. Brustorgane, Leber, Milz intakt. Urin frei. Zunge etwas belegt. Abdomen leicht aufgetrieben, Nabel jedoch nicht verstrichen. Bei Palpation Schwappen der Därme, Kollern. Schmerzempfindung auf Druck speziell im linken Hypochondrium ausgesprochen. Keine Resistenzen, keine Dämpfung, keine Roseolae. Temp. 37,1, Puls etwa 110. Stuhl: schleimig-eitrig, mit einzelnen Blutpünktchen, geruchlos. Im gefärbten Präparat fast Reinkulturen von Dysenteriebacillen. Normale Leukocytenwerte am 12. VIII. Widal am 15. Krankheitstage in Verdünnung 1:100 stark positiv.

Injektion von 20 ccm Ruhrserum am Nachmittag des 11. VIII.

12. VIII. 8 Entleerungen. Allgemeinbefinden etwas gehoben. Hungergefühl stellt sich ein.

13. VIII. 2 Entleerungen. Im Stuhl kein Blut mehr; fäkulenter Geruch der Stühle. Spontan keine Leibschmerzen. Druckempfindlichkeit fast völlig verschwunden. Diazo: schwach positiv.

14. VIII. 3 Entleerungen. Keine Tenesmen mehr. Starkes Hungergefühl.

15. VIII. 3 Entleerungen. Dasselbe, gute Befinden wie am 14. VIII. Am 25. VIII. wird Patient geheilt entlassen. Geringfügiges Schwächegefühl in den Gelenken noch 2—3 Wochen nach der Entlassung wahrgenommen. Exanthem an der Injektionsstelle trat nicht auf.

Fall 2. Otto J., 14 Jahre alt, Schüler. Krankheitsbeginn: 14 Tage vor Spitalbehandlung.

Anamnese: Früher, außer Kinderkrankheiten, nie ernstlich krank gewesen; nie Ruhr oder heftigere Darmkatarrhe. Erkrankung trat plötzlich auf, begann mit Erbrechen, heftigen Durchfällen, Tenesmen, Kollern im Leib, Leibschmerzen, Appetitlosigkeit. Schon während der ersten Krankheitstage Blut- und Schleimabgänge. An einzelnen Tagen etwa 30 Defäkationen. Ursache unbekannt.

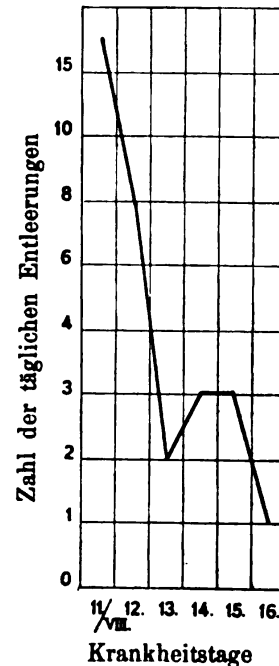
Status praesens: 11. VIII. Graciler Knochenbau, intensivste Abmagerung, blasse Gesichtsfarbe, sichtbare Schleimhäute sehr blaß, dunkle Ränder um die Augen. Herz, Lunge, Leber, Milz ohne Besonderheiten. Urin frei. Zunge stark belegt. Abdomen muldenförmig eingesunken, bei Palpation Schwappen mit gurrenden Geräuschen. Keine Dämpfung, keine Resistenzen, keine Roseolen. Linkes Hypochondrium auf Druck sehr schmerzhaft. Puls 116. Temp. 36,0° C. Stuhl: schleimig-blutig, schon fäkulent riechend. Mikroskopisch: uncharakteristische, zahlreiche Darmbakterien. Blutuntersuchung am 12. VIII.: 16000 Leukocyten, im gefärbten Präparat Ueberwiegen der polynukleären Zellen. Widal am 14. Krankheitstage in Verdünnung 1:200 positiv.

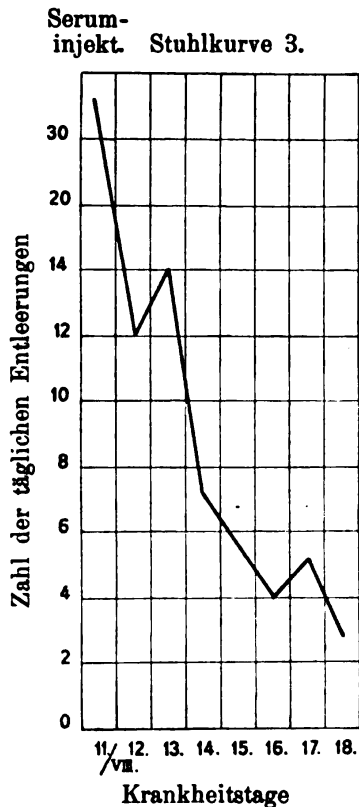
Injektion von 20 ccm Ruhrserum am 11. VIII.

12. VIII. 12 Stühle. Blutmenge geringer. Grünliche Färbung der Faeces.

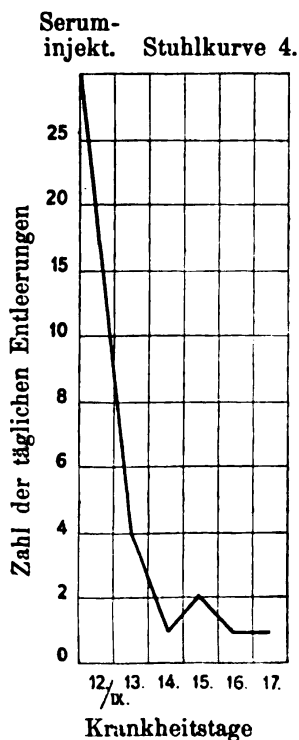
13. VIII. 14 Stühle; fäkulent riechend, grünlich gefärbt, noch sehr viel Schleim, weniger Blut enthaltend. Zunge noch stark belegt. Noch geringe Druckschmerzen bei Betasten des Leibes, besonders links. Im

Serum-  
injekt. Stuhlcurve 2.





Fall 3. Klara A., 24 Jahre, Dienstmädchen. Krankheitsbeginn am 8. IX. Aufnahme ins Krankenhaus 12. IX.



linken Hypochondrium leicht gedämpfter Schall. Herzaktion lebhaft, verbreiterte Grenzen, reine Töne. Allgemeinbefinden etwas besser; Hunger stellt sich ein. Urin frei.

14. VIII. 7 Stühle. Schleimig, grünlich, ohne Blut. Kein Drang, keine Leibscherzen.

15. VIII. 5 Stühle. Noch von grünlicher Farbe, halbweicher Konsistenz. Klagt über Schmerzen und Müdigkeitsgefühl in den Gelenken, vornehmlich den Kniegelenken.

Vom 16.—21. VIII. Durchschnittlich 4 Entleerungen. Gutes Befinden.

23. VIII. Unter Temperaturanstieg —  $38,6^{\circ}\text{C}$  — tritt stärkere Schwellung des linken Kniegelenks ein, das schon in den vorhergehenden 3 Tagen allmählich angeschwollen war. Aktive und passive Bewegungen sehr schmerzhaft, Fluktationsgefühl. Am 26. VIII. Schwellung verschwunden. Patient wird am 31. X. als gebessert entlassen. Stärkeres Schwächegefühl in den Beinen ist zurückgeblieben. Ein Exanthem an Impfstelle war nicht aufgetreten.

Anamnese: Erkrankte plötzlich mit Unwohlsein und Leibscherzen. Zwei Tage vor den Diarrhöen Verstopfung. In der Nacht vom 8. bis 9. IX. stellten sich Durchfälle ein, eingeleitet von quälendem Stuhl drang. Die Entleerungen nehmen in den folgenden Tagen an Häufigkeit zu, meist geringe Quantitäten von Blut und Schleim entleert, etwa 25mal während 24 Stunden. Appetit ist stark herabgesetzt, mäßige Uebelkeit und Kopfscherzen.

Status praesens: Kräftiger Bau, guter Ernährungszustand, etwas blasse Gesichtsfarbe.

Innere Organe ohne Besonderheiten. Zunge dick belegt. Abdomen auf Druck schmerzhaft, besonders links unten. Im linken Hypochondrium mäßige Dämpfung. Analschleimhaut wenig prolabierte. Urin frei. Mäßige Vermehrung der Leukocyten. Stuhl enthält viel Schleim mit einzelnen Blutstreifen; im mikroskopischen Färbpräparat zahlreichere plumpe Stäbchen; Kultur ergibt Dysenteriebacillen. Widal am 7. Krankheitstage in Verdünnung von 1:400 positiv.

Injektion von 20 ccm Serum am 12. IX. nachmittags.

12. IX. 16 Entleerungen, schleimig-eiterig, mit Blutstreifen.

13. IX. 4 Entleerungen. Große Schleimmembranen werden abgestoßen.

14. IX. 1mal Stuhl. Von jetzt ab vollkommenes Wohlbefinden, nur 1—2mal Stuhl in den folgenden Tagen.

27. IX. Geheilt entlassen. Am 26. IX. tritt großfleckiges, stark juckendes Exanthem an der Injektionsstelle auf, das nach 24 Stunden abbläst.

Fall 4. Johanne S., 19 Jahre, Dienstmädchen. Krankheitsbeginn am 27. VIII. Aufnahme ins Spital am 27. VIII.

Anamnese: Will nicht mit Ruhrkranken in Kontakt gekommen sein, nie an intensiveren Darmkatarrhen gelitten haben. Erkrankte plötzlich mit heftigen Leibschmerzen, die periodenweise auftreten. Am Nachmittage des ersten Krankheitstages stellen sich heftige Durchfälle ein, etwa 2 Entleerungen während einer Stunde. Blut und Schleim wurde erst am folgenden Tage von der Patientin bemerkt. Vor den Defäkationen intensivster Drang, der nach der Entleerung nachließ. Kein Appetit, kein Erbrechen. Großes Schwächegefühl. Kollern im Leib. Diese Beschwerden hielten bis zur Aufnahme ins Spital mit unverminderter Heftigkeit an.

Status praesens: Mittelkräftiger Knochenbau, mäßiger Ernährungszustand, chlorotische Gesichtsfarbe. Inneren Organe gesund. Zunge weißlich belegt, keine follikulären Schwellungen. Abdomen nirgends stärker druckempfindlich, links unten geringe Dämpfung. Keine Milzschwellung. Temp. 37,0° C, Puls ca. 110. Leukocyten etwas vermehrt. Urin frei. Stuhl: typischer Dysenteriestuhl, im mikroskopischen, gefärbten Präparat vereinzelte, plumpe Stäbchen. Widal am 4. Krankheitstage in Verdünnung 1:100 positiv.

Seruminjektion am 28. VIII.

28. VIII. 25 Entleerungen, schleimig-eitrig, mit Blutstreifen.

29. VIII. 15 Entleerungen.

30. VIII. 4 Entleerungen. Keine Leibschmerzen mehr, noch geringe Blutspuren im Stuhl, Konsistenz desselben schon halbweich.

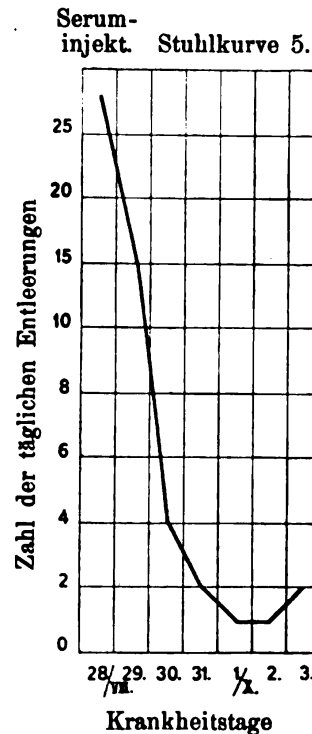
31. VIII. 2 Entleerungen; wie am 30. VIII.

1. IX. Einmal Stuhl, von jetzt ab täglich einmal Stuhlgang, in den folgenden Tagen ist dem halbfesten Stuhl noch Blut in Spuren beigemischt. Wohlbefinden wieder seit 30. VIII. Im Verlauf der weiteren Behandlung trat eine starke Conjunctivitis und Tendovaginitis auf, die nach kürzerer Behandlungsdauer verschwand.

Exanthem trat am 6. IX. auf, erstreckte sich von der Injektionsstelle (seitliche Brustpartie) über den Arm und das Bein derselben Seite.

27. IX. Gebessert entlassen. Bei einer Vorstellung nach 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Wochen erwies sich Patientin als geheilt.

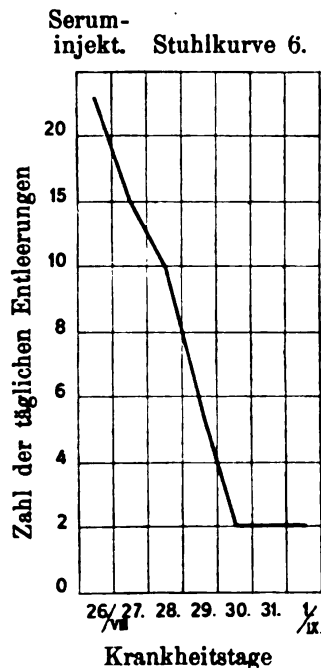
Fall 5. Frau R., 28 Jahre. Krankheitsbeginn am 22. VIII. Spitalaufnahme am 25. VIII.



Anamnese: Erkrankte ohne Leibschmerzen und sonstige Beschwerden mit plötzlich einsetzendem Durchfall; fast sofort bemerkte Patientin Schleim und Blut in den Stühlen, die von starken Tenesmen begleitet waren. Appetitlosigkeit, Mattigkeit, Kopfschmerzen. Täglich bis 20 Entleerungen.

Status praesens: 25. VIII. Mittelkräftiger Bau, guter Ernährungszustand, etwas anämisch.

Abdomen bietet normale Konturen, keine Dämpfung, keine ausgesprochene Druckschmerzhaftigkeit. Zunge dick, weißlich belegt. Leukozytenzahl normal. Temp. 36,9° C; Puls ca. 96. Stuhl enthält nur schleimig-eiterige Massen, die in spärlichen Mengen alle Stunden entleert werden. Dysenteriebacillen mikroskopisch und kulturell nachgewiesen. Widal am 5. Krankheitstage in einer Verdünnung von 1:50 noch negativ, am 12. Krankheitstage in Verdünnung von 1:300 positiv.



Seruminjektion am 26. VIII. nachmittags.  
27. VIII. 15 Entleerungen, noch viel Schleim mit einzelnen Blutpünktchen.

28. VIII. 10 Entleerungen. Allgemeinbefinden besser, Zungenbelag stößt sich ab, Hungergefühl tritt auf.

29. VIII. 5 Entleerungen. Stuhl wird fest, etwas Schleim, kein Blut mehr. Patientin befindet sich auf dem Wege der Besserung.

30. VIII. 2 Stühle. Vom 30. ab nur 2 Entleerungen täglich, die Schleimabsonderungen sistierten erst vom 2. IX. ab vollständig.

10. IX. Patientin wird geheilt entlassen. Kein Exanthem bemerkt. Keine Nachkrankheit später aufgetreten. (Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Pyelonephritis diphtherica bovis und die Pyelonephritisbacillen.

[Aus dem bakteriologischen Institute der tierärztlichen Hochschule in München (Vorstand: Prof. Dr. med. Th. Kitt).]

Von Dr. med. vet. **Wilhelm Ernst**, I. Assistenten am Institute.

Mit 14 Figuren.

(Fortsetzung.)

Schluß auf hämatogene Entstehungsweise.

Aus solchen histologischen Bildern und bestehenden Uebergängen schließe ich, daß die Pyelonephritis bacteritica des Rindes hämatogener Infektion folgt. Auch wenn Harnleiter und Blase mitergriffen sind, ist dies, wie ausgeführt, kein Beweis für „ascendierende“ Entstehung der Krankheit von der Blase aus; übrigens wäre das Freibleiben der Harnleiter zwischen der erkrankten Blase und der Niere,

wie ich es beobachtet habe, nicht erklärlich (dieselben Schleimhautverhältnisse), selbst wenn der Prozeß in der Blase stärker ausgebildet wie in der Niere als der ältere erscheint (26, und 11, p. 395), da bekanntlich sekundäre Erkrankungen in anderen Organen oft ausgebreiteter und rapider verlaufen wie am primären Ort.

Gegen urogene Entstehungsweise sprechen ferner die oft zirkumskripte, lobäre Erkrankung mit nur geringer Beteiligung des Nierenbeckens, Erkrankung nur einer Niere (12, p. 472; 2). War bisher als Beweis für urogene Erkrankungsart das besonders häufige Vorkommen des Leidens bei Kühen nach Zurückbleiben der Nachgeburt als die hauptsächlichste Stütze angesehen: (leichte Infektionsmöglichkeit der weiten, ventral gelegenen weiblichen Harnröhre, Vermehrung der Keime in der Blase, Cystitis, Ureteritis, Pyelitis, Nephritis ascendens als Weiterung), so dürfte diesem Grunde folgendes entgegenzuhalten zu sein.

Bei Metritis, Vaginitis, Ausfaulen der Nachgeburt, ja überhaupt bei septischen Erkrankungen und sogar bei normaler Geburt ist die Niere als Ausscheidungsorgan besonderer Ueberreizung und entzündlicher Einwirkung resorbierter Zersetzungsprodukte ausgesetzt. Eine solche Niere, bereits entzündlich irritiert (febrile Albuminurie etc.), wird eine erhöhte Gewebsdisposition besitzen (28; auch 14, p. 64) und einer gleichzeitigen Bacillenembolie oder stattfindender Bacillenausscheidung Gelegenheit geben, pathogene Wirkungen zu entfalten. Selbst minder pathogenen Keimen gegenüber ist die Resistenz dann verloren, da solchen in dem nährhaltigen toten Material der Eiweißcylinder u. s. w. eine günstige Vegetationsstätte geboten wird.

Diese Annahme des Locus minoris resistentiae erklärt die alleinige Erkrankung der Nieren und später der ableitenden Harnwege bei Gesundbleiben der übrigen Organe, wenn man nicht in der spezifischen Anordnung der Kapillaren (Wundernetz, mechanisches Aufhalten der Mikroben) und in der Tätigkeit als Ausscheidungsorgan flüssiger und geformter Elemente (Bacillen) Grund genug zur Erklärung dieses Punktes findet (Auftreten der Krankheit bei Ochsen, Stieren, Kälbern).

Daß Metastasen übrigens auch in anderen Organen entstehen können, zeigt Fall IV, in dem Endocarditis nebenbei entstand, ein Beweis für die bei septischer Metritis eintretende Resorption von Bakterien und Keimen derselben im Blutstrom. Ausscheidung durch die Nieren, embolische Nephritis, Nekrose der Papillenspitze, durch klinische Untersuchung und die Sektion nachgewiesene Pyelitis bacteritica, ein typisches Bild für hämatogene Entstehung der Pyelonephritis auch bei Retentio secundinarum.

Um den Zeitpunkt der Infektion und die mögliche Dauer der Erkrankung zu beleuchten, erwähne ich, daß zwischen dem Auftreten der Metritis und dem klinisch nachgewiesenen Entstehen der Nierenerscheinungen 4 Monate vergangen waren. Da die Nieren histologisch frische Veränderungen boten, ist wohl ein Entstehen erst nach der Endocarditis anzunehmen. Seit dem Ausfaulen der Nachgeburt zeigte die Kuh allgemeine Krankheitssymptome.

Nach Beendigung dieser Arbeit erhalte ich von Kollegen Schmutterer in Ebersberg zwei Nieren mit Harnleiter und Blase zugeschickt, die in prägnanter Weise die Theorie der hämatogenen Entstehung dokumentieren.

Aus dem Berichte des Einsenders geht hervor, daß die Kuh vor ca. 9 Wochen gekalbt hat. Ueber die Art der Geburt, ob normal oder nicht, wurde nichts bekannt, auch über eventuelle Störungen im Abgange der Nachgeburt konnte nichts in Erfahrung gebracht werden. Jedenfalls zeigte der Geschlechtsapparat bei der Sektion weder akute noch chronische Veränderungen irgend welcher Art. Vor Schlachtung zeigte das Rind Kolikerscheinungen. Eine Mastitis, die aber schon nach einigen Tagen ausheilte, wurde konstatiert, außerdem aber durch Exploration das Bestehen einer Pyelonephritis erwiesen. Bei Eröffnung des geschlachteten Tieres waren eine von der Haube ausgehende, ca. 20 cm lange, jauchige Fremdkörperfistel, streifige Degeneration des Herzfleisches und folgende Veränderungen des eingeschickten Harnapparates die einzig sichtbaren pathologischen Befunde.

Beide Nieren, 1670 und 1840 g schwer, erscheinen dunkelbordeauxrot, entzündlich injiziert, etwas vergrößert. Die Oberfläche ist gefleckt und marmoriert durch eine Menge grauroter oder gelblicher Infiltrationsherde und Absceßchen, die in der Rinde verstreut und zwischen Niere und Nierenkapsel eingelagert als schwach konvexe Erhebungen über das Parenchym prominieren oder tiefer liegend sich nur schwach andeuten oder auch nach Abzug der mit Parenchym und perirenalem Bindegewebe verklebten und verwachsenen Propria geschwürsähnliche Gewebsdefekte auf der Rindenoberfläche zurücklassen.

Vereinzelte Renculi zeigen abweichend hiervon lehmgelbe Färbung und strahlige, tiefeingezogene Narben. Fluktuation ist an diesen Nierenkeilen nicht nachzuweisen.

Auf dem Halbierschnitte sind miliare Absceßchen, weiße und rote Infarkte der Rindenpartien auffallend. Einige Gefäßchen sind durch gelbschimmernde, käsige Thromben verstopft.

Für die oben ausgeführte Theorie der hämatogenen Entstehung ist nun von beweisender Bedeutung, daß infolge dieser typischen Nephritis purulenta punctata embolica in der Marksubstanz der einzelnen Renculi Veränderungen entstanden sind, welche die ganze Entstehungsweise in den einzelnen Stadien verfolgen lassen.

In der Marksubstanz einzelner Nierenkeile, die fast durchweg durch starke Gefäßinjektion dunkel gestreift sind, treten gegen die Papillenspitze zu weiße Cylinder in den Harnkanälchen auf. In anderen wieder, die sonst dieselben Veränderungen zeigen, hängt in den Nierenkelch ein derbzäher aus Fibrin und eitrigem Schleim gebildeter Pfropf, der gestielt aus der Vereinigung der Sammelröhren hervorragt. In anderen Nierenkelchen vereinigen sich die abgeschwemmten Entzündungsprodukte zu einer den ganzen Raum ausfüllenden und erweiternden zähen Eitermasse.

Einzelne Papillenspitzen lassen deutlich zentral entstehende Nekrose erkennen. Das Gewebe wird dann trocken, käsig, rotgrau oder graugrün und ein scharf hervortretender, weißgelber Saum von Leukocyten grenzt die toten Gewebsteile gegen die noch lebenden stark injizierten dunkelroten Markpartien ab (Fig. 3 sind Renculi aus diesem Fall).

Nach vollendeter Papillenerstörung entsteht so in drei Renculis ein kugeliges Hohlraum, der ausgefaserte Gewebssaum besteht aus beschriebener Demarkationslinie. Die Papillenspitze ist als käsiges, rotgraues, scheinbares Eiterkonkrement in den gelben Eitermassen der betreffenden Kelche zu finden.

Die lehmfarbenen auffallenden Nierenkeile bilden die Decke über stark erweiterte, durch Eitermassen ausgefüllte Abteilungen des Pyelon. Statt des nekrotisch ausgefaserten Saumes hat der Markkegel eine derbfibröse



Abgrenzung gegen den erweiterten Nierenkelch; bindegewebige Ver-  
narbung ist eingetreten.

Die Harnleiter sind zu Daumendicke geschwellt, in der Wandung  
verdickt, wie eben auch sonst bei typischer Erkrankung dieser Art.

Ebenso ist die Blasenwand erheblich verdickt; Schleimhaut im Zu-  
stand der akuten Entzündung, Schwellung, Rötung.

Der flüssige Blaseninhalt ist trüb. Am Boden der Blase liegt ein  
ungefähr fünfmarkstückgroßer zäherber Kuchen von Fingerdicke,  
aus denselben schlickerigen bis festen Massen bestehend, die sich im  
Harnleiter anstauen.

Während nun die Einmündung des linken Ureters frei von Belag  
oder von herabdrängenden Entzündungsprodukten ist, hängt aus dem  
rechten ein dicker, scharf begrenzter, derb zusammen-  
haltender platter Strang aus Fibrin und schleimigem Eiter mit  
Blutstreifen durchmischt in die Blase.

Ich vermute, daß das am Blasengrund lagernde Konkrement ebenfalls  
aus der Harnleitermündung (des linken Ureters) hervorquoll und durch  
Schwerkraft oder irgend ein Trauma bei Schlachtung, Exenteration oder  
Versandt abgerissen frei in die Blase zu liegen kam.

Mikroskopisch: Gewöhnliche Befunde; Gerinnsselflocken, Schleim-  
fäden, Epithelien, Erythrocyten, Leukocyten, Detritus, Bakterienhaufen,  
Tripelphosphat.

Kulturen: *B. renalis* und Streptokokken.

Wir haben hier ein mustergültiges Bild einer Pyelitis, Ureteritis,  
*Cystitis bacteritica descendens*.

#### Bakteriologie.

##### Morphologie der Bacillen im Eiter.

Gewöhnlich ist ein Gemisch von Bakterien in den so ver-  
änderten Nieren nachweisbar, nur selten ist eine einzelne Bakterienart  
in Reinkultur vorhanden (Fall IV, X, XI und die Fälle vom Kalb; s.  
auch 11, p. 393; 12, p. 472; 10, p. 350; 13, p. 417).

Wie aus den vorstehenden Angaben über die Bakterienfunde zu er-  
sehen ist, waren in 24 Fällen 6mal Staphylokokken, 12mal Diplokokken  
und Streptokokken, 8mal Coli-ähnliche Stäbchen, 12mal ein Stäbchen,  
das mit dem *Bac. pyogenes* Künnemann identifiziert werden muß,  
11mal der *Bac. renalis bovis*, 2mal Tuberkelbacillen nachzuweisen;  
während nun in Fall IV und bei den 2 Kalbsnieren der *B. pyog. K.*  
in Reinkultur, bei XI Streptokokken, bei X Streptokokken in Reinheit  
vorhanden waren, habe ich den „Pyelonephritiserreger“ nie isoliert ge-  
funden, sondern stets mit anderen gemengt, freilich oft in solchen Massen,  
daß er vollständig die anderen Bakterien verdeckte (Photographien der  
Eiteraufstriche).

Der *Bac. pyelonephritidis* oder, wie er von Bollinger,  
Enderlen und Hess genannt war, *B. renalis*, wird von seinen Unter-  
suchern als 2—3  $\mu$  langer, 0,6—0,7  $\mu$  breiter, unbeweglicher gekrümmter  
Bacillus beschrieben, mit abgerundeten Enden, nach Gram-Weigert  
färbbar. Während Höflich (10, p. 350) die gleichmäßige Färb-  
barkeit betont, beschreibt Bongert „unterbrochene Färbung  
und kolbige Verdickungen“ (3, p. 212).

Genauere Untersuchung der Aufstriche läßt diese Beschreibung in  
folgenden Punkten ergänzen: die *B. renales* sind gewöhnlich 2—3—4  $\mu$   
lange, 0,5—0,6  $\mu$  dicke, oft zu kurzen Fadengebilden aus-

wuchernde Stäbchen von unregelmäßiger Gestalt und Größe. Bald erscheinen sie als Haufen schlanker, eigentümlich starrer lanzettlicher oder ovaler Stäbchen, in der Mitte oder an den Enden etwas

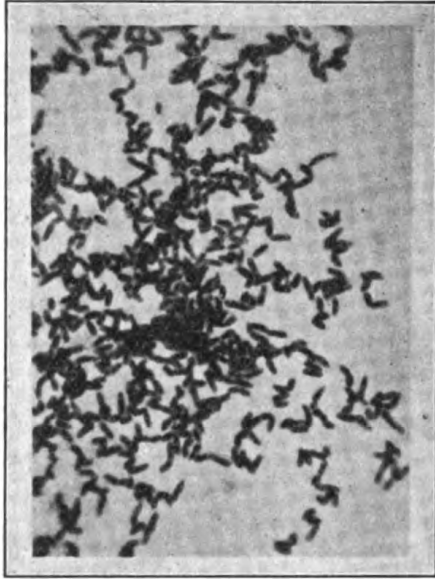


Fig. 4.

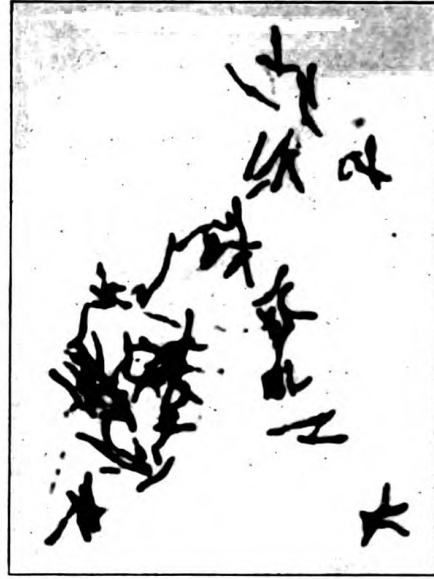


Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.

Fig. 4. Stäbchen und lanzettliche Formen aus Eiter von Fall I (Gram).  $1 \mu = 1,2 \text{ mm}$ . (Phot.)

Fig. 5. Längere Stäbchen zu Netzen und Haufen verschlungen. Eiter von Fall I (Gram).  $1 \times 1200$ . (Phot.)

Fig. 6. Fadengebilde mit Knospen, Verzweigungen. Differenzierung des Protoplasma. Eiter aus Fall I (Gram).  $12 \text{ mm} = 10 \mu$ . (Phot.)

Fig. 7. Fadennetze mit Endkolben. Eiter aus Fall II (Gram).  $1 \times 1200$ . (Phot.)

verdickt und stärker gefärbt (Fig. 4), bald wieder erscheinen sie bis  $4 \mu$  lang mit allen möglichen Uebergängen zu längeren Fadengebilden (Fig. 5), die dicker wie die vorigen sich zu Ballen und Netzen verschlingen (Fig. 6). Bei Färbung erscheint teils leiterartige Felerung (Fig. 6), teils homogene Struktur des Protoplasma. Solch längere Fadengebilde weisen keulige Endanschwellungen und kugelige Knöpfchenbildung (Fig. 7 und 8) ähnlich wie Aktinomycceten auf und zeigen Ausbuchtungen und knospentartige Auswüchse verschiedenster Art (Fig. 6), wie auch vollendete echte Verzweigungen des öfteren zu sehen sind (Fig. 8).

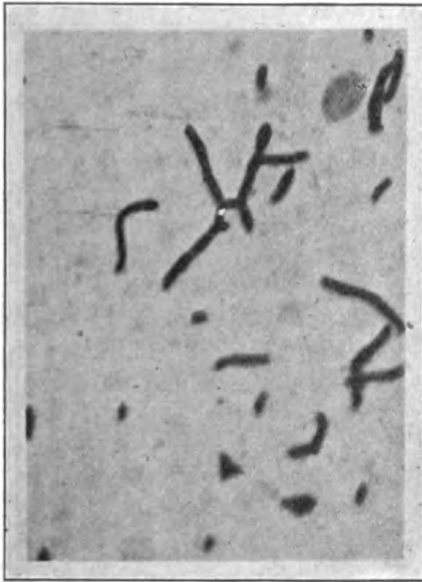


Fig. 8.

Fig. 8. Verzweigung. Eiter aus Fall II (Gram).  $1 \times 1200$ . (Phot.)

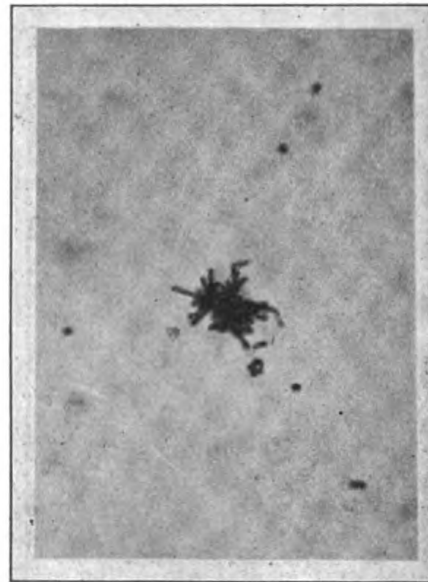


Fig. 9.

Fig. 9. Strahlenpilzähnliche Druse aus Fall III. Daneben Diplokokken. Eiter (Gram).  $1 \times 1200$ . (Phot.)

Die Pleomorphie des Keimes liefert so variable Formen, daß scheinbar Diplokokken, Streptokokken, gefelderte Stäbchen und Ketten, homogene tingible Fäden mit Keulen, lanzettlichen und myrtenblattähnlichen Auftreibungen zu Haufen oder strahligen Drusen vereinigt (Fig. 9) ein wirres Durcheinander von Bakteriensorten zu liefern scheinen; aber schon die vorkommenden Formübergänge lassen vermuten, und das Vorkommen derselben Formen bei Reinzüchtung (s. spätere Figuren) bestätigen dies, daß wir es hier mit einer Art von Mikroorganismen zu tun haben.

Die Bakterien geben Gram schwer ab; bei stärkerer Auswaschung ist eine Differenzierung des Protoplasma konstatierbar (Fig. 6), besonders schön durch dünne Farblösungen hervorzuheben. Die Morphologie des Bac. renalis berechtigt uns, ihn in die Gruppe der Corynebakterien einzureihen (Naumann und Lehmann).

### Kultivierung.

Kulturversuche ergeben ebenso wie morphologische Vergleiche große Verwandtschaft mit der Diphtheriegruppe (vergl. 1). Die Isolierung gelingt unschwer auf den meisten Nährböden, besonders energisch ist das Wachstum auf frisch vorbereitetem Agar (Höflich 10, p. 354) bei 37°.

Verschiedenheiten in den Beschreibungen früherer Autoren betreffend Wachstumsbedingungen, Aussehen der Kolonien etc. (5; 10; 19; 15) lassen das Bestehen verschiedener Stämme vermuten, wie ja auch für die Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen des Menschen das Vorhandensein von verschiedensten Standortsvarietäten bekannt ist (20; 16; 25; 24).

Die 11 Fälle, die mir den *B. renalis* lieferten, beweisen dies.

Fall I hatte zwei Varietäten eines morphologisch nicht unterscheidbaren Stäbchens (Var. I und II). Die eine Abart I wuchs bei Zimmertemperatur (Agar) gelblich durchscheinend, Kolonien waren fadenziehend, bei 37° trocken grau. Die andere II. Abart wuchs weißgelblich trocken, griesig, fast wie Kulturen von Menschen-tuberkelbacillen, bei Zimmertemperatur blieb jedes Wachstum aus. Diese Abart II. war identisch mit einer in weiteren 9 Fällen zu findenden Varietät, die ebenso wie der Stamm von Fall XIII wuchs, dessen Stäbchen aber auch bei Zimmertemperatur gediehen und zuerst trockene, später schleimig glänzend werdende, nicht konfluierende Kolonien bildete. In XVIII endlich waren die Kolonien porzellanartig weiß und glänzend. Weitere Unterschiede unter den verschiedenen Stämmen bestanden nicht. Auch der als Varietät I bezeichnete Stamm verlor durch langes (5 Monate) Fortzüchten bei 37° die Fähigkeit, fette, durchscheinende massige Kolonien bei Zimmertemperatur zu bilden. Das Wachstum war nun auch bei 17° äußerst spärlich, die Kultur blieb grau, trocken. Slavyk und Manikatide (27) beschreiben ähnliche „Transformations“-Möglichkeit für verschieden aussehende echte Diphtheriestämme, sogar einheitliche Stammformen lassen sich leicht in variable, erst langsam wieder ineinander übergehende Wachstumsformen bringen (s. 189).

Außer den angegebenen Unterschieden konnte ich keine bemerken gegenüber dem in 10 Fällen gezüchteten Stamm II (Morphologie und Virulenz ebenso), dessen Kulturmerkmale ich hier folgen lasse.

**Schiefes Agar:** Bei 37° weißliche, erhöhte, knollig höckerige, griesige Kolonien, die entweder in der Gesamtmasse an dem berührenden Glasstab hängen bleiben oder fest dem Nährboden anhaften. Das Kondenswasser bleibt klar, am Boden liegt ein mehlfeiner, staubähnlicher Bodensatz. Auf der Oberfläche des Kondenswassers schwimmen einige zarte Pünktchen. Die Kolonien erscheinen erst nach 48 Stunden, wachsen 2—3 Tage langsam, um dann ohne weitere Vergrößerung zu verharren (Fig. 10).

**Schiefes Glycerinagar:** Reinweiße, scharf umrandete, flache Kolonien, nach 48—72 Stunden scheinend mit weißem, porzellanartigem Glanz. Kondenswasser: griesiger Bodensatz.

**Schiefes neutrales Harnagar:** Gelblichgraue Kolonien als diskret verteilte trockene Körnchen, Kondenswasser: grauweißer, körniger Bodensatz; nach einigen Tagen, die Kolonien wachsen üppig, wird der Belag grau, fadenziehend, nach 14 Tagen tritt Braunfärbung des Impfstiches ein.

**Loefflers Serum:** Feuchter, zarter, grauweißer Belag, von nicht konfluierenden Kolonien, Wachstum geringer als auf Agar (Gegensatz zu Diphtherie). Isolierte Kolonien bilden einen kleinen, glänzenden halbkugeligen Rasen in grubiger Vertiefung.

Schief erstarrtes Blutserum: Wachstum sehr gering; kleine punktförmige Kolonien in grubigen Vertiefungen.

In hohem Agar entstehen um die Einstichstelle weißliche, nicht miteinander in Verbindung stehende Kolonien. Das Wachstum verändert den Impfstich zu einem feingranulierten Band, das  $1\frac{1}{2}$ –2 cm unter der Oberfläche verschwindet.

Am Rande können sich die einzelnen Kolonien rosenkranzförmig oder „alleeähnlich“ anordnen (s. auch Enderlen), Fig. 11.

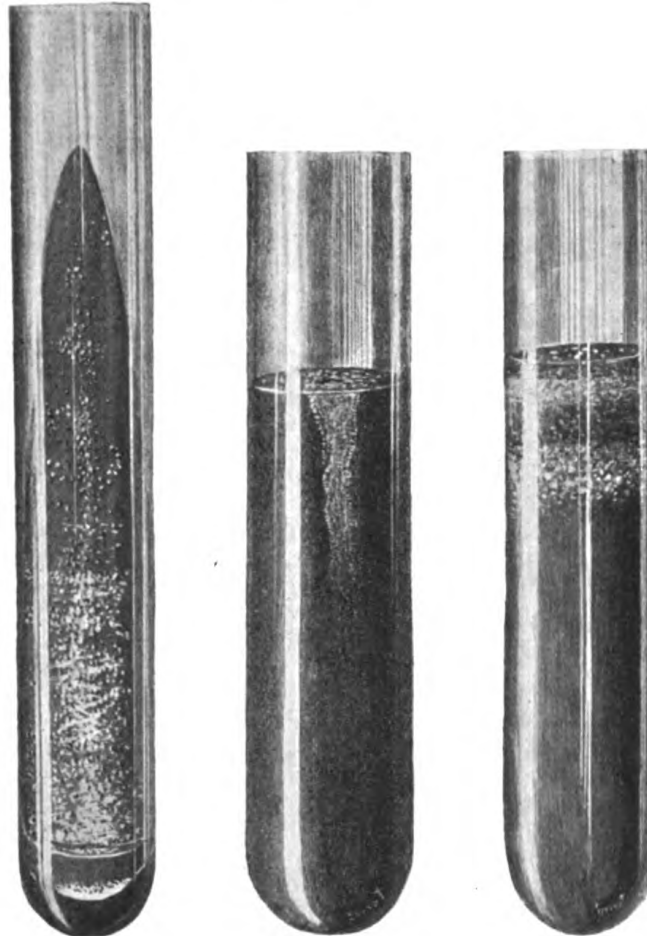


Fig. 10.

Fig. 11.

Fig. 12.

Fig. 10. 5-tägige Agarkultur. 2. Generation.

Fig. 11. 10-tägige Agarstichkultur. Rosenkranzförmige Ränder.

Fig. 12. 3 Wochen alte Agarschüttelkultur. 2 Wachstumszonen.

In rasch erkalteter Agarschüttelkultur erscheinen auf der Oberfläche bis etwa  $1\frac{1}{2}$  cm unter dieser zahlreiche punktförmige Kolonien mit gekerbter und gebuchteter Umrandung. Aeltere über 3 Wochen alte Kulturen erscheinen dadurch charakterisiert, daß die zahlreichste Kolonienentwicklung 2–3 mm unter der Oberfläche statthat, und  $1-1\frac{1}{2}$  cm unterhalb eine weitere ebenfalls ca. 2 mm breite Wachstumszone existiert, so daß 2 Optimal-schichten mit üppig entwickelten Kolonien gegenüber den fast koloniefreien übrigen Schichten des Nährbodens bestehen. Häufig sind die Rasen der unteren Schicht weniger gehäuft, dafür desto üppiger (Fig. 6).

Bei Harnzusatz zu hohem Agar ist das Wachstum auch in tieferen Schichten des Nährbodens ein bedeutend stärkeres, im Stich bis weit in die Tiefe wachsend. Dabei ist auffällig, daß längs des Impfstiches um diesen herum starke Kristallbildung entsteht, es bildet sich ein förmlicher Mantel. Mikroskopisch sieht das Salz dem Tripelphosphat gleich.

Wachstumsbedingungen	Stämme	Pyelonephritis			
		Höflich	Enderlen	Masselin und Porcher	Künemann
Agar	Weißgrau, dick, schleimig, fadenziehend	Graue, punktförmige Kolonien	.	Anfangs durchsichtige, später trübe, grauweiße Kolonien	
Glycerinagar	Dick, schleimig, fadenziehend	.	.	.	
Serum, schief erstarkt	Grauweißes, üppiges Band	Etwas größer als auf Agar, sonst ähnlich, Kondenswasser, feiner Niederschlag	.	Aehnlich wie auf Agar	
Löfflers Serum	.	.	.	.	
Bouillon	Weißflockiger, zopfig, fadenziehender Bodensatz; obenstehende Nährlösung klar	Feinkörniger Bodensatz, Bouillon ungetrübt	Langs. Wachstum mit anfänglicher Trübung, später (10 Tage) Klärung	.	
Glycerinbouillon	.	.	ähnlich	.	
Gelatine	Ohne Wachstum	Ohne Wachstum	Runde, weißgraue Kolonien, keine Verflüssigung	ohne Wachstum	
Kartoffel	.	„ „	.	„ „	

Ernst	Corynebakterien		
	Pseudodiphtherie		Echte Diphtherie (Beck. W. u. K.) und eigene Versuche
	des Rachens nach Prochaska	sog. Xerosebac. (Lewandowsky, A. Neisser)	
mit allen Uebergängen zueinander			
Weißliche, trocken grie- sige oder feuchtglän- zende, nicht schlei- mige (anfangs) oder trockene, grauschup- pige Kolonien, bald üppig, bald äußerst spärlich. Also sehr variabel. Kondens- wasser klar, etwas Bodensatz	Grobkörnige, grau- weiße bis dick, saftig weiße Kolonien u. Leisten	Kümmerliche, sehr kleine, oft erst nach 3—4 Tagen erscheinende Ko- lonien	Gewöhnlich, grauweiß schuppige, trockene Kolonien, spärliche Entwicklung, selten üppig
Meist weiße, porzellan- artig glänzende, nicht schleimige, eher brei- ige Rasen. Kondens- wasser klar, kugeliger Satz	Anfangs klein., durch- sichtige, schon nach 24 St. weiß werden- de, feucht-glänzen- de, breite Leisten bildende Kolonien (2 Fälle zart, 3 Fälle gelb)		Aehnlich wie auf Agar, etwas besser
Zarte, durchsichtige, glänzende, tautropfen- ähnliche, weißgraue Pünktchen vereinzelt. Kondenswasser klar	Zarte, feine, durch- scheinende Kolo- nien, die grauweiß werden	Grau, matt, nicht konfluierend; sehr langsam	Kleine Kolonien, die langsam an Größe zu- nehmen. Gedeihen er- heblich besser als auf Agar, aber nicht so üppig wie folgende
Etwas zahlreichere Ent- wicklung, durch- scheinender glänzen- der gelbgrauer Kolo- nien	Anfangs sehr zarte, später grauweiß sich ausdehnende, fast nie so üppig wie „Diphtherie“ wach- sende Kulturen	Meist kleine Kolo- nien, trocken, matt	Nach 12 Std. winzige, opake, glänzende Ko- lonien, die nach 24 bis 48 St. einen dicken, weißen Ueberzug bil- den, der weißgelb werden kann
Mehlstaubähnlicher Bo- densatz oder Glas- belag, Nährlösungs- selten trüb (und dann nur am Anfang der Entwicklung). Der Satz wird später fa- denziehend	Nach 24 St. schon Trübung, erst nach Wochen Klärung, dabei körniger oder fadenziehender Bo- densatz	Feinflockiger Bo- densatz u. Wand- belag, Nährlösung fast immer klar	Bald mehlstaubähn- licher, bald bröcke- liger Bodensatz, nicht selten mit Trübung der Bouillon. Häufig ein kräftiges Ober- flächenhäutchen mit „Stalaktitenbildung“ in die Nährlösung
Kugeliger Bodensatz, obenstehende Flüs- sigkeit klar, oben schwimmt ein zartes Häutchen in der Mitte des Spiegels			ähnlich
Selten und nur spärlich ohne Verflüssigung (nur einmal Fall I etwas üppiger, grau- gelb)	Kleine, feine Kolo- nien mit wachs- artigem Glanz, ge- wöhnlich weiß (3 Fälle gelb)	meist nicht	Gut, aber verlangsamt
Kartoffel: nicht	nicht	nicht	kümmerlich

Wachstumsbedingungen	Stämme	Pyelonephritis			
		Höflich	Enderlen	Masselin und Porcher	Künnemann
Milch	.	.	Ohne Wachstum	.	.
aërob, anaërob Säurebildung	beides	.	aërob (streng)	streng aërob	.
Temperatur	nur bei 37°	.	bestens bei 37°	.	37°

In Bouillon ist das Wachstum dadurch prägnant, daß die Nährlösung nicht oder selten nur wenig und vorübergehend getrübt wird, und ein wolzig flockiger oder mehlstäubähnlicher Bodensatz nach 2—3 Tagen entsteht, der nach einer oder erst nach mehreren Wochen fadenziehend schleimig wird. Häufig schwimmen auf der Oberfläche der Flüssigkeit kleinste, wasserlinsenähnlich gruppierte Kolonien als zartes Häutchen oder es setzen sich an der Wandung des Reagenzglases punktförmige, isolierte Kolonien fest.

Glycerinbouillon: Runde, kompakte Kolonienkugeln rollen am Boden des Glases. Keine Trübung der Bouillon. Wachstumshöhepunkt am 3.—5. Tage.

In Gelatine, bei 37° gehalten, wachsen am 5.—8. Tage spärliche, weiße, stecknadelkopfkleine Kolonien an der Wand des Glases haftend und am Boden. Auf der Oberfläche ein zartes, trübgraues, in der Mitte schwimmendes Häutchen. Bei Zimmertemperatur entstand nur einmal auf Gelatine bemerkbares Wachstum ohne Verflüssigung.

Kartoffel: Keine Vermehrung.

Milch: Vermehrung ohne Veränderung des Substrats. Die Vermehrung läßt sich nachweisen durch Abzüchten auf Agar.

Flüssiges Serum: Wachstum ohne Besonderheiten.

Die kulturellen Eigenschaften der von mir gezüchteten Stämme ergeben ihre Identität mit den von Enderlen und Höflich beschriebenen Bakteriensorten. Die von diesen Autoren angegebenen Merkmale stimmen mit geringen Unterschieden in der Hauptsache mit den von Masselin und Porcher und Liens und Zwaenepoel und anderen isolierten Keimen überein. Der *B. pyogenes bovis* Lucet scheint jedoch nach seinen Eigenschaften: Größenverhältnisse; aërob-anaërob; Wachstum auf Agar; baldiges Absterben der Kulturen; Pathogenität für Meerschweinchen nicht identisch mit dem „Pyelonephritisbacillus“ zu sein (s. dagegen Ansicht Glages in W. und K. Handbuch, 8, p. 809). Um die Zugehörigkeit der beschriebenen Art zu der „Diphtheriegruppe“ zu beleuchten, stelle ich in folgender Tabelle die Kulturmerkmale zusammen.

Aus der Vergleichung geht hervor, daß die von den einzelnen Autoren angeführten Stämme tatsächlich den „diphtherieähnlichen“ Bacillen ant. hom. entsprechen. Nach morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten nähern sich unsere Stämme bald mehr den Pseudodiphtheriebacillen des Rachens, bald mehr den sogenannten Xerosebacillen.



Ernst	Corynebakterien		
	Pseudodiphtherie		Echte Diphtherie Beck. W. u. K.) und eigene Versuche
	des Rachens nach Prochaska	sog. Xerosebac. (Lewandowsky, A. Neisser)	
	mit allen Uebergängen zueinander		
Milch: gut, ohne Aenderung des Substrats	Lebhaft, ohne Aenderung des Nährbodens	.	Gut, ohne Gerinnung
aërob	aërob	aërob	aërob
Erhöhung der Alkaleszenz, nie Säuerung	Meist Erhöhung der Alkalinität, nie Säuerung	nur selten geringe Säurebildung	in der Regel schon nach 2 × 24 St. starke Säuerung
bestens 35—37°	bestens bei Brutwärme, gut aber langsam bei 18°	bestens bei 37°, unter 25° nur sehr kümmerlich	zwischen 33 und 37°, darunter erheblich verlangsamt

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Staphylokokkeninfektion bei den Hasen.

Von Dr. med. vet. **Moritz Bürgi**, Bern.

Mit 4 Figuren.

(Fortsetzung.)

Das Krankheitsbild zeigt als durchschlagende Eigentümlichkeit eine große Neigung zu Blutungen, Entzündungen und Eiterbildungen, die auf eine Infektion mit einem Bakterium zurückzuführen waren. Es gelang mir, kulturell fast aus allen Fällen eine bestimmte Art darzustellen. Da stets mit geglühten Messern aus den am meisten veränderten Herden Material entnommen wurde, so ergaben selbst ältere Kadaver beinahe Reinkulturen.

Der Coccus erschien in der Regel in zwei Formen, nämlich einer größeren von 0,8 und einer kleineren von 0,4  $\mu$ . Bald überzog die eine, bald die andere Form und aus der einen Varietät konnte auf Platten die andere gezüchtet werden. Die Färbung gelang sowohl mit Thionin als mit dem Gramschen Verfahren. In den Präparaten erschienen die Kokken vereinzelt oder zu zweien, dreien oder in Haufen. In den Milchkulturen sah man deutliche Ketten von 3, 4, 6 und mehr Gliedern. Weder Vakuolen noch Kapseln waren wahrzunehmen. Die Kokken wuchsen auch ziemlich gut anaërob. Weit besser gediehen sie bei Luftzutritt. Was die Temperatur anbetrifft, war festzustellen, daß sie gut bei Zimmertemperatur, besser und schneller aber im Brutofen sich vermehrten.

### Das Verhalten der Kokken auf den verschiedenen Nährböden.

**Bouillon.** Verwendet wurde immer Pferdefleischbouillon mit Pepton und Kochsalz. Nach 24 Stunden ist die Bouillon gleichmäßig stark getrübt. Nach einigen Tagen bildet sich ein ziemlich reichlicher, weißer Bodensatz. Die Farbe der Bouillon bleibt unverändert. Oft bildet sich eine zarte Kahlhaut. Die Kultur bleibt ganz geruchlos.

**Gelatine.** Bei den StICKKulturen erscheint meistens längs des StICKkanales eine gleichmäßige weiße Trübung oder wir sehen längs des Kanales zahlreiche weiße, kleinste Pünktchen auftreten. Bei den Plattenkulturen beginnt nach ziemlich kurzer Zeit eine Verflüssigung. Am besten gedeihen die Kokken in gewöhnlicher Bouillongelatine, während Zusatz von Zucker zur Gelatine das Wachstum verzögert. Bei Zugabe von Eiweiß tritt keine merkliche Beschleunigung des Wachstums ein. Die Verflüssigung der StICKkulturen erfolgt trichterförmig und am Grunde des Trichters bildet sich, meist in Form eines Klümpchens, ein weißer Bodensatz. Die Verflüssigung beginnt schon nach 24 Stunden. In den Plattenkulturen sieht man am ersten Tage nichts, am zweiten treten kleinste weiße Pünktchen auf. Diese wachsen zum Teil sehr rasch und nach 3—4 Tagen ist der Befund auf den Plattenkulturen folgender:

- 1) Ziemlich große, verflüssigte Kolonien.
- 2) Ziemlich große, noch nicht verflüssigte Kolonien.
- 3) Kleine, nicht verflüssigte Kolonien.
- 4) Kleine, blasse, nicht verflüssigte Kolonien in der Tiefe.

Hat die Verflüssigung begonnen, so schreitet sie ziemlich rasch vorwärts und es haben nach 8—14 Tagen (eventuell auch 20) sämtliche Kolonien die Größe von No. 1 erlangt und sind verflüssigt.

**Agar.** In hohem Agar wachsen die Kokken trotz des Mangels an Luft gut. Es treten überall kleine weiße Pünktchen auf. Auf schrägem Agar bildet sich schon nach 12 Stunden ein schwacher, weißer Ueberzug, bestehend aus kleinsten weißen Pünktchen. Nach 24 Stunden ist das Wachstum so mächtig, daß die Pünktchen verschwinden und an ihre Stelle ein starker, intensiv weiß gefärbter Ueberzug tritt. Das Kondenswasser wird getrübt.

**Kartoffel.** Nach 2—3 Tagen wird auf der Kartoffel ein dünner, schwächer, weißer, auf den Strich beschränkter Ueberzug sichtbar. Eine Veränderung der Kartoffel tritt nicht ein.

**Milch.** Die Gerinnung der Milch beginnt nach kurzer Zeit, ungefähr 24 Stunden, und ist nach 4—6 Tagen fest. Das Serum ist stark sauer.

Dem Leser dieser Beschreibung kann nicht entgehen, daß die geschilderten Merkmale genau mit denjenigen des *Staphylococcus pyogenes albus* (Rosenbach) übereinstimmen. Vorbehalten ist natürlich noch die Frage der Virulenz, auf die wir nun eintreten.

#### Prüfung der Virulenz.

Das geeignetste Versuchstier für die Impfungen ist das Kaninchen. Alle geimpften Tiere dieser Art wurden krank,  $\frac{3}{4}$  derselben gingen zu Grunde. Auch die Maus ist empfindlich, aber schon etwas weniger, denn von 30 Tieren standen 16 um, 9 erkrankten, genasen aber wieder und 5 erwiesen sich als nicht empfänglich. Zu den Impfungen werden sowohl weiße wie graue Mäuse verwendet, und es konnte kein Unterschied in der Empfänglichkeit bemerkt werden. Die Meerschweinchen erschienen uns wegen ihrer Immunität unbrauchbar. Höchstens entstand bei ihnen an der Impfstelle ein kleiner Absceß. Von Tauben erkrankte nur  $\frac{1}{3}$  der Geimpften. Die Versuche zerfallen in zwei Hauptgruppen: solche, die mit kranken Geweben, und solche, die mit Reinkulturen gemacht wurden.

##### A. Impfungen mit kranken Geweben.

Zu diesem Zwecke wurden Kaninchen kleinste Stücke der am meisten veränderten Organe in eine Hauttasche gebracht, die dann aseptisch

zugenäht wurde. Für Mäuse zerrieb ich das Material zu einem Brei und schob davon mit einer Oese unter die Haut der Schwanzwurzel.

Auf 10 Kaninchen wurde Eiter und Exsudat, sowie Lunge und Milz der Hasen 8, 11, 14, 15, 17 und 18 verimpft. 7 dieser Tiere gingen nach 4--18 Tagen zu Grunde, 3 genasen nach einer mehrtägigen Erkrankung wieder. Als Beispiel führe ich Kaninchen 1 an:

Dasselbe wurde am 23. Juni 1903 mit Material aus den Abscessen des Hasen 17 geimpft. Schon nach 12 Stunden ist das Tier krank, denn es versagt jede Futteraufnahme und sitzt unbeweglich in seinem Käfig. Der Tod erfolgt nach 6 Tagen.

**Sektionsbefund:** Blut im Herzen gut geronnen. Das Herzfleisch mit vielen, bis stecknadelkopfgroßen weißen Pünktchen durchsetzt; auch die Herzklappen sind mit Pünktchen dicht besetzt. Die Lungen groß, an vielen Stellen derb und luftleer. Der rechte vordere Lappen überall lufthaltig. Der mittlere Lappen zum größten Teil dunkel verfärbt und luftleer. Im hinteren Lappen ein nußgroßer Absceß mit dickem Eiter. Der linke vordere Lappen überall luftleer, der mittlere ebenso; es befinden sich außerdem in denselben noch zwei kleine Abscesse. Der hintere Lappen nur an der Spitze luftleer. In der Bauchhöhle etwas Blut. Das Peritoneum stellenweise stark gerötet und mit dicken Fibrinablagerungen überzogen. Die Milz groß, Kapsel glatt, Pulpa von normaler Konsistenz. Die Leber und beide Nieren normal. Im Magen eine mäßige Menge Futter, mit etwas Schleim überzogen, Schleimhaut blaß. Im Dün-, Dick- und Mastdarm normaler Inhalt, Schleimhaut überall blaß. An der Impfstelle nur wenig Reaktion. Dagegen sind in der Rücken- und Oberschenkelmuskulatur mehrere stecknadelkopf- bis nußgroße Abscesse vorhanden.

**Bakteriologische Untersuchung:**

Mikroskopisch und durch das Kulturverfahren wurden in den Organen Staphylokokken nachgewiesen.

*Resumé: Myokarditische Abscesse, Pneumonie mit Absceßbildung, Milzschwellung, fibrinöse Peritonitis, Gastritis, Abscesse in Rücken- und Oberschenkelmuskulatur, allgemeine Staphylokokkeninfektion.*

Die Sektionen der übrigen Versuchstiere ergaben folgenden Befund: An der Impfstelle manchmal, aber nicht immer, ein Absceß. Das Blut im Herzen gut geronnen. Einmal nur kam eine Pericarditis vor. Viermal auf 7 Sektionen fand ich multiple kleine Abscesse im Myocardium. Häufig bestand Pneumonie und Absceßbildung in der Lunge. Manchmal konnte Peritonitis festgestellt werden. Die Milz war fast immer vergrößert. Nierenabscesse kamen einmal vor. Nicht selten war Gastroenteritis vorhanden. In den Strichpräparaten von verschiedenen Organen fehlten die nach Gram färbbaren Kokken nie.

Von 11 Mäusen starben 6 schon in 1—4 Tagen. 5 wurden nur wenig krank und erholten sich ziemlich rasch wieder. Zur Verwendung kam bei ihnen, wie bei den Kaninchen, Eiter, Lunge, Milz, Niere der Hasen 8, 11, 14, 15, 17 und 18.

Bei den gestorbenen Mäusen fand sich an der Impfstelle etwas Oedem oder gar keine Reaktion vor. Es bestand stets eine hochgradige Gastroenteritis und eine sehr bedeutende Milzvergrößerung. In allen Organen konnten nach Gram färbbare Kokken nachgewiesen werden. Als Beispiel sei hier folgender Versuch erwähnt:

**Maus 24.** Dieselbe wurde am 24. Juni 1903 mit Material aus den kranken Lungenstücken des Hasen 11 subkutan geimpft. Das Tier erkrankt bald nach der Impfung und stirbt nach 3 Tagen.

**Sektionsbefund:** Die Milz sehr groß. Die Leber groß und blutreich. Beide Nieren normal. Im Darm viel dünnflüssiger Inhalt. Die Impfstelle ist etwas ödematös und hart.

**Bakteriologische Untersuchung:**

Mikroskopisch und durch das Kulturverfahren wurden in den Organen Kokken nachgewiesen.

**Intravenöse Impfung:**

Intravenös wurden 2mal Blutproben in die Hautvene des Ohres gespritzt.

Kaninchen. Dasselbe wurde am 24. Juni 1903 mit 1 ccm verdünnten Blutes der Leber des Hasen 11 intravenös geimpft. Am Tage nach der Impfung war das Tier matt und nahm nur noch ganz wenig Futter auf. Von da an trat allmähliche Abmagerung ein und am 20. Juli 1903 verendete das Tier.

Sektionsbefund: Magerer Kadaver. Keine Totenstarre mehr. Der After stark beschmutzt. Das Blut im Herzen gut geronnen. Im Herzmuskel unterhalb des Papillarkörpers ein abgekapselter Absceß. Unter dem Pericard, unter der Serosa des Duodenums und unter der Kapsel der rechten Niere ausgedehnte eiterige Infiltrationen. In der Streckmuskulatur des Halses zwei große Abscesse. Die ganze rechte Rückenmuskulatur ist bis zur Lendengegend mit einem Absceß bedeckt. Im Subscapularis rechts ein nußgroßer Absceß. Das Köpfchen der 5. Rippe rechts ist erbsengroß, der Knochen porös und im Mark viel Eiter.

**Bakteriologische Untersuchung:**

Mikroskopisch und durch das Kulturverfahren wurden in den Organen Staphylokokken nachgewiesen.

Beim zweiten Versuche mit ähnlichem Sektionsbefund trat der Tod erst nach 7 Monaten ein.

**Intraperitoneale Impfung:**

Die intraperitoneale Einverleibung von Gewebsteilen wurde bei einem Kaninchen und 6 Mäusen mit Material von den Hasen 14, 17, 18 durchgeführt. Wie zu erwarten war, gingen alle Tiere in 1—4 Tagen, somit rasch zu Grunde. Die Sektion ergab: Heftige Peritonitis, Gastroenteritis, stets eine erhebliche Vergrößerung der Milz und Kokken in allen Strichpräparaten.

Als Beispiel führe ich an:

Kaninchen: Dasselbe wurde am 9. März 1904 mit Material der Milz des Hasen 14 intraperitoneal geimpft. Nach 12 Stunden ist das Tier schwer krank. Der Tod erfolgt nach 2 Tagen.

Sektionsbefund: Das Blut im Herzen gut geronnen. Das Herz und die Lungen normal. Das Peritoneum auf seiner ganzen Ausdehnung stark gerötet und mit großen fibrinösen Ablagerungen überzogen. Die Milz sehr groß, Kapsel gespannt, Pulpa von guter Konsistenz. Die Leber von normaler Größe, Gewebe blutreich. Beide Nieren normal. Im Magen wenig Futter, Schleimhaut blaß. Im Dünndarm etwas dünnflüssiger, im Dickdarm breiiger und im Mastdarm gebohnter Inhalt. Schleimhaut in allen Darmabschnitten blaß.

**Bakteriologische Untersuchung:**

Mikroskopisch und durch das Kulturverfahren wurden in den Organen Staphylokokken nachgewiesen.

Von den Mäusen führe ich als Beispiel Maus 1 an: Dieselbe wurde am 11. März 1904 mit Material aus den Leberabscessen des Hasen 14 intraperitoneal geimpft. Das Tier erkrankt nach kurzer Zeit und verendet nach 24 Stunden.

Sektionsbefund: Herz und Lungen normal. Das Peritoneum stark gerötet und mit dicken fibrinösen Ablagerungen überzogen. Die Milz sehr groß, Kapsel gespannt und glänzend. Die Leber und beide Nieren normal. Der ganze Darmtraktus normal.

**B. Versuche mit Reinkulturen.**

Subkutane Impfungen. Bei 7 Mäusen und 2 Tauben wurden Reinkulturen auf Agar von den Hasen 6 und 8 subkutan verimpft. Auffallend war die Verschiedenheit der Virulenz. 4 Tiere erholten sich in der Tat nach einem kurzen Schwächeanfall vollständig. Die anderen starben nach verschiedenen Zeiträumen, entweder nach einigen Stunden oder nach wenigen bis 13 Tagen. Sehr konstant war der Sektions-

befund: An der Impfstelle fehlten Erscheinungen der Reaktion. Die Milz war außerordentlich vergrößert. Stets bestand eine Gastroenteritis, die selbst hämorrhagisch sein konnte. In den Strichpräparaten aller Organe fand ich zahlreiche Kokken.

Als Beispiele führe ich hier den Sektionsbericht einer Maus und denjenigen einer Taube an.

**Maus.** Dieselbe wurde am 30. April 1903 mit Agarstrichkultur von der Pfote des Hasen 8 subkutan oberhalb der Schwanzwurzel geimpft. Schon nach 6 Stunden zeigte das Tier große Mattigkeit, Kauern und Sträuben der Haare. Der Tod erfolgte nach 24 Stunden.

**Sektionsbefund:** An der Impfstelle keine Reaktion. Herz normal. Die Lungen lufthaltig und blutreich. Die Milz groß, Kapsel gespannt und glänzend. Die Leber und beide Nieren zeigen nichts Besonderes. Im Dünndarm etwas weicher, breiiger Inhalt. Der Inhalt im Rectum sehr trocken. Der Uterus etwas groß, von dunkler Farbe und enthält halb ausgetragene Mäuschen.

**Bakteriologische Untersuchung:**

Mikroskopisch und durch das Kulturverfahren wurden in den Organen Staphylokokken nachgewiesen.

Erwähnt sei hier noch, daß ich die Kokken auch im Uterus und in den Föten in großer Zahl gefunden und kulturell nachgewiesen habe.

**Taube.** Dieselbe wurde am 30. April 1903 mit der Agarstrichkultur von der Pfote des Hasen 8 subkutan an der Brustseite geimpft. Am Tage nach der Impfung zeigt sich das Tier etwas matt. Die Futteraufnahme ist nur noch gering. Der Zustand verschlimmert sich allmählich und am 13. Mai 1903, also nach 14 Tagen, verendet das Tier.

**Sektionsbefund:** Magerer Kadaver. Die Schwanzfedern sind mit dünnem Kot beschmutzt. An der Impfstelle sieht man keine Reaktion. Das Blut im Herzen gut geronnen. Herz und Lungen normal. Die Milz mäßig vergrößert, Kapsel gespannt. Die Leber blutreich und morsch. Im Dünndarm ziemlich viel flüssiger Inhalt, Schleimhaut etwas gerötet.

**Bakteriologische Untersuchung:**

Mikroskopisch und durch das Kulturverfahren wurden in den Organen Staphylokokken nachgewiesen.

**Intraperitoneale Impfungen:**

Die intraperitoneale Injektion einer Bouillonkultur vom Hasen 9 veranlaßte bei 3 Mäusen den Tod. Eingespritzt wurden einige Tropfen der Flüssigkeit. Die Sektion ergab: Fibrinöse Peritonitis, Enteritis, Milzvergrößerung und die Gegenwart von zahlreichen Staphylokokken in den Strichpräparaten verschiedener Organe. Ein ähnlicher Versuch mit einer Bouillonkultur vom Hasen 10 veranlaßte bei 1 Kaninchen und 2 Mäusen nach 10 Tagen den Tod infolge Pneumonie und Lungenödem. Ein fernerer Versuch an einem Kaninchen und einer Maus mit einer Bouillonreinkultur vom Hasen 8 hatte nach 2 Stunden bei beiden Tieren große Schwäche zur Folge, die jedoch in vollständige Heilung überging.

Als Beispiel führe ich hier den Sektionsbericht einer Maus an. Dieselbe wurde am 20. Mai 1903 mit einigen Tropfen einer Bouillonreinkultur der Häs 9 intraperitoneal geimpft. Das Tier erkrankte nach kurzer Zeit sehr stark und verendete nach 20 Stunden.

**Sektionsbefund:** Herz und Lungen normal. Das Peritoneum gerötet und mit starken fibrinösen Ablagerungen überzogen. Die Milz sehr groß, Kapsel glatt und glänzend. Die Leber groß und blutreich. Beide Nieren normal. In allen Darmabteilungen dünner Inhalt.

**Bakteriologische Untersuchung:**

Mikroskopisch und kulturell wurden in den Organen Staphylokokken nachgewiesen.

### Intravenöse Impfungen:

Die Ergebnisse der intravenösen Einspritzungen fielen bei Kaninchen und Tauben sehr verschieden aus. 1 ccm verflüssigter Gelatinereinkultur vom Hasen 8 verursachte bei einem Kaninchen Lähmung, Hyperämie und nach 3 Tagen den Tod. Ein vorderer Lungenlappen war im Zustande der roten Hepatisation. Die Milz war sehr vergrößert und es bestand eine Enteritis. Das Blut zeigte das Hämoglobinspektrum. In allen Strichpräparaten verschiedener Organe waren zahlreiche Kokken vorhanden. Ein Kaninchen wurde mit 1 ccm verflüssigter Gelatinereinkultur vom Hasen 9 geimpft und starb nach 24 Stunden infolge Milzschwellung und Enteritis. Ein anderes Tier dieser Art erlag 2 Tage nach der Injektion unter ähnlichen Veränderungen. Zu dieser Impfung wurde 1 ccm Bouillonreinkultur vom Hasen 10 verwendet. Zwei andere Injektionen dieser Art beim Kaninchen und zwei bei der Taube verursachten nur vorübergehendes Unwohlsein oder blieben reaktionslos.

Die Uebertragbarkeit der Hasenkrankheit vermittelt des Experimentes auf Kaninchen und Mäuse steht außer Zweifel. Die gestorbenen Versuchstiere zeigten, wie die Hasen, gelegentlich Pleuritis, häufig myokarditische Abscessen, Pneumonie, fast stets Gastroenteritis, manchmal Peritonitis, einmal auch ein osteomyelitischer Absceß in einem Rippenköpfchen und in fast allen Fällen eine sehr große Milz, seltener Nierenabscesse. Konstant kam eine allgemeine Kokkeninfektion vor und in den angelegten Plattenkulturen fand man stets den betreffenden Staphylococcus. An der Impfstelle bildeten sich manchmal entzündliche Erscheinungen aus, jedoch nicht konstant. Die Krankheitsdauer wechselt von 1—14 (oft noch mehr) Tagen. Wie bei den Hasen, so zeigte auch bei den Versuchstieren die Sektion eine bemerkenswerte Abwechslung, bei der die Milzschwellung und die allgemeine Kokkeninvasion als die konstantesten Veränderungen bezeichnet werden konnten.

Bei einer trächtigen Maus ergab sich die Gelegenheit zu der Untersuchung, ob der Staphylococcus durch die Placenta hindurch die Föten zu infizieren im stande sei. Ich fand im Uterus dieser Maus halbausgetragene (etwa 2 Wochen) alte Früchte. Ich entfernte dieselben aus dem Uterus und goß sie, nachdem ich sie mit geglühtem Messer aufgeschnitten und ein kleines Stück davon zerrieben hatte, in Gelatineplatten aus. Die zahlreichen aufschießenden Staphylokokken ergaben den Beweis, daß die Föten infiziert waren. Vorher waren schon in den Strichpräparaten die Mikroorganismen erkannt worden. Diese Beobachtung wird durch die Versuche von Chambrelentes (9), Wolff und Oberdiek, welche den Uebergang der Staphylokokken von der Mutter auf die Frucht beim Tier nachgewiesen haben, bestätigt. Die gegenteilige Ansicht von Baldassini (9) erscheint in den meisten Fällen als nicht zutreffend. Nach Menge-Krönig (9) ist der Uebergang der Staphylokokken durch die Placenta auf die Frucht beim Menschen noch nicht mit Bestimmtheit nachgewiesen.

Schon früher wurde erwähnt, daß die durch Plattenkulturen rein gewonnenen Kokkenstämme in Bezug auf Gestalt und Wachstumsverhältnisse mit dem Staphylococcus pyogenes albus übereinstimmen. Nun gestattet der Verlauf der Impfversuche die Bestätigung der Identität der Hasenkrankheit mit der Staphylokokkeninfektion. Die Reinkultur erschien meist weniger virulent als der Eiter und die Gewebstrümmer. Indessen ist in Betracht zu ziehen, daß die Wachstumsbedingungen im Reagenzglase ungünstigere als im lebenden Tiere sind,

und deshalb sehr wohl geeignet erscheinen, die Virulenz herabzusetzen. Immerhin bleiben die festgestellten Unterschiede innerhalb der Grenzen, wie man sie täglich im Laboratorium antrifft. Ja, ich habe den Eindruck, daß die Staphylokokken von Hasen durchschnittlich eine höhere Virulenz als diejenigen aus anderen Bezugsquellen haben.

Alles drängt somit zu dem Schlusse, daß die Staphylokokkeninfektion für die Hasen auf dem Felde eine wichtige und häufige Krankheit darstellt und daß diese Krankheit speziell in Gränichen von 1903—1904 das ganze Jahr hindurch vorkam.

#### Wege der Infektion.

Als Eingangspforte des *Staphylococcus* in den Organismus der Hasen mußte man den Verdauungsapparat und die Haut in Betracht ziehen.

Zur Prüfung der ersten Möglichkeit verrieb ich kranke Gewebsteile der Hasen 8, 10 und 11 mit Brot zu einer Pillenmasse und setzte sie je 2 Mäusen vor. Die Tiere fraßen die Mischung gerne, nach 1—2 Stunden aber saßen sie mit aufgestäubten Haaren teilnahmslos an ihren Plätzen und verschmähten eine weitere Futteraufnahme. Nach einigen Stunden trat allmählich Erholung ein und nach 12 Stunden war jede Spur der Gesundheitsstörung verschwunden. Ganz so verliefen die Versuche bei einem Kaninchen, dem ich Gewebsteile der Hasen 8, 9, 10 und 11 beibrachte.

Die Verfütterung von Reinkultur von den Hasen 8 und 9 vermischt mit Brot veranlaßte bei 2 weißen Mäusen nach 2—3 Stunden Sträuben der Haare, Teilnahmslosigkeit und Dyspnoë. Nach 2 Stunden verschwand das Unwohlsein. Eine dritte Maus erlag der Fütterung nach 8 Tagen, während welcher der Sopor andauerte. Bei der Sektion fand man: Eine sehr große Milz, eine heftige Gastroenteritis, sowie Kokken in allen Strichpräparaten. Eine Plattenkultur von der Milz ergab Staphylokokken.

Jeder Fütterungsversuch dauerte 14 Tage.

Die Versuche fielen somit meist negativ, doch auch einer positiv aus. Kein Zweifel somit, daß durch Einführung von Staphylokokken in den Verdauungskanal eine Infektion erfolgen kann. Gegen das Toxin sind alle Tiere sehr empfindlich, wie denn bei den Infektionen eine sehr deutliche Gastroenteritis niemals fehlt. Aber ich glaube doch, daß für die in Freiheit lebenden Hasen die Fütterungsinfektion die Ausnahme sein dürfte. Es ist doch nicht anzunehmen, daß diese Tiere häufig auf Staphylokokkenkulturen geraten, und vereinzelte Mikroorganismen haben weniger zu bedeuten als sehr große Mengen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Bakteriologische Untersuchungen bei Trachom.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute der Universität Königsberg  
(Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. med. Arthur Luerssen, Assistenten am Institute.

Von den mannigfachen Bakterienbefunden bei Trachom haben am meisten die L. Müllers in Wien interessiert und zu lebhafter Diskussion geführt. Dieser Autor fand seit 1897 über hundertmal bei Trachom einen hämophilen Bacillus, der sich in nichts vom Influenzabacillus unterscheidet, den er aber für eine eigene Art: *Bacillus trachomatis*, ansieht und für den Erreger des Trachoms erklärt (L. Müller, Arch. f. Augenheilkunde. Bd. XL. p. 13, und v. Graefes Arch. f. Ophthalmologie. Bd. LVII. Heft 1).

L. Müller fand seinen *Bacillus trachomatis* in Pest unter 63 Fällen 23mal, in Wien unter 9 Fällen 3mal. Bei weiteren Untersuchungen in Aegypten konnte er ihn bei 123 mehr oder weniger frischen Trachomfällen 36mal nachweisen, bei 76 ausheilenden oder geheilten Fällen und bei 105 sonstigen Augenerkrankungen keinmal. In Graz fand er ihn bei einer Irrenanstaltsepidemie unter 32 frischen Fällen 23mal, unter 7 alten Fällen einer früheren Epidemie 2mal, und zwar bei Tränensackblennorrhöe; allerdings fand er ihn auch 4mal bei 6 Leuten, die mit diesen Trachomatösen zwar in Berührung gekommen waren, aber nur Katarrh der Conjunctiva aufwiesen. Bei Untersuchungen von Tränensackblennorrhöe wies er den *Bacillus trachomatis* 16mal nach, von diesen positiven Fällen hatten aber 3 kein Trachom.

Aus diesen hier nur kurz skizzierten Befunden, namentlich dem verhältnismäßig hohen Prozentsatz bei „frischem“ Trachom, schließt L. Müller, daß sein *Bacillus* der Erreger des Trachoms sei. Die Widersprüche seiner Befunde erklärt er teilweise durch Annahmen, so z. B., daß der *Bacillus* je nach Virulenz nicht nur ausgesprochene Granulose, sondern auch manchmal nur mildere, folliculäre oder rein katarrhalische Krankheitsformen erzeugt und daß er, da er in der Tiefe der Conjunctiva, vor allem in den Körnern, nicht nachweisbar ist, nur an der Oberfläche wuchert und durch sein Gift die Schleimhaut zu diffuser Entzündung und Körnerbildung reize. — Seine Schlüsse und Annahmen haben durch die bisherigen Nachforschungen keine weiteren Stützen bekommen, im Gegenteil sind sie stets bestritten worden. Während von einigen Forschern — wie Axenfeld, Jundell, zur Nedden, Morax und M. Neisser — hämophile Bacillen, die als Influenzabacillen angesprochen wurden, bei nichttrachomatösen, allerdings teilweise sonstige Influenza begleitenden Bindehauterkrankungen gefunden wurden, konnten zuerst die Befunde von hämophilen, Influenza-ähnlichen Bacillen bei Trachom nicht bestätigt werden: Addario, Axenfeld, Morax, C. Fränkel u. a. haben sie nicht gefunden, — Axenfeld nahm früher an, daß sie mit dem Koch-Weeksbacillus identisch seien, und bestreitet in der Folge ihre spezifische Pathogenität für Trachom. (Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse d. allgem. Pathologie d. Auges. 1901 und Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogen. Mikroorganismen. Bd. III.)

Von einigen Influenzaconjunctivitisfällen zur Neddens nimmt L. Müller allerdings an, daß sie leichte Trachomfälle gewesen seien, und



andererseits von den „Koch-Weeksbacillen“, die Gromakowski während Trachomepidemien unter russischen Soldaten bei Trachom und einfacher Conjunctivitis fand, daß sie mit seinem *Bacillus trachomatis* identisch sind.

Unter diesen Umständen schien eine Nachprüfung der Müllerschen Befunde wünschenswert und wurde mir von meinem Chef, Herrn Prof. R. Pfeiffer übertragen.

Inzwischen ist Müllers hämophiler *Bacillus* von einem amerikanischen Autor bei Trachom nachgewiesen worden. A. Knapp fand 1902 bis 1904 unter 120 Fällen von frischem Trachom bei New Yorker Schulkindern 8mal hämophile, nicht von Influenza zu unterscheidende Bacillen, hält diese Infektion aber nur für Begleitinfektion. Er wies auch einmal „Influenzabacillen“ bei einer ohne sonstige Influenzaerscheinungen auftretenden schweren pseudomembranösen Conjunctivitis nach. (Arch. of ophthalmology. Vol. XXXVIII. 1904.)

Meine Untersuchungen erstrecken sich über 9 Monate und sind an gestellt an ausgesuchten sezernierenden Fällen aus Ost- und Westpreußen und Rußland, die an der Granuloseabteilung der Königsberger Universitätsaugenklinik behandelt wurden. Um einen Ueberblick zu gewinnen, wurde Trachom verschiedenen Grades berücksichtigt. In der nachfolgenden Tabelle habe ich die Fälle nicht nach dem — ja meist zweifelhaften — Alter, sondern nach der Behandlung geordnet, da mir das am praktischsten erschien.

Es wurde Sekret, einige Male außerdem noch Quetschsaft, mit steriler Platinöse entnommen und auf Schrägagar abgestreift. War viel Sekret vorhanden, wurden Deckglaspräparate untersucht, sonst wurde gleich auf schräges Pfeiffersches Taubenblutagar verimpft. Die Röhrrchen wurden 24 Stunden — wenn negativ, zur Sicherheit 2—3 Tage — bei 37° bebrütet, dann das Schrägagar aus den Röhrrchen herausgenommen und untersucht unter Berücksichtigung der gemachten Erfahrung, daß die Kolonien der hämophilen Bakterien durchaus nicht immer so typisch aussehen, wie sie gewöhnlich beschrieben werden. Von den verdächtigen Kolonien wurden Abstich- und Klatschpräparate untersucht und Reinkulturen auf Nähr- und Blutagar angelegt, diese nochmals geprüft und, wenn positiv, weitergezüchtet.

Die hämophilen Bakterien waren vertreten durch den Koch-Weeksbacillus, einen hämophilen *Bacillus* vom Typus des Pfeifferschen Pseudoinfluenzabacillus und dem von L. Müller *Bacillus trachomatis* genannten Influenza-ähnlichen *Bacillus*, den ich in dieser Arbeit „*Bacillus Müller*“ oder „Müllerschen *Bacillus*“ bezeichnen will, da sein ätiologischer Zusammenhang mit Trachom bisher noch nicht sicher erwiesen und daher auch seine Benennung danach nicht gerechtfertigt sein dürfte. Ihre Verteilung auf die einzelnen Gruppen von Fällen — die ich aber keineswegs für typisch erachte — zeigt folgende Tabelle (p. 680).

Außerdem wurden auch Uebergangsfalten von anderen frischen Fällen untersucht. Sie wurden ohne Anwendung von Antiseptics exzidiert, in steriler Kochsalzlösung unter mehrfachem Wechsel stark gewaschen und mit der Epithelfläche auf den Boden von sterilen Petrischalen gelegt. Dann wurden Granula und Zwischengewebe mit starker steriler Oese abrasiert, steril zerquetscht und auf schräges Taubenblutagar verimpft. Ich erhielt dabei in 25 Fällen nie den Müllerschen *Bacillus*, meist blieben die Röhrrchen steril. In Schnitten von Uebergangsfalten zeigten

Befunde im Trachomsekret	Gesamtzahl	Bacillus Koch-Weeks	Bacillus Pseudo-influenzae	Bacillus Müller
1) Noch nicht behandelte, meist recente Fälle	33	1	0	3
2) In Behandlung befindliche Fälle	12	2	2	0
3) Früher behandelte, meist alte Fälle, die nochmals zur Behandlung kommen	24	1	2	2
4) Noch nicht ganz ausgeheilte Fälle, die während der Behandlung Sekretionsrezidiv bekommen (kleine Epidemie in der Stadt)	8	7	0	0
Zusammen	77	11	4	5

sich in den Körnern und im Zwischengewebe nie Bakterien, weder hämophile noch andere, auch nichts, was Bakterien ähnelte, mit Ausnahme basophiler Granula von Mastzellen, die in abgeschnittenen Zellausläufern an Staphylokokken erinnern. — Die oben erwähnten positiven Fälle mit *Bacillus trachomatis* kamen nicht zur Exzision.

Zum näheren Verständnis der obigen Befunde möchte ich noch folgendes bemerken:

Außer den schon erwähnten hämophilen Bakterienarten wurden nur die gewöhnlichen Saprophyten des normalen Auges gefunden; auch Kulturversuche in hoher Schicht ergaben nichts Besonderes: Röhrchen mit Nähragar, Glycerinagar und Zuckeragar mit und ohne Taubenblut, denen vor dem Erstarren des Nährbodens Körnerquetschsaft beigemischt worden war, zeigten hin und wieder eine Staphylokokken- oder Xerosekolonie, meistens blieben sie steril.

Im Sekret der Kranken war der *Bacillus Müller* nur einmal häufig, sonst spärlich vorhanden und lag meist extrazellulär. Der Befund der Bacillen — wie auch der anderen hämophilen Bacillen — stand in keinem Zusammenhang mit der Stärke der Sekretion: sie wurden oft bei geringer Sekretion nachgewiesen, während bei sehr starkem Sekret oft nur Staphylokokken und Xerosebacillen gefunden wurden. Der *Bacillus Müller* wurde, wie die Tabelle zeigt, nicht nur bei unbehandelten frischen, sondern auch — und zwar ebenso selten — bei alten ausheilenden Fällen beobachtet, so bei einem Fall von 5 Jahren und einem komplizierten Fall von angeblich 40 Jahren, der vor 20 Jahren an der Königsberger Augenklinik behandelt worden war.

Unter 3 daraufhin untersuchten Fällen konnte der Müllersche *Bacillus* 2mal auch im Schleim des Nasenbodens nachgewiesen werden (*Bacillus Koch-Weeks* unter 5 Fällen 5mal), dagegen nicht im Speichel (*Bacillus Koch-Weeks* auch nicht)<sup>1)</sup>. Diese Tatsache ist insofern praktisch interessant, als sie die Uebertragungsmöglichkeit vergrößert. Eine Erkrankung der Nasenschleimhaut scheint weder der Müllersche, noch der *Koch-Weeks bacillus* zu veranlassen, sie treten auch nur in verhältnismäßig geringer Menge auf. Die Fälle, wo *Bacillus Müller* im Bindehautsekret gefunden wurde, zeigten keine sonstigen Symptome, die auf Influenza hätten schließen lassen — während der Unter-

1) Vergl. auch den Nachweis der Bakterien in der Nase bei den später beschriebenen Impfungsversuchen K und A.

suchungszeit konnte ich übrigens mehrmals typische Influenza in der Stadt bakteriologisch feststellen.

Untersuchungen von nichttrachomatösen Bindehauterkrankungen auf hämophile Bakterien habe ich nicht vorsätzlich angestellt. Durch Zufall untersuchte ich aber einen auf Trachom verdächtigen Fall von Hornhautstaphylo mit starkem Katarrh und konnte den Müllerschen Bacillus kulturell nachweisen. Doch stellte es sich heraus, daß die betreffende Patientin kein Trachom, sondern nur feine, auf Trachom verdächtige Narben aufwies; ob sie wirklich an dieser Krankheit gelitten, konnte nicht sicher festgestellt werden. Durch leichte medikamentöse Behandlung war der Katarrh in wenigen Tagen verschwunden.

Bei einem Fall von Schnupfen und Rachenkatarrh mit grünlichem dickeitrigem Sekret, der mit mäßigem Bindehautkatarrh verbunden war, fand ich sowohl im Sputum wie auch im schleimig-eitrigem Bindehautsekret Pseudoinfluenzabacillen. Der Katarrh heilte in kurzer Zeit spontan ohne Komplikation. Zeichen von Trachom traten nicht auf.

Meine Versuche, differentialdiagnostisch verwertbare Unterschiede bei den gefundenen hämophilen Bakterien untereinander, sowie zwischen ihnen und dem Influenzabacillus auf dem Gebiet der Kultur, Tierpathogenität und Serodiagnostik zu finden, waren leider bisher ohne wesentlichen Erfolg, doch werden sie fortgesetzt. Einiges will ich schon hier angeben.

Betreffs des Bacillus Koch-Weeks kann ich mich nicht in allen Stücken mit L. Müller einverstanden erklären. Die Größe, Schlankheit und scharfe Umgrenzung der Stäbchen ist wohl typisch, doch habe ich zuweilen (vergl. auch später: Impfversuch K) gefunden, daß Kulturen vorübergehend eine atypische Gestalt — wahrscheinlich infolge ungünstiger Lebensbedingungen — aufwiesen. Die von L. Müller auf Grund des Verhaltens seiner Stämme aufgestellte Behauptung, daß der Koch-Weeksbacillus mehrere Generationen hindurch auf Blutagar — auch auf Menschenblutagar — nicht gedeihen kann, muß ich für irrig halten, da es mir wenigstens gelungen ist, Koch-Weeksstämme — auch einen solchen von einer reinen Koch-Weeksconjunctivitis — bis zu 50 Generationen und mehr auf Taubenblutagar zu züchten. Die wasserhellen Kolonien zeigten — auf Blutagar — bei starker Vergrößerung Struktur bis zum Rande, doch taten das auch zuweilen Influenza, Pseudoinfluenza und Bacillus Müller. Sonst fand ich keine Abweichung von den bisher bekannten Eigenschaften. — In meinem Bestreben, die gefundenen hämophilen Bakterienarten sicher zu differenzieren, habe ich natürlich auch Versuche angestellt, für diesen oder jenen der Stämme ein spezifisch agglutinierendes Serum zu erhalten, Versuche, die bisher leider wenig Erfolg hatten. Bei der hierzu notwendigen Vorprüfung mit Normalseris fand ich nun einen neuen, wesentlichen Unterschied zwischen dem Bacillus Koch-Weeks und den übrigen: Influenza, Pseudoinfluenza und Bacillus Müller in seiner starken Agglutinierbarkeit durch gewisse Normalsera. Allerdings machte ich zuerst die Erfahrung, daß die meisten Stämme sich überhaupt nicht in physiologischer Kochsalzlösung aufschwimmen lassen. Doch gelang mir dies ohne Schwierigkeit, wenn ich die Bakterien mit sterilem destilliertem Wasser verrieb und dann erst mit physiologischer Kochsalzlösung bzw. Serum vermischte. In physiologischer Kochsalzlösung blieben sie auf diese Weise aufge-

schwemmt, in gewissen Seris dagegen wurden sie agglutiniert, während die übrigen von mir gefundenen hämophilen Bakterien sich in physiologischer Kochsalzlösung leicht aufschwemmen ließen und in denselben Seris nur in Verdünnungen von  $\frac{1}{10}$  oder höchstens  $\frac{1}{20}$  agglutiniert wurden. Die Werte waren für den Bacillus Koch-Weeks makroskopisch:

Neugeborener Mensch  $\frac{1}{2500}$ ,

Kaninchen  $\frac{1}{5000}$ , einmal bei einem frischen Stamm  $\frac{1}{20000}$ ,

Taube und Pute  $\frac{1}{640}$  und mehr,

Schwein dagegen  $\frac{1}{10}$ .

Sonderbarerweise zeigten aber zwei (von gleichzeitig medikamentös behandelten Fällen gezüchtete) Stämme, die sonst den Artcharakter trugen, ein abweichendes Verhalten insofern, als sie direkt — allerdings nicht leicht — in physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmbar und auch in geringerem Grade agglutinierbar waren. Eine Erklärung für diese Abweichung ist vielleicht darin zu suchen, daß veränderte, ungünstige Lebensbedingungen einwirkten. Unterstützt wird diese Annahme dadurch, daß die verschieden alten Stämme überhaupt verschieden starke Agglutination aufwiesen, noch mehr aber dadurch, daß die Agglutinierbarkeit im Laufe der Zeit abnahm. Die — auf Taubenblutagar — fortgezüchteten Stämme waren nämlich nach etwa einem halben Jahre aufschwemmbar und durch normales Kaninchenserum nur noch bis zu  $\frac{1}{40}$  agglutinierbar. — Dieses sonderbare Verhalten des Koch-Weeksbacillus wird weiter geprüft.

Die von mir gefundenen Pseudoinfluenzabacillen zeigten ganz das charakteristische Aussehen und Verhalten, das R. Pfeiffer seinerzeit beschrieben hat (Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XIII. 1893. p. 357). Sonst konnte kein Unterschied vom Influenzabacillus gefunden werden, trotzdem sehe ich mich aber infolge der dauernd abweichenden Morphologie auch gezwungen, diese Pseudoinfluenzabacillen vom Influenzabacillus und daher auch vom Bacillus Müller zu trennen.

Der Bacillus Müller zeigte das von L. Müller beschriebene Verhalten, was auch durch einen Vergleich mit einigen Sekret- und Reinkulturpräparaten, die L. Müller mir in dankenswertem Entgegenkommen zur Verfügung stellte, bestätigt wurde, — ich fand nur, daß die Kolonien, wie schon oben erwähnt, vorübergehend atypisch aussehen können. Im übrigen verhielt er sich ganz wie der Influenzabacillus, doch möchte ich hier nochmals hervorheben, daß die betreffenden Patienten nie Zeichen einer Influenza aufwiesen, so daß hier kein Grund vorliegt, etwa an eine sekundäre Influenzaconjunctivitis zu denken.

Die Eigenart des Bacillus Koch-Weeks wird jetzt wohl von allen Forschern anerkannt, im Gegensatz hierzu herrscht aber das Bestreben, die verschiedenen übrigen hämophilen Bakterien alle als eine Art — den Influenzabacillus — anzusehen, wodurch eine ziemliche Verwirrung — z. B. die speziell von einigen französischen Autoren vertretene Ansicht von der Ubiquität des Influenzabacillus — entstanden ist. Es spricht aber vieles gegen eine solche Annahme und für die Vorstellung, daß in der Gruppe der hämophilen Bakterien eine ganze Reihe differenter Arten vorhanden ist, von denen vielleicht mehrere pathogene Eigenschaften für den Menschen besitzen. Als Hauptvertreter würden wir den für Influenza spezifischen Bacillus Pfeiffer zu betrachten haben, von dem der Bacillus pseudoinfluenzae durch seine morphologischen Charaktere, die doch zu konstant sind, um als accidentell angesehen zu werden, sich abtrennen läßt. Eine wohl sicher von den beim Menschen vorkommenden hämophilen Bakterien verschiedene

Species würde der *Bacillus haemoglobinophilus canis* Friedberger sein. Ob der *Bacillus Müller* als eigene Art aufzufassen ist, soll hier nicht weiter erörtert werden. Wir haben eben in der Influenzagruppe mit denselben Schwierigkeiten zu kämpfen, die noch vor einem Jahrzehnt z. B. in der Typhus- und Cholera-Gruppe die Bakteriologen in Verwirrung setzten. In der Typhusgruppe speziell kennen wir eine ganze Reihe für den Menschen pathogener Arten: den echten Typhuserreger, den Paratyphusbacillus, den *Bacillus enteritidis*, auch den Ruhrbacillus, die sich außerordentlich nahe stehen und deren sichere Differenzierung die größten Schwierigkeiten bereiten würde, wenn wir nicht die spezifischen serodiagnostischen Methoden kennen gelernt hätten. Bedauerlicherweise hat die Anwendung dieser Methoden gerade bei der Influenzagruppe bisher befriedigende Resultate noch nicht ergeben, trotzdem müssen wir hoffen, daß ihr weiterer Ausbau uns doch noch zum Ziel führen wird.

L. Müller hat auf Grund seiner Untersuchungen angenommen, daß der von ihm gefundene *Bacillus trachomatis* der Erreger des Trachoms sei. Ich will auf seine vorhin skizzierten Befunde und die sich darauf stützenden Folgerungen und Annahmen nicht weiter eingehen, meine Untersuchungen haben, wie das aus dem Vorhergehenden zu ersehen ist, nichts ergeben, was für die spezifische Pathogenität des Müllerschen *Bacillus* spricht, so daß ich zu der Ansicht gekommen bin, daß er nur ein harmloser Schmarotzer ist oder höchstens einen Katarrh hervorruft.

Da die weitere Beweisführung auf dem bisherigen Boden schwierig und unzuverlässig erschien, versuchte ich es schließlich, experimentell durch Impfung mehr Beweismaterial für oder wider zu erhalten. Da Tierexperimente auch mir fehlschlügen, war ich gezwungen, am Menschen zu arbeiten. — Um die Pathogenität bzw. Nichtpathogenität des *Bacillus Müller* für Trachom auf jede mögliche Art nachzuweisen, wäre es ja notwendig, zu ermitteln: erstens, ob geeignetes Sekret oder Körnersaft ohne *Bacillus Müller* Trachom verursacht, und zweitens, ob frische Reinkulturen von *Bacillus Müller* Trachom oder eine andere Erkrankung hervorrufen. Auf Versuche der ersten Art verzichtete ich nach dem Stand meiner bisherigen Anschauung, es schien mir nicht lohnend, Trachom zu bekommen ohne die Gewähr, dabei auch den wirklichen Trachomerreger zu finden. Dagegen erschien mir ein Versuch der zweiten Art lohnender und weniger gefährlich.

Die erste Impfung (K) mit Reinkultur, die ich nach Feststellung der Gesundheit meiner Bindehäute (makroskopisch keine Veränderung, kulturell nur *Staphylococcus albus* und Xerose) und der Nasen- und Rachenschleimhaut (kein Katarrh, kulturell keine hämophilen Bacillen) vornahm, mißglückte insofern, als ich irrtümlich mit einer Koch-Weekskultur impfte. Es handelte sich um eine Kultur von einem Fall, wo die Bacillen im Sekret sehr spärlich waren und wie Koch-Weeksbacillen aussahen; da aber die Bacillen der ersten und zweiten Reinkultur nicht die typische Form und Größe zeigten, sondern nur wenig größer als die Müllerschen Bacillen aussahen, so glaubte ich, diese vor mir zu haben, und impfte.

Die Krankengeschichte dieses Versuches, die von Herrn Geheimrat Kuhnt täglich verfolgt wurde, ist kurz folgende:

1. Tag: Ich verrieb 1 mg einer frischen 24-stündigen 3. Generation (2. Reinkultur, gezüchtet auf mit Taubenblut vermengtem Agar) in die untere Uebergangsfalte meines linken Auges. Nach dem Impfen leichtes Reiben beim Lidschlag. Nach 4 Stunden Eiterflocken im unteren Lidsack. Nach 6 Stunden Eiterflocken im inneren Lidwinkel, Eiterfäden im Lidsack, Injektion, Schwellung. Nach 12 Stunden Lider trotz mehrfacher Reinigung fast verklebend, viel zäheitriges Sekret, stärkere Injektion. Bis 24 Stunden Lider etwas ödematös, starke Sekretion, allmählich Chemosi conjunctivae bulbi.

2. Tag: Lider leicht verklebend, stark ödematös, starke Spannung und Reiben, Lichtscheu. Im Sekret viele typische Koch-Weeks-Bacillen, meist intracellulär. Die Reinkultur erwies sich später ebenso wie die Originalkultur als nicht aufschwemmbar — aufgeschwemmt, wurde sie auch in starken Verdünnungen ( $\frac{1}{2500}$ ) von normalem Kaninchenserum agglutiniert —, die Gestalt der Bacillen war typisch.

3. Tag: Ebenso. Koch-Weeks-Bacillen im Nasensekret kulturell in ziemlicher Menge nachgewiesen. Der untere Nasengang der Seite des kranken Auges war infolge der starken Sekretion des Auges beständig sehr feucht, Schnupfen bestand aber nicht.

4. Tag: Da weitere Beobachtung überflüssig, wurde das Auge energisch mit *Solutio hydrargyri oxycyanati* und weiterhin mit täglichen Kalomeleinstäubungen behandelt.

5. Tag: Im Konjunktivalsekret keine Koch-Weeks-Bacillen mehr nachweisbar. In den folgenden Tagen gingen die Beschwerden und Veränderungen allmählich zurück, am 20. Tage zeigte die Conjunctiva nur noch eine Spur von Verdickung und Injektion. Zeichen von Trachom wurden auch später nicht bemerkt.

Den nächsten Impfversuch (A) stellte ich an meinem rechten, während der ersten Erkrankung sorgfältig geschützten und auch gesund gebliebenen Auge an. Ich verwandte die 3. Generation (2. Reinkultur) eines typischen Stammes von *Bacillus Müller* (gezüchtet von einem frischen Fall), der leicht aufschwemmbar und durch normales Kaninchenserum nicht agglutinierbar war, der auch sonst den Typ bewahrte. Auch dieser Versuch wurde täglich von Herrn Geheimrat Kuhn verfolgt.

1. Tag: Ich impfte 0,1 mg (nur  $\frac{1}{10}$ , um eine stürmische Erkrankung zu vermeiden) einer frischen 24-stündigen Taubenblutagarkultur in den unteren Lidsack. Nach 4 Stunden Eiterflocken im inneren Lidwinkel, im Sekret spärlich Stäbchen.

Von da ab bis zum 3. Tage ganz geringe Injektion, Spur Sekret, keine Beschwerden.

4. Tag: 0,5 mg einer frischen 24-stündigen 3. Generation desselben Stammes verimpft. Nach 6 Stunden etwas stärkere Injektion als das erste Mal, sonst dieselben Erscheinungen.

6. Tag: *Bacillus Müller* kulturell im Bindehaut- und Nasensekret nachgewiesen. Komplikationen, vor allem Influenza, auch in der Folgezeit nicht nachweisbar.

8. Tag: Bacillen nicht mehr nachweisbar.

Keine Zeichen von Trachom, auch später nicht.

Da die Impfung mit dem *Bacillus Müller* so harmlos verlief, schien ein weiterer Versuch mit anderen normalen Bindehäuten erlaubt und erwünscht. Es wurden zwei Personen, die sich hierzu erboten hatten, an je einem Auge mit einem anderen typischen Stamme von *Bacillus Müller* (von einem frischen Fall) geimpft, — und zwar eine Person (B) von Herrn Geheimrat Kuhn an drei aufeinanderfolgenden Tagen mit 0,2 und 0,4 mg einer 2. Generation und 0,5 mg einer 3. Generation — und eine andere Person (C) von mir einmal mit 0,4 mg der 3. Generation. Die Erkrankungen, wenn man überhaupt von solchen sprechen kann, verliefen ebenso leicht wie an meinem Auge (A): nämlich mit einer Spur von Sekretion und Injektion. Komplikationen von seiten des Rachens und der Nase, speziell Influenza, traten nicht auf. Zeichen von Trachom konnten auch in der Folgezeit nicht bemerkt werden.

Die Impfungen konnten bisher nicht weiter fortgesetzt werden, da sich keine weiteren Versuchspersonen fanden. Eine Impfung an meinem von Koch-Weeks-Conjunctivitis geheilten Auge vorzunehmen, habe ich wegen etwaiger Einwände (betreffs eingetretener lokaler Resistenz u. a.) als zwecklos unterlassen.

An der Hand meiner Befunde kann ich, wie teilweise schon oben erwähnt, bestätigen, daß tatsächlich im Sekret einer geringen Anzahl von Trachomfällen der von L. Müller beschriebene Bacillus vorkommt. Aber nichts gibt uns einen Anhalt dafür, daß dieser Bacillus der Erreger des Trachoms sei. Schon der niedrige Prozentsatz seines Vorkommens — nicht nur bei alten ausheilenden, sondern auch bei frischen Fällen — macht stutzig. Sodann ist er — auch von L. Müller — bei Bindehautkatarrhen gefunden worden, die sicher nicht Trachom waren. Schließlich sprechen aber die drei soeben geschilderten, negativ verlaufenen Impfungen mit frischen Reinkulturen des Bacillus Müller direkt dagegen. Freilich könnte man nun einwenden, daß diese Zahl der Impfungen nicht genügt und es sich bei meinen Versuchen um wenig virulente Stämme oder Unempfänglichkeit der Versuchspersonen gehandelt habe.

Ich will auf diese Möglichkeiten sowie auf theoretische Deutungen meiner übrigen Befunde und derjenigen der anderen Autoren nicht eingehen, sondern will hier nur die bloßen Resultate meiner Untersuchungen vorlegen in der Hoffnung, schon damit zur Klärung und Beurteilung der Sachlage beizutragen.

Zugleich danke ich herzlich meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Prof. R. Pfeiffer, für seine rege und fördernde Anteilnahme an dieser Arbeit und Herrn Geheimrat Kuhnt für sein eingehendes Interesse und die Ueberlassung von Krankenmaterial für die Untersuchungen, sowie auch den Herren Kollegen Dr. Küsel, Thielemann und Meyer für ihre liebenswürdige Unterstützung bei der Entnahme von Untersuchungsmaterial.

*Nachdruck verboten.*

## Sind die Vaccineerreger Spirochäten?

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern  
(Direktor: Prof. Tavel).]

Von Dr. A. Carini, Chef der Vaccineabteilung.

In einer Mitteilung „Studien über die Vaccineerreger“, die Prof. Bonhoff jüngst in der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften in Marburg machte<sup>1)</sup>, sprach der Vortragende unter anderem über gewisse von ihm in der Kuhpockenlymphe gefundene Gebilde, die er als Spirochäten bzw. Trypanosomen ansieht und denen er eine ursächliche Bedeutung bei der Aetiologie der Vaccine zuschreiben möchte.

Der Gedanke, daß bei der Vaccine Spirochäten im Spiele sein können, darf wohl in einer Aera, wo die Protozoen in der Pathologie eine immer wichtigere Stellung gewinnen, als äußerst naheliegend bezeichnet werden, und er erscheint gerade gegenwärtig, angesichts der Arbeiten Schaudinns über den Syphiliserreger, um so näher gerückt.

Diese Erwägungen veranlaßten mich, gleich nach dem Bekanntwerden der betreffenden Arbeiten Schaudinns, die Lymphe bezüg-

1) Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg. 1905. No. 4. Mai. In der Berl. klin. Wochenschr. No. 36 vom 4. Sept. d. J. hat Bonhoff neuerdings eine weitere Mitteilung über die *Spirochaeta vaccinae* veröffentlicht.

lich der Anwesenheit von Spirochäten einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen. Meine Untersuchungen, die ich zu wiederholten Malen an dem Inhalt von Pusteln in verschiedenen Entwicklungsstadien angestellt habe, führten sämtlich zu negativen Ergebnissen. Später habe ich, auf dem Wege privater Mitteilungen, erfahren, daß auch Forscher, wie Provazek, Kraus und Levaditi, bei ähnlichen Versuchen zu negativen Resultaten gelangt waren.

Ich war deshalb sehr erstaunt, als ich erfuhr, daß Bonhoff Spirochäten gefunden habe, die wir nicht hatten nachweisen können; ich konnte mir absolut nicht erklären, wie diese Spirochäten, die gar nicht einmal so selten vorkommen und zugleich etwas größer sein sollen als diejenigen der Syphilis, mir und anderen hätte entgehen können. Dies scheint mir um so weniger möglich, da wir unsere Untersuchungen, die an Hand derselben Methoden, wie sie Bonhoff benützte, gemacht wurden, mit der größten Sorgfalt ausgeführt haben, weil uns die Schwierigkeiten genügend bekannt waren, denen man begegnet, wenn man die *Spirochaete pallida* der Syphilis nachweisen will. Wie schon bekannt, ist die *Spirochaete pallida* sehr klein, sie färbt sich schwer und findet sich gewöhnlich in den Präparaten in so geringer Menge, daß man dieselben lange durchmustern muß, ehe man ein einziges Exemplar findet.

Ich habe zwar keine Gelegenheit gehabt, die Präparate Bonhoffs zu sehen; eine aufmerksame Lektüre der von Bonhoff gegebenen Beschreibung und eine genaue Betrachtung der bezüglichen Photographie, die B. mir freundlichst zukommen ließ, rufen jedoch die Ueberzeugung in mir wach, daß es sich bei den fraglichen Gebilden, die B. als Spirochäten ansprechen möchte, absolut nicht um Parasiten handelt. Es ist wohl richtig, daß, wie es B. anführt, in den Ausstrichpräparaten von dem Inhalt der Pusteln neben Gebilden, die als ausgezogene Kernbestandteile oder dergl. gedeutet werden müssen, weit feinere Gebilde von ziemlicher Länge und gar nicht einmal so spärlich anzutreffen sind. Diese fädigen Gebilde können insofern zu irrigen Deutungen Anlaß geben, als sie in Form, Größe und Gestalt Spirochäten ähnlich sehen. Mustert man jedoch die Präparate genauer durch, so kann man sich davon überzeugen, daß zwischen den feineren und den gröberen Fäden zahlreiche Uebergangsformen vorhanden sind, so daß kein Zweifel darüber bestehen kann, daß auch die als Spirochäten angesprochenen Elemente die gleiche Genese haben wie die obigen, unzweifelhaft artistischen Produkte.

Um jedoch jeden Zweifel über die Natur der erwähnten strittigen Gebilde auszuschalten, genügt es, Ausstrichpräparate von Milzsaft oder auch von Organen, die im Stadium der Entzündung sich befinden, anzufertigen. In solchen Präparaten kann man fast immer in größerer oder geringerer Zahl die besprochenen Pseudospirochäten nachweisen.

Es ist wohl überflüssig zu bemerken, daß durch diese Beobachtungen den angeblichen Spirochäten bzw. Trypanosomen Bonhoffs vollkommen ihre Bedeutung genommen wird, da sie keine Parasiten sind und deshalb in der Aetiologie der Vaccine keine Rolle spielen können.



*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums in Zürich.]

Von P. Ankersmit.

(Fortsetzung.)

### II. Ausgangsmaterialien pasteurisiert.

a) Pansen. Die A-Platte zählte 18 Kolonien, wovon 3 Mycoides- und die anderen hauptsächlich Megatherium- und Mesentericus-Kolonien waren. Die B-Platte enthielt 3 Kolonien, wovon 1 Mycoides, 1 roter Kartoffelbacillus und 1 nicht näher bekanntes, ziemlich schlankes Langstäbchen.

In den Kulturen i. h. Schicht war kein Gas gebildet. In der A-Kultur waren 12 Kolonien von Megatherium, Mesentericus und Mycoides. Die B-Kultur enthielt 1 Mycoides- und 1 Mesentericus-Kolonie.

b) Labmagen. Die ganze A-Platte war von einigen wenigen Mycoides-Kolonien bedeckt. Es ließen sich ferner Megatherium- und 2 große, schleimige Kolonien von pektinvergärerähnlichen Stäbchen nachweisen, welche letztere aber nach Abimpfung sich als Nichtpektinvergärer erwiesen.

In den Kulturen i. h. Schicht keine Gasbildung. In der A-Kultur bloß 8 Kolonien; 6 von diesen hatten eine sehr zähe Beschaffenheit und waren den Putrificus-Kolonien sehr ähnlich. Es wurden deshalb zwei Abimpfungen gemacht, die aber nach einem Tage schon ein ganz scharf ausgesprochenes, fakultativ aërobes Wachstum zeigten, mit Ausbreitung an der Oberfläche. Auch waren die Kulturen absolut geruchlos, was allein schon beweisen dürfte, daß sie mit dem Putrificus nur das Aussehen der Kolonien, aber weiter nichts gemein hatten.

c) Dünndarm. Die A-Platte zählte 13 Kolonien, wovon die Mehrzahl Mesentericus-Kolonien waren. Die B-Platte enthielt 2 Kolonien, die dem Typus des roten Kartoffelbacillus angehörten.

In den anaëroben Kulturen war kein Gas gebildet. Das A-Röhrchen enthielt 10 Kolonien. Eine stark schleimige Kolonie ließ typische Pektinvergärerstäbchen sehen, welche sich denn auch nach Abimpfung als solche bewährten. Die anderen Kolonien betrafen hauptsächlich Bodenbakterien, neben einem nicht näher untersuchten relativ dünnen Langstäbchen.

d) Mastdarm. Auf der 70 Kolonien zählenden B-Platte war die Bakterienflora sehr gemischt. Neben Erdbakterien entdeckte man Kolonien von lebhaft beweglichen Stäbchen, welche den Pektinvergärern sehr ähnelten. Einige mit solchen Kolonien gemachte Abimpfungen führten aber zu einem negativen Resultat.

Die Kulturen i. h. Schicht enthielten, wie die Platten, eine bedeutend höhere Kolonienzahl als die entsprechenden Kulturen der anderen Darmabteilungen. Gasbildung fehlte. Neben den flockigen, zähen, Putrificus-ähnlichen, zuerst im Labmagen aufgefundenen Kolonien konnten 3 Kolonien von Tetanus-ähnlichen Sporenbildnern isoliert werden. Sie zeigten bei näherer Untersuchung kein streng anaërobes Wachstum im Stich, vermochten aber bei der anaëroben Kulturmethode (Pyrogallussäure + KOH) vorzüglich zu gedeihen. Megatherium-, Mesentericus- und Mycoides-Kolonien fehlten auch hier nicht.

Dieser Versuch läßt, trotz der stattgefundenen Grünfütterung, im Gegensatz zur Heufütterung bei den übrigen Versuchen, bezüglich der Ergebnisse keine bedeutende Abweichung erkennen. Auch hier ist der Pansen in erster Linie Brutstätte der Milchsäurebakterien. Neben diesen kommen allerdings noch andere Arten vor, unter welchen namentlich die Kokken eine Rolle zu spielen berufen scheinen. Auch im Labmagen und Dünndarm sind die Güntheri-Stäbchen noch recht häufig, während sich nebenbei Coli bemerkbar macht. Im Mastdarm treten die Güntheri an Zahl zurück zu Gunsten der überhandnehmenden Coli-Bakterien. Einigermassen auffallend ist hier ferner das häufige Vorkommen von Kokken. Das Verhältnis der Sporen zu den vegetativen Bakterienformen

ist auch in diesem Versuch besonders beim Pansen ein sehr weites, dagegen beim Mastdarm ein relativ enges, was, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, im letzteren Falle ebensowohl auf eine absolut große Zahl von Sporen, als auf die Abnahme nicht sporenbildender Arten zurückzuführen ist.

### Versuch IX.

#### A. Vorläufige Prüfung.

**Panseninhalt.** Geruch nach frischem Mist. Reaktion alkalisch. Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalt.** Geruch nach Erbrochenem. Reaktion stark sauer. Konsistenz breiig.

**Dünndarminhalt.** Kein auffallender Geruch. Reaktion schwach sauer. Konsistenz dickflüssig.

**Direkte mikroskopische Untersuchung.** Im hängenden Tropfen und gefärbten Präparat (Karbolfuchsin).

**Pansen.** Massenhaft Bakterien. Fast alle machen den Eindruck von typischen Güntheri, daneben viele dicke, Aërogenes-ähnliche Stäbchen. Auffallend wenig Langstäbchen. Keine Bewegung wahrzunehmen.

**Labmagen.** Viel weniger Bakterien als im Pansenpräparat. Coli-ähnliche, unbewegliche Kurzstäbchen und typische Güntheri sind vereinzelt zu sehen, Langstäbchen sehr selten.

**Dünndarm.** Wie im Labmagen, sind nur sehr wenig Bakterien nachweisbar; außerdem sind sie wegen den in Unmasse vorkommenden Futterpartikelchen schwierig zu sehen.

#### B. Quantitative bakteriologische Analyse. Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen		Labmagen		Dünndarm	
	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
D.-Agar h. Sch.	3 500 000	600	3500	1000	4000	300
Agarplatten	—	1000	—	1800	—	400
Vorherrsch. Bakterien- arten	h. Sch. K.	Güntheri	Gemisch verschied. Typen	Gemisch verschied. Typen	Coli	Megather., Mycoides, Mesenter.
	Agar- platten	—	Bodenbakt.	—	—	Bodenbakt.

#### C. Qualitative bakteriologische Analyse.

##### I. Ausgangsmaterialien nicht pasteurisiert.

Gelatineplattenkulturen wurden diesmal nicht hergestellt.

a) **Pansen.** Die Agarmassen der Kulturen i. h. Schicht sind stark getrübt, zeigen aber keine Gasbildung. Auch in der C-Kultur waren noch recht viele linsenförmige Kolonien des Bact. Güntheri. Etwa 12 Kolonien wurden mikroskopisch untersucht; sie ließen alle ohne Ausnahme zum Teil recht typische Güntheri-Stäbchen, zum Teil aber krankhafte, kokkenähnliche Formen erkennen.

b) **Labmagen.** Sehr wenige Kolonien waren in den 3 Röhrchen zu zählen. Die A-Kultur war stark zerrissen durch eine kräftige Gasbildung, verursacht durch nur wenige Coli Kolonien. Die Kolonien der B-Kultur wurden alle untersucht und zeigten nur 2 gleichartige Kolonien von unbeweglichen Langstäbchen. Die anderen gehörten alle verschiedenen Bakterientypen an, von denen zu nennen sind: Güntheri, Coli, Mycoides und Pektinvergärer. Diese letzteren wurden abgeimpft auf den spezifischen Nährboden und vermochten schon nach 20 Stunden eine kräftige Gasbildung zu erzeugen. In der C-Kultur war eine Mycoides- und eine Güntheri-Kolonie aufzufinden.

c) **Dünndarm.** Es war ziemlich viel Gas gebildet in der A-Kultur. Vorwiegend waren Coli-Kolonien nachzuweisen, daneben Megatherium- und eine Streptococcus-Kolonie. Die B-Kultur enthielt 4 Kolonien, wovon 2 Coli und die beiden anderen Güntheri und Megatherium angehörten.

II. Ausgangsmaterialien pasteurisiert.

a) Pansen. Die A-Platte war überdeckt von Mesentericus, Mycoides und anderen. Die B-Platte enthielt 3 Mycoides-, 1 Megatherium- und 2 Pektinvergärer-ähnliche Kolonien, welche letztere sich aber bei näherer Prüfung als nicht pektinvergärend erwiesen.

Die Kulturen in hoher Schicht zählten auch nur sehr wenig Kolonien. Es kamen hauptsächlich Megatherium, Mycoides und Mesentericus vor.

b) Labmagen. A-Platte unbrauchbar, von Kartoffelbacillen überwuchert. Die B-Platte ließ neben Mesentericus einige Megatherium- und 1 Mycoides-Kolonie erkennen.

In der A-Kultur der anaeroben Röhren waren einige Gasblasen gebildet. Beim Eröffnen war ein schwacher, aber deutlicher Fäkalgeruch bemerkbar. Im Kondenswasser waren Putrificus-ähnliche Stäbchen nachzuweisen. Eine flockige Putrificus-Kolonie wurde aber nicht gefunden. Ferner waren einige Bodenbakterienkolonien leicht zu erkennen. Wenn wir auch nicht versucht haben, den Fäulniserreger aus dem Kondenswasser rein zu züchten, so ist doch mit einiger Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß wenigstens eine Putrificus-Kolonie (vielleicht zwischen Glaswand und Agar-cylinder) in der Kultur tätig gewesen ist.

c) Dünndarm. Die Platten zeigten auffallend wenig Kolonien. Die A-Platte ließ nur 2 Mesentericus, 1 Mycoides- und 1 Megatherium-Kolonie nachweisen, während die B-Platte 1 Mycoides- und 1 Mesentericus-Kolonie leicht erkennen ließ. Die C-Platte war steril.

Auch die Kulturen in h. Schicht wiesen nur vereinzelte Kolonien von Erd-bakterien auf. In der A-Kultur fand sich außerdem eine große, flockige Mycoides-Kolonie.

Das Resultat dieses Versuches läßt sich kurz folgendermaßen zusammenfassen: Im Pansen eine intensive Entwicklung von Milchsäurebakterien, im Labmagen eine gewaltige fast zur Sterilisation führende Reduktion der im Pansen vorkommenden Keime. Im Dünndarm Auftreten des Bact. coli. Das Verhältnis von Sporenbildnern zu nicht Sporenbildnern ist im Pansen ein sehr weites, im Dünndarm und Labmagen, infolge starken Zurücktretens der nicht sporenbildenden Arten, ein viel engeres.

Versuch X.

A. Vorläufige Prüfung.

Panseninhalt. Reaktion alkalisch. Geruch schwach nach Kuhstall. Konsistenz flüssig.

Labmageninhalt. Reaktion stark sauer. Kein auffallender Geruch. Konsistenz breiig.

Dünndarminhalt. Reaktion neutral. Kein auffallender Geruch. Konsistenz dickflüssig.

B. Quantitative bakteriologische Analyse.  
Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen		Labmagen		Dünndarm	
	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
Gel.-Pl.	—	3000	—	8000	—	6500
D.-Agar h. Sch.	3 350 000	1800	2 500 000	5200	700 000	1200
Gel.-Pl.	—	Bodenbakterien	—	Mesent. + andere	—	Pektinvergärerähnliche, Tumescens + andere
Vorherrschende Bakterienarten	h. Sch.-K. Güntheri	Pektinvergärer + Mycoides	Güntheri	Gemisch verschieden. Typen	Coli + Güntheri	Pektinvergärer + andere

### C. Qualitative bakteriologische Analyse.

#### I. Ausgangsmaterialien nicht pasteurisiert.

Gelatineplatten wurden nur von den pasteurisierten Ausgangsmaterialien gemacht.

a) Pansen. Die Kulturen in hoher Schicht hatten kein Gas gebildet, dagegen waren die Agarmassen von der gebildeten Säure stark getrübt. Alle untersuchten Kolonien der C-Kultur zeigten Güntheri-Stäbchen, zwar nicht immer ganz typisch, aber immerhin in unverkennbarer Weise.

b) Labmagen. Nur im A-Röhrchen sind einige Gasblasen zu bemerken. Auch hier zeigten die untersuchten Kolonien stark zur Involution neigende Güntheri-stäbchen. Die Gasbildung in A dürfte von einigen wenigen Coli-Kolonien herrühren.

c) Dünndarm. Alle 3 Kulturen ließen eine stark zerrissene Agarmasse sehen. Von der C-Kultur gehörten die Kolonien zum Teil dem Güntheri-Typus, zum Teil kurzen, dicken Polkappen zeigenden, unbeweglichen Stäbchen der Coli-Gruppe an. Vorherrschend waren aber jedenfalls Güntheri.

#### II. Ausgangsmaterialien pasteurisiert.

a) Pansen. Die A-Platte war ganz verflüssigt von den Bodenbakterien. Die B-Platte enthielt eine ziemlich gemischte Flora mit *Tumescens* als vorherrschende Art. *Megatherium*-Kolonien traten der Zahl nach zurück. Auch das schon wiederholt genannte unbewegliche Längsstäbchen aus Erde ließ sich ziemlich häufig nachweisen. Die C-Platte enthielt 1 *Mycoides*-, 1 *Tumescens*- und 1 *Mesentericus*-Kolonie.

In den anaëroben Kulturen war keine Gasbildung eingetreten. Es kamen Kolonien der verschiedenartigsten Bakterien vor. Auch relativ viele Pektinvergärer-ähnliche, die aber bei näherer Prüfung durchwegs ein negatives Resultat lieferten. Auch 2 sehr zähe *Putrificus*-ähnliche Kolonien waren zu bemerken. Nach Herstellung einer Stichkultur ließen sie ebensowenig das Charakteristische *Putrificus*-Wachstum als den unangenehmen fauligen Geruch erkennen.

b) Labmagen. Auch hier war die A-Platte ganz, die B-Platte zum größten Teil verflüssigt von den verschiedensten Bakterienarten. *Mesentericus*, *Tumescens* und das mehrfach genannte unbewegliche Langstäbchen waren die Hauptvertreter.

Die Kulturen i. h. Schicht enthielten nur wenige Kolonien. Im A-Röhrchen waren 3 große, flockige *Mycoides*; 3 sehr zähe *Putrificus*-ähnliche und 4 Pektinvergärer-ähnliche, große, schleimige Kolonien. Diese letzteren vermochten nach Abimpfung sämtlich schon nach 20–24 Stunden eine außerordentlich kräftige Gasbildung in den spezifischen Nährböden zu erzeugen. Auch die B-Kultur enthielt eine Kolonie, welche sich gleichfalls der Vergärung von Pektin und verwandten Stoffen fähig erwies.

c) Dünndarm. Von den 6 Kolonien der C-Platte waren 2 Pektinvergärer-ähnliche, die aber keine Gasbildung hervorrufen konnten. Die anderen 4 gehörten verschiedenen Bakterienarten an. Auch auf der B-Platte waren diese Pseudopektinvergärer recht häufig. Morphologisch sind sie den echten Pektinvergärern sehr ähnlich, physiologisch unterscheiden sie sich aber scharf durch das Fehlen der betreffenden spezifischen Funktion.

Die anaëroben Kulturen enthielten nur sehr wenig Kolonien. Pseudopektinvergärer, *Megatherium*, *Putrificus*-ähnliche und *Mesentericus*-Kolonien ließen sich nebeneinander nachweisen. Nur eine einzige Pektinvergärerkolonie konnte aus der A-Kultur isoliert werden.

Auffallend ist bei dieser Probe die verhältnismäßig große Keimzahl im Labmagen und Dünndarm. Die vernichtende Wirkung des Labmagensaftes kommt hier weniger deutlich zum Ausdruck, als bei den vorigen Versuchen. Damit im Zusammenhang dürfte auch die relativ hohe Zahl der großen sporenbildenden Bodenbakterien stehen. Daß im Pansen und auch im Labmagen die Milchsäurebakterien das Feld beherrschen, geht aus den qualitativen Befunden deutlich hervor.

### Versuch XI.

#### A. Vorläufige Prüfung.

Panseninhalt. Reaktion sauer. Geruch schwach nach Exkrementen. Konsistenz flüssig.

Labmageninhalte. Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz flüssig-breiig.

Dünndarminhalte. Reaktion alkalisch. Kein auffallender Geruch. Konsistenz breiig.

**B. Quantitative bakteriologische Analyse.**  
Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen		Labmagen		Dünndarm	
	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
Gel.-Pl.	—	4000	—	14 000	—	10 500
D.-Agar h. Sch.	2 160 000	—	320 000	—	35 000	—
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl.	Bodenbakterien	—	Bodenbakterien + Pseudopektinvergärer	—	Bodenbakterien
	h. Sch.-K.	Güntheri	—	Güntheri + wenig Coli	—	Coli + wenig Güntheri

**C. Qualitative bakteriologische Analyse.**

**I. Ausgangsmaterialien nicht pasteurisiert.**

a) Pansen. In keinem der 3 Röhrchen war Gas gebildet, dagegen zeigten die Agarzylinder eine starke Trübung. Alle untersuchten Kolonien der C-Kultur enthielten typische oder nach der Kokkenform neigende Güntheri, manchmal in 4- und mehrgliedrigen Kettchen. Einige auf Milch geimpfte Kolonien ließen schon nach 30 Stunden eine charakteristische Güntheri-Gerinnung erkennen.

b) Labmagen. Auch hier war in den Kulturen A und C kein Gas gebildet; nur in B ließen sich einige wenige Gasbläschen nachweisen. Die C-Kultur enthielt auch fast ausschließlich Güntheri-Kolonien. Das wenige in B gebildete Gas ist wohl auf die Tätigkeit der Vertreter der Coli-Gruppe zurückzuführen, die sich nur ganz spärlich in dieser Kultur nachweisen ließen.

c) Dünndarm. Die A-Kultur zählt viele kleine Gasbläschen, die B-Kultur nur vereinzelt solche, ebenso das C-Röhrchen, das nur 9 Kolonien enthält. Von diesen 9 Kolonien gehörten 6 der Coli-Gruppe an, während die 3 anderen Güntheri-Kolonien waren. Auch in B ließen sich mehr Coli- als Güntheri-Kolonien zählen.

**II. Ausgangsmaterialien pasteurisiert.**

Da die Kulturen i. h. Schicht in der Tiefe nur vereinzelte Kolonien aufwiesen und sozusagen nur in der oberen Hälfte Wachstum der Bodenbakterien zeigten, kamen sie für die Zählung nicht in Betracht. Aus der Dünndarm-A-Kultur konnten wir einen schönen, kräftig gasbildenden Pektinvergärer isolieren.

a) Pansen. Auf den Platten ist eine sehr gemischte Flora zu bemerken. Das unbewegliche Langstäbchen aus Erde scheint häufig vorzukommen. Ferner sind die anderen sporenbildenden Bodenbakterien hauptsächlich vertreten.

b) Labmagen. Der Unterschied gegenüber den Pansenplatten ist mehr ein quantitativer als ein qualitativer. Vielleicht kommen hier die Pseudopektinvergärer etwas häufiger vor.

c) Dünndarm. Auch hier liefern die Platten das gleiche Bild wie die Pansen- und Labmagenkulturen. Die sporenbildenden Erdbakterien spielen die Hauptrolle.

Das kurz zusammengefaßte Ergebnis würde lauten: Im Pansen und Labmagen ein ausgesprochenes Ueberwiegen der Milchsäurebakterien; im Dünndarm Auftreten des Bact. coli neben den letzteren. Die Zahlen der aus Sporen entwickelten Kolonien lassen kaum einen Schluß bezüglich einer Verminderung oder Vermehrung zu, wenn man die den Keimzahlbestimmungen überhaupt anhaftenden Fehlerquellen und namentlich die Konzentrationsänderungen in Betracht zieht, welche die den Verdauungskanal durchwandernden Substanzen unterworfen sind.

**Versuch XII.**

**A. Vorläufige Prüfung.**

**Panseninhalt.** Reaktion neutral bis schwach alkalisch. Geruch schwach nach Jauche. Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalt.** Reaktion stark sauer. Kein auffallender Geruch. Konsistenz breiig.

Dünndarminhalt. Reaktion schwach alkalisch. Kein auffallender Geruch. Konsistenz flüssig.

B. Quantitative bakteriologische Analyse.  
Keimzahlen pro 1 g Substanz.

		Pansen		Labmagen		Dünndarm	
		nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl.	120 000	3500	90 000	8000	30 000	1750
	D.-Agar	7 000 000	—	120 000	—	12 000?	—
	h. Sch. Gel.-Pl.	Kokken + andere Typen	Pseudo- pektin- vergärer, Megath., Tume- scens	Pseudo- pektin- vergärer + Güntheri	Pseudopek- tinvergärer	Coli + Güntheri	Pseudopek- tinvergärer
	h. Sch.-K.	Güntheri	—	Güntheri	—	Coli + Güntheri	—

C. Qualitative bakteriologische Analyse.

I. Ausgangsmaterialien nicht pasteurisiert.

a) Pansen. Auf den Gelatineplatten sind Kokkenkolonien, verflüssigte und nicht verflüssigte vorherrschend. Ferner Coli-artige, unbewegliche Kurzstäbchen und einige wenige verflüssigte Bodenbakterienkolonien. Auch Pseudopektinvergärer sind nicht selten.

In keiner der anaëroben Kulturen ist eine Gasbildung eingetreten. Das C-Röhrchen ließ ausschließlich Güntheri-Kolonien nachweisen, die zum Teil schöne zugespitzte Stäbchen, zum Teil aber sehr krankhafte Formen erkennen ließen. Von 4 solchen auf Milch abgeimpften Kolonien hat nur eine prompt die Gerinnung hervorgerufen, die anderen nach 4 Tagen noch nicht. Die Kulturen wurden titriert und es konnte nachgewiesen werden, daß zwar ein gewisses Quantum Säure gebildet war, aber zu wenig, um das Kasein zu fällen.

b) Labmagen. Weit vorherrschend sind kleine, punktförmige Kolonien, welche typische Pektinvergärerstäbchen aufwiesen. Das morphologische Bild und die eigenartige, zitternde Bewegung stimmten auffallend. Trotzdem vermochte keine der vielen Abimpfungen eine Gasbildung in dem spezifischen Nährboden hervorzurufen. Etwa 60 Proz. der Kolonien waren solche Pseudopektinvergärer. Ferner kamen die gewöhnlichen Erdbakterien und einige wenige Güntheri-Kolonien vor.

Keine der Kulturen i. h. Schicht ließ eine Gasbildung erkennen. Alle Kolonien der C-Kultur bestanden aus krankhaften Güntheri-Stäbchen; so waren also auch hier diese fast ausschließlich vorhanden.

c) Dünndarm. Auf den Platten sind typische Coli-Oberflächenkolonien vorherrschend. Auch die Pseudopektinvergärerkolonien kommen recht häufig vor; nebst dem waren vereinzelte Güntheri nachzuweisen. Bodenbakterien wie Megatherium, Mesentericus etc. fehlten. Die Platten waren nicht verflüssigt. Das A-Röhrchen der Kulturen i. h. Schicht zeigt eine stark zerrissene Agarmasse, die B- und C-Kultur war steril. In A sind deutlich nur etwa 12 Kolonien zu sehen, darunter Coli-ähnliche und Güntheri. Doch ließ die zertrümmerte Agarmasse eine regelrechte Zählung nicht zu. Andererseits ergaben die entsprechenden Platten viel höhere Zahlen, so daß vielleicht ein Irrtum vorliegen dürfte.

II. Ausgangsmaterialien pasteurisiert.

a) Pansen. Die Platten zeigen vorherrschend Pseudopektinvergärerkolonien. Die A-Platte war ganz verflüssigt durch nur wenige Megatherium und Tumescens. Die B-Platte zählte 35 Kolonien, wovon 15 dem Pseudopektinvergärer, 5 Megatherium und die anderen verschiedenen Arten angehörten, worunter Tumescens und Mesentericus.

b) Labmagen. Die A-Platte zählte nur wenige verflüssigte Megatherium-Kolonien. Weit vorherrschend, zu etwa 70 Proz., waren Kolonien von den Pektinvergärer-ähnlichen Stäbchen, welche die Gelatine nur langsam verflüssigten. Die anderen Kolonien gehörten den Bodenbakterien an.

In den anaëroben Kulturen ließen sich einige Mycoides und ziemlich viel dieser Pseudopektinvergärerkolonien nachweisen. Es war fast nur in den oberen Schichten Wachstum.

c) Dünndarm. Auch hier spielen auf den Platten die Pektinvergärer-ähnlichen die Hauptrolle. Verflüssigte Kolonien nur selten.

Von den Kulturen i. h. Schicht war die C-Kultur steril, die A- und B-Röhrchen zeigten nur oben Kolonienwachstum. Deshalb haben wir für keine dieser Kulturen die Kolonienzahl bestimmt, und uns zur Feststellung der Sporenzahl nur der Platten bedient.

Auch dieser Versuch gibt uns in der Hauptsache das normale Bild. Vorherrschen des Milchsäurebakteriums im Pansen und Labmagen. Auftreten von Coli neben Güntheri im Dünndarm. Ganz bedeutende Reduktion der Keimzahl im Labmagen und weitere Abnahme im Dünndarm. Auffallend ist das starke Auftreten des Pseudopektinvergärs, besonders in den pasteurisierten Ausgangsmaterialien, ferner die Abwesenheit von sporenbildenden, bezw. von Sporen fakultativ oder obligat anaërober Arten in den Kulturen in hoher Schicht.

**Versuch XIII.**

**A. Vorläufige Prüfung.**

**Panseninhalt.** Reaktion schwach alkalisch. Geruch sehr schwach nach Exkrementen. Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalt.** Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz breiig.

**Dünndarminhalt.** Reaktion neutral bis schwach alkalisch. Kein auffallender Geruch. Konsistenz dick-flüssig.

**Mastdarminhalt.** Reaktion neutral. Schwacher Geruch nach Exkrementen. Konsistenz fest.

**B. Quantitative bakteriologische Analyse.**  
Keimzahlen pro 1g Substanz.

		Pansen	Labmagen	Dünndarm	Mastdarm
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl.	70 000	18 000	9000	160 000
	D.-Agar h. Sch.	9 500 000	20 000	4000	900 000
	Gel.-Pl.	Kokken	Bodenbakterien	Bodenbakterien	Gemisch verschiedener Typen
	h. Sch. K.	Güntheri	Güntheri	Bodenbakt. + Güntheri	Güntheri

**C. Qualitative bakteriologische Analyse.**

a) **Pansen.** Auf den Gelatineplatten sind verflüssigte und nicht verflüssigte Kokkenkolonien die vorherrschenden. Ferner kommen in geringer Zahl Coli-ähnliche Kolonien vor. Verflüssigte Megatherium-Kolonien sind nur auf der A-Platte zu bemerken. Auch einige wenige pilzmycelartiges Wachstum zeigende, sehr schnell die Gelatine verflüssigende Kolonien von langen, stark körnigen Bacillen, die ausgesprochen Fadenwuchs zeigen, lassen sich nachweisen. Auch die B-Platte hat eine solche Kolonie. Die Flora ist im allgemeinen eine recht gemischte, Kokken spielen aber die Hauptrolle.

In den anaëroben Kulturen war eine starke Trübung der Agarcylinder, aber kein Gas wahrzunehmen. Das C-Röhrchen ließ lauter typische linsenförmige Güntheri-Kolonien erkennen, welche bei näherer mikroskopischer Untersuchung sich zum Teil aus typischen, zum Teil aus krankhaften Güntheri-Stäbchen zusammengesetzt erwiesen.

b) **Labmagen.** Die A-Platte war durch die oben genannten pilzmycelartigen Kolonien vollständig verflüssigt und für die weitere Untersuchung unbrauchbar. Auch die Bodenbakterien fehlten nicht. Auf der B-Platte finden sich 2 dieser sehr schnell verflüssigenden Langstäbchen-Kolonien, ferner Kolonien von unbeweglichen und beweglichen Coli-artigen Stäbchen, sowie Megatherium, Mesentericus und Pseudopektinvergärs. Im großen ganzen also ein recht buntes Gemisch.

Auffallend gering war die Kolonienzahl in den Kulturen i. h. Schicht. In der A-Kultur waren von 30 Kolonien jedenfalls 25 typische Güntheri. Auch bei B ließen alle untersuchten Kolonien unzweifelhafte Güntheri-Stäbchen erkennen, und dieselbe Bakterienart bildete die 4 einzigen Kolonien der Röhre C.

c) **Dünndarm.** Die A-Platte war total verflüssigt von Tumescens und

**Megatherium.** Von den 8 Kolonien der B-Platte waren 3 verflüssigte *Tumescens*, 2 verflüssigte *Megatherium*, 2 verflüssigte *Mesentericus* und 1 *Pseudopektinvergärer*.

Die Kulturen i. h. Schicht wiesen nur spärliche Kolonien auf, welche teils den großen Bodenbakterien, teils dem *Güntheri* angehörten.

d) **Mastdarm.** Auch hier fehlten die pilzmycelartiges Wachstum zeigenden Kolonien nicht, und hatten die A-Platte zum Teil ganz verflüssigt. Auch verflüssigte Bodenbakterienkolonien kamen häufig vor. Auf der B-Platte ließen sich viele kleine, punktförmige Kolonien von kokkenähnlichen *Güntheri* nachweisen; diese herrschten der Zahl nach vor.

In den Kulturen i. h. Schicht war kein Gas gebildet. Nur in der A-Kultur war eine starke Trübung der Agarmasse eingetreten. In B fanden sich nur 8 Kolonien. Alle diese wurden mikroskopisch untersucht und zeigten die *Güntheri*-Stäbchen in typischer Weise. 2 Abimpfungen auf Milch hatten schon nach 30 Stunden zu der charakteristischen Gerinnung geführt.

In keinem der bisherigen Versuche läßt sich die vernichtende Wirkung der Labmagensäfte so schön nachweisen wie in diesem, geht doch die Zahl von  $9\frac{1}{2}$  Mill. Keimen im Pansen auf 20 000 im Labmagen zurück. Die Reduktion geht im Dünndarm noch weiter, um im Mastdarm dagegen wieder einer erheblichen Vermehrung Platz zu machen. Daß im Pansen, Labmagen und diesmal auch im Mastdarm die Milchsäurebakterien den ersten Rang behaupten, geht aus den angeführten Belegen deutlich hervor.

#### Versuch XIV.

##### A. Vorläufige Prüfung.

**Panseninhalte.** Reaktion neutral bis schwach alkalisch. Geruch stark nach Exkrementen. Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalte.** Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz dick-flüssig.

**Dünndarminhalte.** Reaktion deutlich sauer. Kein auffallender Geruch. Konsistenz flüssig.

**Mastdarminhalte.** Reaktion neutral. Geruch schwach nach Exkrementen. Konsistenz fest.

##### B. Quantitative bakteriologische Analyse. Keimzahlen pro 1 g Substanz.

		Pansen	Labmagen	Dünndarm	Mastdarm
Gel.-Pl.		240 000	40 000	14 000	450 000
D.-Agar h. Sch.		7 500 000	45 000	3 000	86 000 000
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl.	<i>Güntheri</i> + Kokken + andere	<i>Mesent.</i> , <i>Megath.</i> + andere	Gemisch verschiedener Typen	<i>Güntheri</i> + Säurestäbchen
	h. Sch.K.	<i>Güntheri</i>	<i>Güntheri</i>	?	<i>Güntheri</i>

##### C. Qualitative bakteriologische Analyse.

a) **Pansen.** Die Gelatineplatten waren nicht verflüssigt. Neben wenigen gelben Kokkenkolonien waren vorherrschend kleine, punktförmige Kolonien, die zum Teil *Güntheri*-Stäbchen zeigten, zum Teil aber auch ziemlich kurze, aber für *Coli* doch zu schlanke unbewegliche Stäbchen erkennen ließen. Sie gehören vermutlich zu der Gruppe der nicht gasbildenden Milchsäurebakterien. Die meisten untersuchten Kolonien bestanden aus den letztgenannten Stäbchen. Auch in den Kulturen i. h. Schicht konnten sie vereinzelt nachgewiesen werden, allerdings wurden sie hier in der Zahl weit übertroffen durch die typischen *Güntheri*, welche durchaus in den Vordergrund traten.

b) **Labmagen.** Die A-Platte war ganz verflüssigt von einigen wenigen der schon früher genannten pilzmycelartiges Wachstum zeigenden Kolonien. Auf der B-Platte waren mehrere *Mesentericus*- und einige wenige *Megatherium*- und *Tumescens*-Kolonien zu sehen. Auch *Pseudopektinvergärer*-Kolonien kamen relativ häufig vor. Daß es sich um solche und nicht um wirkliche Pektinvergärer handelte,



wurde an Hand besonderer Abimpfungen festgestellt. Kolonien von den beim Pansen erwähnten vermutlichen Säurestäbchen wurden auch hier gefunden.

Die anaëroben Kulturen lieferten das gleiche Bild wie die vom Pansen. Alle untersuchten Kolonien gehörten dem Güntheri-Typus an. Gas war nicht gebildet.

c) Dünndarm. Keine von den Platten enthielt eine verflüssigte Kolonie. Die A-Platte zählte nur 12, die B-Kultur bloß 7 und die C-Platte 3 Kolonien. Zwei von diesen letzten zeigten unbewegliche Coli-ähnliche Stäbchen, die dritte Kolonie ließ typisch verzweigte Bakterien erkennen.

Bei den Kulturen i. h. Schicht waren nur im A-Röhrchen 3 Kolonien zu sehen, B und C blieben steril, also außerordentlich wenig Bakterien. Es handelte sich um Kurzstäbchen, die sicher nicht dem Bact. Güntheri angehörten.

d) Mastdarm. Die A-Platte war ganz, die B-Platte zum größten Teil verflüssigt von den pilzmycelartig wachsenden Kolonien. Auch einige wenige verflüssigte Bodenbakterienkolonien waren leicht zu erkennen. Vorherrschend waren aber Güntheri und die vermutlichen Säurestäbchen. Die C-Platte enthielt fast nur diese 2 Arten und daneben sehr wenig verflüssigte Kolonien.

Die Kulturen i. h. Schicht waren auffallend dicht bewachsen und eine Zählung konnte nur mit Hilfe des Okular-Netzmikrometers vorgenommen werden. Auch war eine sichere mikroskopische Untersuchung mit Schwierigkeiten verknüpft. Doch ließ sich erkennen, daß Güntheri fast ausschließlich an der großen Kolonienzahl beteiligt war.

In erster Linie springt bei diesem Versuch die enorm hohe Keimzahl des Mastdarminhaltes in die Augen. Sehr überraschen kann allerdings eine gelegentliche starke Entwicklung von Milchsäurebakterien in diesem Darmabschnitte, wo es leicht zu Stauungen der Kotmassen kommen kann, nicht. Haben doch bisher alle Proben gezeigt, daß gerade die Milchsäurebakterien in der ganzen Ausdehnung des Verdauungstraktus mit großer Regelmäßigkeit zu finden sind. Im übrigen schließt sich der vorliegende Versuch bezüglich der allgemeinen Ergebnisse in jeder Beziehung den vorhergehenden an.

## Versuch XV.

### A. Vorläufige Prüfung.

**Panseninhalt.** Reaktion schwach alkalisch. Geruch nach Kuhstall. Konsistenz flüssig.

**Labmageninhalt.** Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz dick-flüssig.

**Dünndarminhalt.** Reaktion deutlich alkalisch. Kein auffallender Geruch. Konsistenz breiig.

**Mastdarminhalt.** Reaktion neutral. Kein auffallender Geruch. Konsistenz fest.

Direkte mikroskopische Untersuchung (gefärbtes Präparat).

**Pansen.** Massenhaft Bakterien in dichtem Gemenge mit den Futterpartikelchen. Deutlich zugespitzte Güntheri in 2- und 4-gliedrigen Kettchen sind vielfach zu sehen. Auch Kurzstäbchen kommen vor. Langstäbchen nur vereinzelt.

**Labmagen.** Auffallender Unterschied gegenüber der vorigen Probe, indem Güntheri und Coli-ähnliche Stäbchen nur selten zu erkennen sind.

**Dünndarm.** Zeigt das gleiche Verhalten wie Labmagen, nur sind die Stäbchen hier anscheinend noch spärlicher nachzuweisen.

**Mastdarm.** Bedeutend mehr Bakterien als im Labmagen und Dünndarm, aber entschieden weniger als im Pansen. Auffallend sind zahlreiche große, stark leuchtende; als Sporen anzusprechende Gebilde. Um über die Natur der letzteren einen sicheren Aufschluß zu bekommen, wurde das Mastdarminmaterial sowohl im nicht pasteurisierten als im pasteurisierten Zustande auf Platten verarbeitet.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal.

### Acidophile Bakterien.

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

Von **S. S. Mereshkowsky.**

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

Um ein Bild des mikroskopischen Ansehens nach Gram gefärbter Strichpräparate aus dem Inhalte verschiedener Abschnitte des Darmkanals zu entwerfen, wollen wir hier einen Auszug aus dem Protokoll der Untersuchung der Leiche No. 1 auf Tabelle 6 anführen:

1) In den Strichpräparaten aus dem Mageninhalt finden sich nach Gram gefärbte Stäbchen und Kokken. Ueberhaupt aber sehr wenig Mikroorganismen.

2) Duodenum: Nach Gram gefärbte Stäbchen, welche im Präparate stellenweise in Form von Zigarrenpäckchen gruppiert sind; ziemlich kleine, gefärbte Kokken, zu zweien oder in Ketten zu 4 vereinigt; eine gefärbte Sarcina. Im allgemeinen ist nur eine sehr kleine Anzahl Mikroorganismen vorhanden.

3) Jejunum: Ziemlich lange, dünne und kurze, dicke, ungefarbte Stäbchen; ungefarbte, kleine Kokken; gefärbte Kokken und Stäbchen; letztere bedeutend mehr als im Duodenum. Gefärbte Stäbchen im ganzen aber weniger als ungefarbte.

4) Ileum: Mehr gefärbte Stäbchen als in dem vorhergehenden Darmabschnitte; außerdem finden sich gefärbte Diplokokken, man bemerkt viele ungefarbte Kokken und Stäbchen verschiedener Größe.

5) Coecum: Viele gefärbte Stäbchen, lange und kurze, die in Fäden aus zwei und mehr Gliedern vereinigt sind; einige von den Stäbchen sind dünn, andere dick; außerdem befinden sich gefärbte Kokken in Ketten von zwei und mehr Gliedern; recht viele ungefarbte Stäbchen und Kokken, die unter den gefärbten verstreut sind.

6) Colon ascendens: Gefärbte Stäbchen bedeutend mehr als in den vorhergehenden Abschnitten; es befinden sich auch gut gefärbte Kokken in Ketten und auch paarweise; die ungefarbten Stäbchen und Kokken sind auch in genügend großer Anzahl vorhanden.

7) Colon descendens: Eine sehr große Menge gefärbter Stäbchen, von denen einige die Gestalt langer, dicker Fäden haben; wenig gefärbte Kokken; ziemlich viel ungefarbte Stäbchen und Kokken; es kommen auch lange, fast ganz entfärbte Fäden vor, bestehend aus in der Mitte verengter, biskuitähnlicher, gleichmäßig großer, ziemlich umfangreicher Glieder.

8) Rectum: Das ganze Gesichtsfeld ist mit gefärbten Stäbchen besät; letztere treten meist auf in Form von Fäden aus 2—4 Gliedern; gefärbte Kokken bloß wenige; es sind auch ziemlich viele ungefarbte Stäbchen und Kokken vorhanden.

Gleiche mikroskopische Bilder ergaben auch Strichpräparate aus den Faeces nicht nur der Menschen, sondern auch der Tiere.

Hieraus ersehen wir, daß die acidophilen Bakterien längs des ganzen Verlaufes des Verdauungskanales vorhanden sind, wobei ihre Anzahl, mit derjenigen der anderen Mikroorganismen Schritt haltend, in der Richtung vom Magen zum Rectum hin beständig zunimmt und im letzteren ihr Maximum erreicht.

Eine solche Verteilung der acidophilen Bakterien längs dem Verdauungskanal in Verbindung mit deren wahrscheinlich allgemeiner Verbreitung bei den Tieren, unabhängig von der großen Verschiedenheit der Nahrungsweise und Körpertemperatur der letzteren, kann Grund zu der Annahme geben, daß diese Bakterien in den Verdauungskanal mit der Nahrung gelangen, wie das betreffs der Säugetiere schon gesagt wurde. Nach dieser Voraussetzung durchwandern sie den Darmkanal, ohne ihre Lebenstätigkeit zu äußern, wobei ihre Anzahl sich vergrößert, je mehr sie sich dem Anus nähern, jedoch nicht infolge einer wirklichen Vermehrung, sondern wegen der Verringerung der anfänglichen Menge des Darminhaltes in Abhängigkeit von dessen Absorption seitens der Darmwände. Unter solchen Bedingungen wäre es natürlich äußerst gewagt, anzunehmen, daß das Vorhandensein dieser Bakterien im Darne irgend eine Bedeutung für die Tiere haben könnte.

Um festzustellen, inwieweit eine derartige Annahme als begründet betrachtet werden kann, schlug ich Dr. Lukin vor, die Verbreitung der acidophilen Bakterien in unserer nächsten Umgebung zu erforschen, in den Nahrungsmitteln, in der Luft, dem Wasser und der Erde. Leider haben die laufenden Ereignisse seine Arbeit in einer noch lange nicht beendigten Form angetroffen. Jedoch schon nach den ausgeführten Analysen der Erde, des Wassers und verschiedener Proben des Luftstaubes zu urteilen, welche in keinem Falle die Gegenwart acidophiler Bakterien in den untersuchten Proben bestätigten, muß man annehmen, daß deren Verbreitung in unserer Umgebung sehr begrenzt ist, und es daher vollständig unwahrscheinlich ist, daß sie von den Tieren in solcher Menge verschluckt werden, wie sie im Darmkanal enthalten sind.

Die Untersuchungen O braszows, betreffend die Anwesenheit acidophiler Bakterien auf der Oberfläche des Tierkörpers, in der Mundhöhle und in den Saugwarzen, führen sogar zu dem Gedanken, daß die Bakterien außerhalb des Darmes besondere Lebensbedingungen erfordern, bei deren Abwesenheit sie schnell zu Grunde gehen.

Um sich das für diese Untersuchungen notwendige Material zu beschaffen, reinigte O braszow sorgfältig bestimmte Hautpartieen mittels eines Bäuschchens sterilisierter, mit Wasser benetzter Watte; auf dieselbe Art wurde das Material auch der Mundhöhle entnommen, doch statt der benähten mit trockener Watte. Zur Untersuchung der Milchkanäle wurden kleine Mengen Milch aus der Saugwarze entweder mit einem besonderen Apparate abgesaugt, oder einfach herausgedrückt, einmal wurde die ganze Milchdrüse extirpiert. All diese Proben kamen auf 1—2 Tage in Bouillon mit 0,5-proz. Essigsäure, nach welcher Frist aus ihnen Plattenkulturen auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker angestellt wurden.

Diese Untersuchungen ergaben folgende Resultate (s. Tabelle 8).

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß, obgleich das Untersuchungsmaterial von Tieren herrührte, welche in Käfigen gehalten und sich folglich in ständiger Berührung mit Exkrementen befanden, die reich an acidophilen Bakterien waren, letztere in den Proben doch verhältnismäßig sehr selten angetroffen wurden.

Auf Grund dieser Daten muß zugegeben werden, daß die Annahme

Tabelle 8.  
 Resultate der Untersuchung des Speichels, der Körperoberfläche und  
 Milch bei Tieren auf das Vorhandensein acidophiler Bakterien.

No. der Beobachtungen	Name des Tieres, welchem die Probe entnommen wurde	Untersuchungs-objekt	In den Plattenkulturen aus den Proben waren viel ++, wenig +, keine 0 Kolonien des	
			Typus I	Typus II
1	Erwachsene Ziege	Speichel	++	0
2	Von derselben	"	++	0
3	Igel	"	0	0
4	Kaninchen, schwangeres	"	0	+
5	Kater, erwachsener	"	0	0
6	Meerschweinchen, erwachsen	"	0	+
7	Hündin No. I, nährt	"	0	0
8	" " I, "	"	0	0
9	" " I, nachdem sie aufgehört hat zu nähren	"	++	++
10	" " II, nährt	"	+	+
11	" " II, "	"	0	+
12	" " II, ca. 1 $\frac{1}{2}$ Wochen nachdem sie aufgehört hat zu nähren	"	0	0
13	Hündchen No. 1 (I) am 32. Tage der Fütterung mit steriler Kuhmilch <sup>1)</sup> . Entnahme der Probe vor dem Beginn der Fütterung	"	++	+
14	Hündchen No. 3 (I), Bedingungen wie bei Beobacht. No. 13 <sup>1)</sup>	"	0	0
15	Hündchen No. 2 (I) am 32. Tage der Fütterung mit Milchkulturen des <i>B. acidophilus</i> No. 1 <sup>1)</sup> . Entnahme der Probe vor Beginn der Fütterung <sup>2)</sup>	"	0	0
16	Hündchen No. 4 (I), Bedingungen wie bei Beobacht. No. 15 <sup>1)</sup>	"	0	0
17	Hündchen No. 1 (III), 3 Wochen alt, nährt sich mit Muttermilch. Entnahme der Probe 1 Std. nach der Fütterung <sup>2)</sup>	"	0	+
18	Hündchen No. 1 (II) am 24. Tage der Fütterung mit Milchkulturen des <i>B. acidophilus</i> No. 2 <sup>2)</sup> . Entnahme der Probe vor Beginn der Fütterung	"	0	0
19	Hündchen No. 2 (II), Bedingungen wie bei Beobacht. No. 18 <sup>2)</sup>	"	+	+
20	Hündchen No. 3 (II) am 24. Tage der Fütterung mit steriler Kuhmilch <sup>2)</sup>	"	0	0
21	Hündchen No. 4 (II), Bedingungen wie bei Beobacht. No. 20 <sup>2)</sup>	"	0	0
22	Hündchen No. 5 (II) am 16. Tage der Fütterung mit Milchkulturen des <i>B. acidophilus</i> No. 2 <sup>2)</sup> . Entnahme der Probe vor der Fütterung	"	0	0
23	Hündchen No. 6 (II), Bedingungen wie bei Beobacht. No. 22	"	0	0
24	Hündchen No. 7 (II) am 24. Tage nach der Geburt <sup>2)</sup> , nährt sich ausschließlich mit Muttermilch. Entnahme der Probe vor der Fütterung	"	+	+
25	Hündin No. I, nährt	Brustwarzen	0	0
26	" " I, "	"	0	0
27	" " I, "	"	0	0
28	" " II, "	"	0	0
29	" " II, "	"	+	+
30	" " II, "	einige Tr. Milch	0	0
31	" " II, "	"	0	+
32	Kaninchen (siehe Beobachtung No. 4)	die "extirpierte" Milchdrüse	0	0
33	" ( " " " 4)	Oberfläche des Bauches	0	0
34	Igel (siehe Beobachtung No. 3)	do.	0	0
35	Zieselmaus	Oberfl. des Bauches u. d. Rückens	0	0
36	Kater (siehe Beobachtung No. 5)	do.	0	0
37	Meerschweinchen (siehe Beobachtung No. 6)	do.	0	0
38	Huhn	Oberfl. der Brust	+	0

1) Siehe Tabelle No. 9. — 2) Siehe Tabelle No. 7, Beobachtung No. 2. — 3) Siehe Tabelle No. 10.

der zufälligen Ansammlung acidophiler Bakterien im Darne infolge der Einführung derselben in großen Mengen mit Futter und Trank sehr wenig wahrscheinlich erscheint, und daß es richtiger ist, dieselben der Gruppe der Darmbakterien, d. h. solcher, welche im Darne günstige Vorbedingungen für ihr Dasein und ihre Vermehrung finden, zuzuzählen.

Um sich über deren Bedeutung für die Tiere zu orientieren, machte Oblaszow Versuche mit Verfütterung von Reinkulturen auf Milch an jungen Hunden während einer ziemlich langen Zeitdauer.

Die Versuche wurden folgendermaßen angestellt: Zur Verfütterung von Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 1 benutzte Oblaszow 4 junge Hunde der Hündin No. I, welche gleich nach der Geburt folgendes Gewicht ergaben: No. 1 249 g, No. 2 225 g, No. 3 205 g und No. 4 264 g.

Während der ersten 17 Tage nach der Geburt wurden alle vier Hündchen ausschließlich mit Muttermilch aufgezogen, vom 18. Tage an erhielten:

No. 1 und 3 sterile Kuhmilch, No. 2 und 4 eine 3-tägige Kultur des *B. acidophilus* No. 1 bei 37,5° C und unter anaëroben Bedingungen auf Kuhmilch.

Die sterile Kuhmilch und die Kultur wurden anfangs in Mengen von ca. 20 g per Tag gegeben, und die Hauptnahrung der Hündchen bestand in der Milch, die sie fortdauernd bei der Mutter sogen. Die erwähnten Portionen wurden allmählich vergrößert und nach Verlauf der ersten 4 Wochen des Versuches, als bei der Mutter die Milch verschwand, bekamen die jungen Hunde ausschließlich die benannten Versuchsorten von Kuhmilch (Wasser zum Trinken erhielten sie nicht) als Nahrung, wobei die Portionen schließlich bis zu 500 g täglich stiegen (das wirklich verbrauchte Quantum).

Zum Verfütterungsversuch mit Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 2 wurden die jungen Hunde der Hündin No. II benutzt, welche ihrer 7 lebende zur Welt brachte. Dieselben wogen gleich nach der Geburt: No. 1 320 g, No. 2 310 g, No. 3 330 g, No. 4 300 g, No. 5 290 g, No. 6 300 g und No. 7 270 g.

Die jungen Hunde No. 1, 2, 3 und 4, welche während der 3 ersten Tage nur Muttermilch erhielten, bekamen vom 4. Tage an:

No. 1 und 2 5-tägige Kulturen (ohne Luftzutritt bei 37,5° C) des *B. acidophilus* No. 2 auf Kuhmilch, No. 3 und 4 sterile Kuhmilch.

Bei den jungen Hunden No. 5 und 6 begann der Versuch erst am 12. Tage nach der Geburt und bis zum Beginn desselben erhielten sie nur Milch von der Mutter.

Vom 12. Tage an nach der Geburt erhielten die Hündchen:

No. 5 und 6 eine 7—9-tägige Kultur (bei 37,5° C ohne Luftzutritt) des *B. acidophilus* No. 2 auf Kuhmilch.

No. 7 wurde ungefähr im Laufe eines Monats (vgl. Tabelle 10) ausschließlich mit Muttermilch gefüttert und darauf, da zu dieser Zeit bei der Hündin die Milchsekretion aufhörte, bekam er Hafergrütze und Fleisch.

Während der ersten Versuchstage erhielten die jungen Hunde No. 1 bis 6 der zweiten Serie sterile oder infizierte Milch in Mengen von gegen 10 g; ihre Hauptnahrung bestand in Muttermilch. Die Portionen wurden beständig vergrößert und vom 34. Tage ab nach der Geburt, als die Milch bei der Mutter versagte, wurden die betreffenden Hündchen ausschließlich auf Versuchsmilch übergeführt, ohne irgend welche andere Nahrung oder Getränk zu erhalten. Die schließliche Tagesportion steriler Kuhmilch oder der Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 2 erreichte ungefähr

300—500 g (hier kam, wie bei dem Versuche mit den Hündchen der ersten Serie, nur das wirklich genossene Quantum der Milch in Betracht).

Um die Veränderung der Flora des Darmkanals zu verfolgen, wurden in gewissen Zeiträumen vermittelst der oben beschriebenen Glasröhrchen Proben der Faeces der jungen Hunde genommen. Von jeder dieser Proben untersuchte Obraszow einen Teil als nach Gram gefärbtes Strichpräparat mikroskopisch, den anderen Teil dagegen brachte er in Bouillon mit 0,5-proz. Essigsäure, um dann hieraus nach 1—2-tägigem Aufenthalte im Brutschrank bei 37,5° C Plattenkulturen auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker anzufertigen.

Um sich ein umfassenderes Bild der in der Darmflora vorgegangenen Veränderungen zu machen, wurden einige Zeit nach Beginn der Fütterung mit Versuchsmilch (s. Tabelle 9 und 10) Plattenkulturen ohne Durchführung der fäkalen Masse durch Bouillon mit Essigsäure hergestellt; zuerst auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker — dem günstigsten Nährboden für die acidophilen Bakterien — und dann ebenso auf gewöhnlichem Agar (neutralem) ohne Zucker, auf welchem, wie wir gesehen haben, die Entwicklung der acidophilen Bakterien durch die nach Gram nicht färbbaren Darmbakterien unterdrückt wird.

Die bei diesen Untersuchungen erzielten Resultate sind auf folgenden Tabellen zusammengestellt (p. 701—703).

Bei Durchsicht dieser Tabellen finden wir, daß aus der Zahl der untersuchten 11 jungen Hunde bei 8 Tieren in den fäkalen Strichpräparaten sich vor dem Beginn der Versuchsfütterung mehr nach Gram färbbare als nicht färbbare Stäbchen vorfanden; bei den letzten 3 Hündchen (Hündchen No. 3 aus Tabelle 9, und Hündchen No. 2 und 3 Tabelle 10) waren die Stäbchen beider Sorten annähernd in der gleichen Anzahl vertreten.

In den Plattenkulturen derselben fäkalen Proben entwickelte sich entweder die gleiche Anzahl Kolonien des I. und II. Typus, oder aber diejenigen des II. Typus waren zahlreicher als die des I. (Beim Hündchen No. 2 (Tabelle 9) und No. 4 (Tabelle 10) waren die Kolonien des I. Typus überhaupt nicht vorhanden). Das Vorherrschen der Kolonien des I. Typus vor denjenigen des II., wie dies bei den in Tabelle 4 verzeichneten Untersuchungen der Fall war, ist kein Mal beobachtet worden.

Zwecks einer richtigeren Beurteilung derjenigen Veränderungen in der Darmflora, die unter der Einwirkung der Versuchsfütterung vor sich gingen, wollen wir mit der Uebersicht der Resultate beginnen, welche die Untersuchung der Faeces vom Hündchen No. 7 (Tabelle 10) ergab. Es wurde, wie erwähnt, zuerst ausschließlich mit Muttermilch gefüttert und erhielt darauf, als bei der Hündin die Milch verschwand, vom 34. Tage nach der Geburt ab, Hafergrütze und Fleisch.

Vergleicht man die Resultate der mikroskopischen Untersuchung nach Gram gefärbter Strichpräparate aus den Faeces dieses Hündchens, so kann man ersehen, daß solange es sich von Muttermilch nährte, entweder mehr färbbare Stäbchen als nicht färbbare, oder daß von beiden eine gleiche Anzahl vorhanden war. Vom Beginn der Fütterung des Tierchens mit Hafergrütze und Fleisch ab (Beobachtung No. 6, Tabelle 10) ändert sich das Verhältnis scharf ins Entgegengesetzte: Die nicht färbbaren Stäbchen nehmen an Anzahl den anderen gegenüber beträchtlich zu. In der Beobachtung No. 8 scheint ein eventuelles Bestreben zur Rückkehr des früheren Verhältnisses vorzuliegen, in den ferneren dagegen tritt das Vorwalten der nicht färbbaren Stäbchen wieder deutlich hervor und bleibt so bis zum Ende des Versuches.

Tabelle 9. Resultate der Fütterungsversuche von Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 1 an junge Hunde.

No. der Beobachtungen	An welchem Tage des Versuches die Probe entnommen wurde	Bei Untersuchung der Strichpräparate aus den Proben waren nach Gram gefärbte oder ungefärbte Stäbchen vorhanden: viel ++, wenig +, keine 0												In den Plattenkulturen aus den Proben waren viel ++, wenig +, keine 0 Kolonien des Typus I oder II								
		Hündchen No. 1			Hündchen No. 2			Hündchen No. 3			Hündchen No. 4			Hündchen No. 2		Hündchen No. 4						
		sterile Kuhmilch						Milchkultur des <i>B. acidophilus</i> No. 1						sterile Kuhmilch		Milchkultur des <i>B. acidophilus</i> No. 1						
		gefärbte	un-gefärbte	gefärbte	un-gefärbte	gefärbte	un-gefärbte	gefärbte	un-gefärbte	gefärbte	un-gefärbte	gefärbte	un-gefärbte	Typus I	Typus II	Typus I	Typus II	Typus I	Typus II	Typus I	Typus II	
1	Vor Beginn des Versuches	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2	2.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3	5.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4	10.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5	13.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
6	19.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
7	24.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8	27.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9 <sup>1)</sup>	29.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10 <sup>2)</sup>	34.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
11 <sup>3)</sup>	41.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
12 <sup>6)</sup>	41.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
13 <sup>3)</sup>	44.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
14 <sup>5)</sup>	49.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
15 <sup>3)</sup>	54.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
16 <sup>7)</sup>	64.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
17 <sup>1)</sup>	72.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
18 <sup>7)</sup>	77.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

1) Die Hündin hat endgültig aufgehört, die jungen Hunde zu sich zu lassen, woher letztere von diesem Tage an ausschließlich mit der entsprechenden Versuchsmilch genährt wurden. — 2) Die Plattenkulturen sind angestellt auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker, ohne Durchführung der Faeces durch Bouillon mit Säure. — 3) Es sind Kolonien anderer Bakterien vorhanden. — 4) In den Plattenkulturen entwickelte sich eine Menge Kolonien acidophiler Bakterien, andere Kolonien waren nicht vorhanden. — 5) Dieselben Proben von Faeces, wie in der Beobachtung No. 11, aber nach Durchführung durch Bouillon mit Essigsäure. — 6) In den Protokollen ist über die Anwesenheit von Kolonien anderer Bakterien nichts erwähnt. — 7) In allen vorhergehenden Fällen wurden die Plattenkulturen auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker angestellt; bei dieser Beobachtung war die Plattenkultur auf Agar ohne Zucker und ohne Durchführung der Faeces durch saure Bouillon veranstaltet. — 8) In der zweiten Verdünnung fanden sich 2 Kolonien von nach Gram färbaren Kokken.

Tabelle 10. Resultate der Fütterungsversuche von

No. der Beobachtungen	An welchem Tage des Versuches die Probe entnommen wurde	Bei Untersuchung der Strichpräparate aus den Proben waren nach Gram gefärbte oder ungefärbte Stäbchen vorhanden: viel ++; wenig +; keine 0.															
		Hündchen No. 1		Hündchen No. 2		Hündchen No. 3		Hündchen No. 4		Hündchen No. 5		Hündchen No. 6		Hündchen No. 7			
		Anaerobe 5-tägige Milchkultur des B. acidophilus No. 2 bei 37,5° C				Sterile Kuhmilch				9 Tage nach Beginn des Versuches mit den anderen Hündchen bekamen diese beiden 7 bis 9-tägige Milchkulturen des B. acidophilus No. 2 bei 37,5° C, in denen die Milch geronnen war				Zuerst mit Muttermilch, vom 30. Tage ab nach Beginn d. Versuches übergeführt auf gemischtes Futter ohne Milch			
		gefärbte	ungefärbte	gefärbte	ungefärbte	gefärbte	ungefärbte	gefärbte	ungefärbte	gefärbte	ungefärbte	gefärbte	ungefärbte	gefärbte	ungefärbte	gefärbte	ungefärbte
1	vor Beginn d. Versuches	++	+	++	++	++	++	+									
2	3	++	+	++	+	++	++	++	++								
3	9 (1) <sup>1)</sup>	++	+	++	+	++	+	++	+	++	++ <sup>1)</sup>	++	++ <sup>1)</sup>	++	+		
4	(4)									++	+	++	+				
5	20 (11)	++	+	++	+	++	0	++	0	++	0	++	0	++	++	++	
6 <sup>2)</sup>	30 (21)	++	+	++	+	++	0	++	0	++	+	++	+	++	++	++	
7 <sup>2)</sup>	40 (31)	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	+	++	++	
8 <sup>2)</sup>	46 (37)	++	0			++	++			++	0			++	++	++	
9 <sup>2)</sup>	52 (43)			++	0			++	+			++	0	+	++	++	
10 <sup>6)</sup>	58 (49)	++	0	++	0	++	++	++	+	++	0	++	0	+	++	++	
11 <sup>6)</sup>	64 (55)	++	0			++	+			++	0			+	++	++	
12 <sup>6)</sup>	69 (60)			++	0			++	+			++	0	+	++	++	

1) Die Zahlen in Klammern beziehen sich auf die Hündchen No. 5 und No. 6, Beobachtung No. 3 war die Probe gleich vor Beginn der Fütterung mit Versuchsmilchzucker, ohne vorherige Durchführung der Faeces durch saure Bouillon. 3) Kolonien vorhanden. 5) Seit gestern bekommen sie keine Muttermilch, sondern werden nur mit kulturen wurden angestellt auf Agar ohne Zucker und

Offenbar muß man ein solches Verhältnis zwischen der Menge der beiden Arten von Stäbchen für diese Tiere als normal betrachten, da dasselbe auch bei erwachsenen Hunden beobachtet wurde, deren Futter aus Hafergrütze und Fleisch bestand.

Die Zusammenstellung der Resultate, welche die Untersuchung der Plattenkulturen aus den Faeces dieses Hündchens ergeben haben, zeigt, daß, solange es sich von Muttermilch nährte, sich dieselben durch nichts Wesentliches von denjenigen anderer Hündchen unterscheiden. Ja es hat noch mehr erwiesen, nämlich, daß sich in der Plattenkultur, welche am letzten Tage der Fütterung dieses jungen Hundes mit Muttermilch unmitttelbar auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker gemacht wurde, ohne Durchführung der Faeces durch Bouillon mit Essigsäure, eine Reinkultur acidophiler Bakterien (Beobachtung No. 6, Tabelle 10) entwickelt hatte. Eine gleiche Plattenkultur, d. h. ohne daß die Faeces durch Bouillon mit Säure durchgeführt waren, welche am 10. und 16. Tage der Fütterung des Tierchens mit Hafergrütze und Fleisch (Beobachtung No. 7 und 8, Tabelle 10) angestellt wurde, wies viele Kolonien auf, aber ausschließlich aus nach Gram nicht färbaren Stäbchen. Am 22. Tage des Fütterns mit Grütze und Fleisch (Beobachtung No. 9, Tabelle 10) zeigten sich in



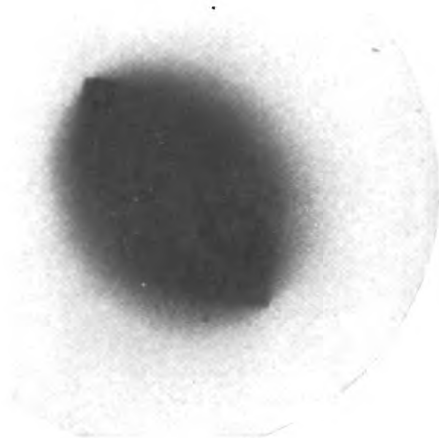


Fig. 1.

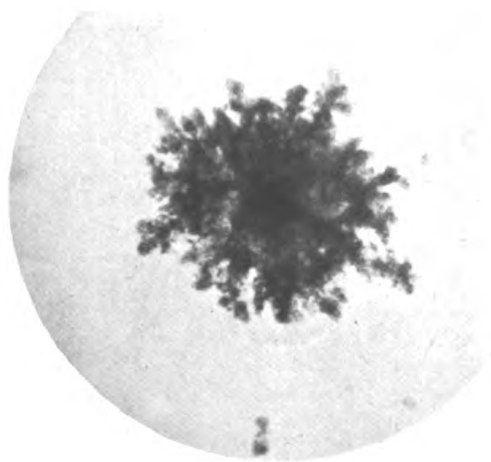


Fig. 2.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.



Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 2 an junge Hunde.

In den Plattenkulturen aus den Proben waren viel ++; wenig +; keine 0 Kolonien des Typus I oder II

Hündchen No. 1		Hündchen No. 2		Hündchen No. 3		Hündchen No. 4		Hündchen No. 5		Hündchen No. 6		Hündchen No. 7	
Anaerobe 5-tägige Milchkultur des <i>B. acidophilus</i> No. 2 bei 37,5° C				Sterile Kuhmilch				9 Tage nach Beginn des Versuches mit den anderen Hündchen bekamen diese beiden 7 bis 9-tägige Milchkulturen des <i>B. acidophilus</i> No. 2 bei 37,5° C, in denen die Milch geronnen war				Zuerst mit Muttermilch, vom 30. Tage ab nach Beginn d. Versuches übergeführt auf gemischtes Futter ohne Milch	
Typus I	Typus II	Typus I	Typus II	Typus I	Typus II	Typus I	Typus II	Typus I	Typus II	Typus I	Typus II	Typus I	Typus II
++	++	+	++	+	++	0	+						
++	++	++	++	++	++	++	++	++ <sup>1)</sup>	++	++ <sup>1)</sup>	++	++	++
++	++	+	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
+	++	++	++	++	+	++	+	++	+	++	++	++	0
+ <sup>2)</sup>	++	++ <sup>3)</sup>	++	++ <sup>4)</sup>	+	+ <sup>4)</sup>	+	+ <sup>2)</sup>	++	++ <sup>3)</sup>	++	++ <sup>3)</sup>	0
+ <sup>2)</sup>	++	+ <sup>3)</sup>	++	+ <sup>3)</sup>	++	+ <sup>4)</sup>	+	+ <sup>3)</sup>	++	+ <sup>3)</sup>	++	0 <sup>4)</sup>	0
+ <sup>2)</sup>	++	0 <sup>3)</sup>	++	+ <sup>4)</sup>	0	+ <sup>4)</sup>	+	+ <sup>3)</sup>	++	0 <sup>3)</sup>	++	0 <sup>4)</sup>	+
+ <sup>2)</sup>	++	0 <sup>3)</sup>	++	++ <sup>4)</sup>	++	++ <sup>4)</sup>	++	+ <sup>3)</sup>	++	+ <sup>3)</sup>	++	0 <sup>4)</sup>	+
+	++	+ <sup>3)</sup>	++	++ <sup>4)</sup>	++	+ <sup>4)</sup>	+	+ <sup>3)</sup>	++	0 <sup>3)</sup>	++	0 <sup>4)</sup>	+

mit welchen die Fütterungsversuche 9 Tage später begannen, als mit den anderen. Bei entnommen. 2) Die Plattenkulturen wurden angestellt auf Agar mit 2-proz. Trauben- anderer Bakterien waren nicht vorhanden. 4) Es sind auch Kolonien anderer Bakterien Versuchsmilch genährt; Hündchen No. 7 mit Hafergrütze und Fleisch. 6) Die Platten- ohne Durchführung der Faeces durch saure Bouillon.

den ebenso auf Agar mit 2 Proz. Zucker ohne Durchführung durch saure Bouillon hergestellte Plattenkulturen unter vielen anderen Kolonien wieder- um, wenn auch in sehr geringer Anzahl, Kolonien des Typus I und II, welche in den Abimpfungen alle die charakteristischen Merkmale des *B. acidophilus* No. 1 und des *B. acidophilus* No. 2 aufwiesen.

Bei den nachfolgenden Beobachtungen (No. 10, 11 und 12, Tabelle 10) wurden die Plattenkulturen nicht nur ohne Durchführung der Faeces durch Bouillon mit Säure und nicht auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker, auf welchen, wie wir wissen, das Wachstum der acidophilen Bakterien am günstigsten vor sich geht, sondern auf gewöhnlichem Agar (ohne Zucker), vorgenommen, und dessenungeachtet entwickelten sich unter den Kolo- nien der nach Gram nicht färbbaren Stäbchen auch Kolonien des II. Typus, d. h. des *B. acidophilus* No. 2. (Schluß folgt.)

Generated on 2019-09-14 16:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/chi.72903154 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access\_use#pd-us-google

*Nachdruck verboten.*

## Isoagglutination beim Menschen, nebst einer Bemerkung zur Marx-Ehrenroothschen Blutdifferenzierungsmethode.

[Aus dem hygienischen Institut und der Frauenklinik zu Greifswald.]

Von Dr. Ed. Martin.

Von Landois und Bordet ist zuerst darauf hingewiesen worden, daß die roten Blutkörperchen einer Species durch das Serum einer anderen Art agglutiniert, unter Verlust der Form fest zusammengeballt würden. Bald erweiterte man die Versuche und ließ Serum und Erythrocyten derselben Species aufeinander einwirken, und fand besonders beim Menschen eine Isoagglutination, d. h. ein Agglutinationsvermögen des Serums auf Erythrocyten in derselben Art. In Verfolgung dieser Tatsache hat Halban (5) zuerst beobachtet, daß mütterliches und kindliches Blut sich sehr oft verhalten, wie das Blut zweier verschiedener Individuen. Es ist eine Agglutination der kindlichen Blutkörperchen durch mütterliches Serum beobachtet worden. Eine Aktivität des kindlichen Serums den mütterlichen Erythrocyten gegenüber ist von Halban (5), Landsteiner (7) und Langer (11) weniger häufig gesehen worden. Schenk (10) kam an der Hand seiner Beobachtungen zu dem Resultate, daß das kindliche Serum den mütterlichen Blutkörperchen gegenüber stets inaktiv sei und daß mütterliches Serum die kindlichen Blutkörperchen nur ausnahmsweise agglutiniere.

Auf Anregung von Herrn Prof. Uhlenhuth habe ich die Erscheinungen der Agglutination und Isoagglutination an größerem Materiale nachgeprüft. Ich habe in der hiesigen Frauenklinik Schwangeren, Gebärenden, Wöchnerinnen und Säuglingen Blut entnommen und auf seine Agglutinine untersucht. Gleichzeitig bin ich auf eine Frage eingegangen, die von Landsteiner und Richter (14) aufgeworfen wurde. Beide Autoren wollten nämlich die Isoagglutinationsfähigkeit eines Individuums dazu benutzen, forensisch Blut zu identifizieren, da die Tatsache zu bestehen schien, daß obige Erscheinung dem Blute einzelner Personen eigentümlich sei. Landsteiner und Richter machten für ihre Methode selbst den Einwand, daß sie sehr unsicher sei, falls sich herausstellen würde, daß die Agglutinationsfähigkeit des menschlichen Serums eine schwankende Eigenschaft sei. Um also gleichzeitig dieser Frage näherzutreten, habe ich den Personen Blut bei der Geburt entnommen und später bei der Entlassung aus der Klinik. Wenn möglich, habe ich das mütterliche Blut auch vor dem Partus untersucht. Ich habe Serum und Blut körperchen von Mutter und Kind aufeinander einwirken lassen und das Serum beider dann noch stets auf meine eigenen Erythrocyten. Hierbei ist folgende Technik beobachtet worden:

Die Beobachtungen fanden lediglich im hängenden Tropfen statt und wurden nicht über eine halbe Stunde ausgedehnt. Wie Langer (11), habe auch ich die Beobachtung gemacht, daß die Reaktion, falls sie überhaupt eintritt, stets schon nach wenigen Minuten hervortritt. Bei längerer Beobachtung können durch Austrocknungserscheinungen am Rande leicht fehlerhafte Schlüsse gemacht werden. Nach dem Vorgange von v. Descatello und Sturli (6) ist die Agglutination streng von der Geldrollenbildung getrennt und nur erstere als positive Reaktion angesehen worden.

Das Blut ist möglichst steril entnommen und in sterilen Röhren

aufbewahrt worden, bis Serum sich abgesetzt hatte. Die Erythrocyten sind nicht ausgewaschen in Aufschwemmungen benutzt, sondern mit dem Serum dem fremden Serum zugefügt worden, indem die Röhrchen etwas geschüttelt wurden, so daß die lose abgesetzten Blutkörperchen sich wieder in der ganzen Flüssigkeit verteilt hatten. Das Blut, das vor und nach dem Partus abgenommen wurde, entstammt dem Ohrläppchen, und ist so entnommen worden, daß es in die Röhrchen hineintropfte, um beim Abstreichen eine Quetschung der roten Blutkörperchen zu vermeiden. Das Blut, das beim Partus gewonnen wurde, stammte aus der Nabelschnur und dem retroplacentaren Blutergusse.

Meine eigenen Blutkörperchen habe ich für jeden Versuch frisch der Fingerbeere entnommen, in Kochsalz aufgefangen und dann nach zweimaligem Auswaschen mit Kochsalz in möglichst gleichmäßiger Aufschwemmung zur Untersuchung gebracht. Es sollten die Erythrocyten so zwischen der Reaktionsfähigkeit der verschiedenen Seren einen Vergleich gestatten. Es muß dann noch bemerkt werden, daß meine Erythrocyten einen scheinbar hohen Grad von Beeinflussungsfähigkeit besitzen. Um den Gang einer Untersuchung noch einmal klarzulegen, so wurde folgendermaßen verfahren. Das steril entnommene Blut blieb sich selbst überlassen, bis es aus äußeren Gründen früher oder später untersucht wurde. Nachdem sich Serum und Blutkörperchen geschieden hatten, ist mit der sterilen Platinöse zu den einzelnen Präparaten je ein Tropfen Serum entnommen und dann das Röhrchen geschüttelt worden, um die aufgerührten Blutkörperchen zur Verwendung zu bringen. Die Erythrocyten wurden dem fremden Serum in der Menge beigegeben, die eine Platinöse faßt. Meine Blutkörperchen wurden ebenfalls in der Menge, die eine Platinöse aufnimmt, dem betreffenden Serum hinzugefügt.

Auf diese Art entstanden folgende Beobachtungspräparate: Vor dem Partus 1: Mütterliches Serum und meine Blutkörperchen. Beim Partus 4: a) Mütterliches Serum — meine Blutkörperchen; b) kindliches Serum — meine Blutkörperchen; c) mütterliches Serum — kindliche Blutkörperchen; d) kindliches Serum — mütterliche Blutkörperchen. In derselben Reihenfolge sind dann auch nach dem Partus bei der Entlassung aus der Klinik die Blutproben gemacht worden.

Auf die Anamnese habe ich im Gegensatz zu Schenk (10) kein Gewicht gelegt. Trotzdem sind die angeblich überstandenen Krankheiten angeführt worden, um auch in diesen Fällen die Angaben Landsteiners (l. c.), v. Descatellos (l. c.) und besonders Landsteiners und Leiners (20) und Sturli (l. c.) zu bestätigen, daß die Agglutinationsflüssigkeit des Blutes bei Gesunden sich genau so verhält, wie bei Kranken.

Die 29 in Tabelle I und II angeführten Versuche sind an solchen Individuen gemacht worden, bei denen Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett auf der einen Seite und die ersten Lebensstage auf der anderen Seite im strengsten Rahmen des physiologischen Verhaltens abgelaufen sind. Zur Erläuterung der Tabellen ist noch zu bemerken, daß a das Untersuchungsergebnis des vor dem Partus entnommenen Blutes angibt, b des beim Partus und c des nach dem Partus gewonnenen.

- Reaktion 1 ist mütterliches Serum + meine Blutkörperchen,  
 „ 2 ist kindliches Serum + meine Blutkörperchen,  
 „ 3 ist mütterliches Serum + kindliche Blutkörperchen,  
 „ 4 ist kindliches Serum + mütterliche Blutkörperchen.

Tabelle I enthält die Versuchsreihen, in denen die entsprechenden Reaktionen in den einzelnen Gruppen sich nicht geändert haben. Meine

Tabelle I.

Nummer	Name	Alter	? p.	Art der Untersuchung.	? Tage später	Reaktionen				Kind	Gewicht des Kindes			Reaktion ? Stunden nach Blutgewinnung	Anamnese
						1	2	3	4		bei Geburt	bei Entlassung	Länge		
1	Anna U.	21	I.	b c	11	+	-	+	+	♀	3300	3000	51	26 15	stets gesund gewesen
2	Laura G.	28	I.	a b c	28 14	+	-	+	-	♀	3470	2860	52	16 8 5	? (taubstumm)
3	Anna L.	44	II.	b c	10	+	-	+	+	♀	3610	3500	53	36 20	stets gesund gewesen
4	Susanne K.	33	III.	a <sub>1</sub> a <sub>2</sub> b c	20 Std. 14 „ 11 Tg.	-	-	-	-	♂	3970	4050	55	4 3 30 8	Gelbsucht
5	Franziska W.	25	II.	b c	9	-	-	+	-	♀	2770	2600	50	16 5	stets gesund gewesen
6	Gertrud A.	38	III.	a b c	2 9	+	-	+	-	♂	3350	3200	53	4 12 4	?
7	Anna D.	34	VII.	a b c	2 Std. 10 Tg.	-	-	+	-	♀	2600	2400	53	16 14 4	Pocken, Ma- sern, Lues(?)
8	Friederike W.	20	II.	a b c	24 8	+	-	-	-	♀	4200	4050	52	6 5 2	Masern
9	Berta H.	22	I.	a b c	21 8	+	-	+	-	♂	2300	1900	50	3 5 2	stets gesund gewesen
10	Friederike D.	26	I.	a b c	3 15	-	-	-	-	♂	2700	2500	54	8 12 5	do.
11	Marie B.	22	I.	b c	12	+	-	-	-	♀	2170	2270	47	14 12	do.
12	Christine P.	38	I.	b c	18	+	-	-	-	♀	2450	2430	46	5 4	do.
13	Anna F.	17	I.	b c	16	+	-	-	-	♀	2610	3300	53	14 3	Masern

Erythrocyten sind in der Mehrzahl der Reaktionen agglutiniert worden vom mütterlichen Serum, vom kindlichen dagegen in keinem Falle. Das mütterliche Serum war den kindlichen Blutkörperchen gegenüber öfters aktiv als das kindliche Serum den mütterlichen Blutkörperchen gegenüber. Aus den übrigen angegebenen Daten: Alter der Mutter; Gewicht, Länge, Geschlecht des Kindes etc. läßt sich wohl kaum ein Schluß ziehen ebenso wenig ein Grund finden für den verschiedenartigen Ausfall der Reaktionen.

Tabelle II enthält im Gegensatz zu Tabelle I in 6 Reaktionen ein aktives Verhalten des kindlichen Serums meinen Erythrocyten gegenüber. Vor allem aber zeigt Tabelle II die von Landsteiner und Richter (14) vermutete, aber bisher noch nicht einwandfrei festgelegte Tatsache, daß das Agglutinationsvermögen im Individuum selbst Schwankungen unterworfen ist, deren Ursache allerdings noch weiterer Begründung bedarf. Ueberstandene Krankheiten können den Grund für Aktivitätsschwankungen

Tabelle II.

Nummer	Name	Alter	? p.	Art der Untersuchg. ? Tage später	Re- aktionen				Kind	Gewicht des Kindes		Länge	Reaktion ? Stunden nach Blutge- winnung	Anamnese
					1	2	3	4		bei Geburt	bei Ent- lassung			
1	Berta B.	26	I.	b	+	-	+	-	♀	3110	2770	52	9	stets gesund ge- wesen
				c	13	+	-	-					5	
2	Anna B.	17	I.	a	-	-	-	-	♀	3300	3300	53	6	do.
				b	2	-	-	-					10	
				c	12	-	+	-					3	
3	Berta L.	21	I.	b	+	-	+	-	♀	3920	3990	55	20	Masern
				c		+	-	-					21	
4	Marie H.	21	I.	a	+	-	-	-	♂	3500	3300	52	5	Scharlach, Ma- sern
				b	24	+	-	-					20	
				c	8	+	+	+					5	
5	Elfriede B.	18	I.	b	+	+	-	-	♀	2800	2650	51	4	Masern, Appen- dicitis, Diphther.
				c	11	+	+	+					5	
6	Karoline G.	30	VIII.	b	+	-	+	+	♀	2650	2430	50	12	stets gesund ge- wesen
				c	11	+	-	-					8	
7	Anna B.	26	IV.	a	-	-	-	-	♀	3550	3090	54	7	do.
				b	27	-	-	-					10	
				c	15	-	-	+					6	
8	Berta M.	37	VI.	b	+	+	+	+	♀	3780	3650	52	7	Erysipel
				c	14	+	-	+					8	
9	Frieda H.	24	II.	a	+	+	-	-	♂	3950	4050	55	12	Diphtherie
				b	20	+	+	-					5	
				c	9	+	-	-					5	
10	Marie F.	27	II.	b	-	-	+	+	♂	3150	3000	54	8	Pneumonie
				c	13	+	-	+					9	
11	Berta L.	19	I.	b	+	-	+	-	♀	2950	2950	52	26	Masern
				c	14	+	-	+					20	
12	Hedwig L.	29	III.	b	+	-	+	-	♂	2770	2400	50	4	Masern, Typhus, Mening., Otitis med., Psoriasis
				c	9	+	-	+					5	
13	Marie B.	23	III.	a	-	-	+	+	♂	3840	3850	55	5	Masern
				b	6	-	-	+					2	
				c	9	-	-	+					4	
14	Marie N.	25	II.	a	-	-	-	-	♀	2800	3020	51	4	stets gesund ge- wesen
				b	10	+	-	-					4	
				c	14	+	-	-					5	
15	Hedwig D.	23	I.	a	+	-	-	+	♀	2850	2900	54	7	Pneumonie
				b	20	-	+	-					26	
				c	8	+	-	-					9	
16	Marie B.	34	VI.	a	+	-	-	-	♂	3600	3470	54	6	Scharlach, Ma- sern
				b	1/2	-	-	+					9	
				c	10	+	-	-					4	

nicht abgeben, da gleiche Reaktionsgruppen sich finden bei Individuen, die stets gesund gewesen sein wollen, und bei solchen, die die verschiedensten Krankheiten überstanden haben.

Daß aber auch eine bestehende Infektionskrankheit, wie sie das Puerperalfieber darstellt, keinen Einfluß auf das Serum hat, zeigt Tabelle III. Hier sind 5 Fälle von teilweise sehr schwerer Erkrankung

Tabelle III.

Nummer	Name	Alter	? p.	Art der Untersuchg. ? Tage später	Re- aktionen				Kind	Gewicht des Kindes		Länge	Reaktion ? Std. nach Blutgewinng.	Anamnese und Krankheitsverlauf	
					1	2	3	4		bei Geburt	bei Ent- lassung				
1	Julianne S.	35	IV.	b	+	—	+	—	♂	3870	5050	57	20	Stets gesund gewesen. Fieber vom 7.—18. Tg. und am 31. und 32. Tg. p.p. Im Uterussekret Streptokokken etc.	
				c	42	+	—	+	—				8		
2	Anna H.	30	IV.	b	—	—	+	—	♀	3120	3100	53	12	Stets gesund gewesen. Fieber vom 7.—14. Tg. Dann setzte eine Pneumonie ein, derentwegen die Ueberführung erfolgte. Im Uterussekret Streptokokken etc.	
				c <sub>1</sub>	10	—	—	—	—				2		
				c <sub>2</sub>	30	+	—	+	—				2		
3	Friederike M.	38	XIII.	c	4	+	—	—				6	Stets gesund gewesen. Fieber vom 5.—10. Tg. Im Uterussekret Streptokokken etc.		
				b	6	+	—	+	+	♀	3280	3250		55	7
				c <sub>1</sub>	3	+	—	—	—					16	
4	Alma M.	31	II.	c	6	—	—	—				2	Diphtherie. Fieber vom 4. Tg. an bis zum Exitus letalis. Im Uterussekret Streptok. etc.		
				b	5	+	—	—	—	♂	3700	3600		57	4
				c <sub>1</sub>	3	—	(2 Stunden ante finem)		—					16	
5	Lina B.	32	II.	c <sub>2</sub>	3	—	(2 Stunden ante finem)					2	Vom 1.—7. Tg. Fieber. Typhus, Influenza. Im Uterussekret Streptokokken, etc.		
				a	11	+	—	—	—	♂	4470	2230		54	5
				b	20	+	—	+	—					3	

angeführt. Sie zeigen in ihren Reaktionsergebnissen keinen Unterschied gegenüber den anderen Tabellen.

Das Serum dreier Eklampsischer konnte untersucht werden. In allen 3 Fällen trat eine ziemlich starke Agglutination meiner Erythrocyten ein. Sollte sich eine Isoagglutination für alle Eklampsieseren herausstellen, so wäre das in der Tat ein bemerkenswertes Ergebnis.

Es könnte nun leicht der Einwand gemacht werden, daß die Veränderungen, welche Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett für den Organismus mit sich bringen, einen Einfluß haben auf die Agglutinationsfähigkeit des Blutes. Um diesen Einwand zu widerlegen, habe ich einen Versuch gemacht an dem Serum eines gesunden Mannes und den Blutkörperchen 3 gesunder anderer männlicher Personen. Gewinnung von Serum und Blutkörperchen entsprachen auch hier genau den oben gemachten Angaben ebenso wie die Untersuchungstechnik. Serum und Erythrocyten sind für jeden Versuch frisch gewonnen worden. Der Versuch war folgender:

10. Mai 1905.

1)	Blutserum	E +	Blutkörperchen	A	Reaktion	—
2)	"	" +	"	B	"	+
3)	"	" +	"	C	"	+

17. Mai 1905.

1)	Blutserum	E +	Blutkörperchen	A	Reaktion	—
2)	"	" +	"	B	"	+
3)	"	" +	"	C	"	—

26. Mai 1905.

1)	Blutserum	E +	Blutkörperchen	A	Reaktion	—
2)	"	" +	"	B	"	+
3)	"	" +	"	C	"	—



6. Juni 1905.

1)	Blutserum E + Blutkörperchen A	Reaktion	—
2)	„ „ + „ B	„	+
3)	„ „ + „ C	„	—

Die aus äußeren Gründen leider nicht weiter fortzuführende Beobachtung ergibt, daß eine Reaktionsschwankung eingetreten war. Am 10. Mai ergab Blutserum E + Blutkörperchen C eine positive Reaktion, während Serum und Erythrocyten von derselben Person am 17. Mai, 26. Mai und 6. Juni negativ reagierte.

Diese Tatsache und die Ueberlegung, daß Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett in normalem Verlauf rein physiologische Vorgänge sind, lassen mich den Schluß ziehen, daß die Isoagglutination eine Erscheinung ist, die Schwankungen unterworfen und durchaus nicht als eine individuelle Eigenschaft anzusehen ist<sup>1)</sup>.

Das von Landsteiner und Richter angegebene Verfahren (l. c.), eine individuelle Unterscheidung von angetrocknetem Blut in der forensischen Praxis herbeizuführen, kann daher auch nach meinen Resultaten leicht zu Trugschlüssen führen.

Außer Landsteiner und Richter haben auch Marx und Ehrenrooth (12) die Agglutination des menschlichen Blutes in die forensische Blutuntersuchung einführen wollen als Hilfsreaktion für die Uhlenhuthsche Methode. Marx und Ehrenrooth haben die Beobachtung gemacht, daß die Isoagglutinine des menschlichen Blutes im angetrockneten Blute sehr bald zu Grunde gehen im Gegensatz zu den Agglutinationen im angetrockneten Tierblute menschlichen Erythrocyten gegenüber. Bei ihren Versuchen hat sich ergeben, daß konzentrierte Auflösungen von Menschenblut, das 10 Monate vorher angetrocknet war, menschliche Erythrocyten nicht mehr agglutiniert, daß hingegen getrocknetes Blut vom Pferd, Hund, Kalb, Kaninchen, Schwein, Rind und Hammel noch nach 2 Wochen bis 3 Jahren menschlichen Erythrocyten gegenüber aktiv reagiert hat. Da nicht nachgewiesen ist, ob dieses menschliche Serum in frischem Zustande die isoagglutinierende Fähigkeit besessen hat, so kann man ohne weiteres einwenden, daß vielleicht im positiven Falle die Reaktion auch noch nach 10 Monaten positiv ausgefallen wäre. In ihrer 2. Mitteilung kommen M. und E. dann unter anderem zu folgenden Schlüssen, wobei unter „homolog“ stets Menschenblutserum verstanden ist: „Die Agglutination durch ein homologes Serum tritt niemals so stürmisch ein, wie die durch ein gleichartiges heterologes Serum bewirkte. Bei der Isoagglutination lagern sich die Erythrocyten nebeneinander oder in Geldrollenverbänden . . . Homologes eingetrocknetes Blut verliert seine Isoagglutinine relativ schnell, so daß nach wenigen (2—4) Wochen, nur noch Spuren isoagglutinierender Wirkung zu erkennen sind. Eingetrocknetes Säugetierblut zeigt die lebhafteste Agglutinationswirkung und Hämocytolyse noch nach Jahren für alle menschlichen Blutkörperchen.“

Die Agglutination von meinen Erythrocyten durch homologes Serum habe ich in einer ganzen Reihe von Fällen stürmisch, ja vielfach noch stürmischer eintreten sehen, als z. B. durch normales Kaninchenserum, hierbei trat eine völlige Auflösung der Erythrocyten ein. Die Aneinander-

1) Nach Einreichung meiner Mitteilung an die Redaktion ist in der Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 34. p. 1623 von Schenk eine weitere Arbeit über diese Frage erschienen. Schenk glaubt, eine Veränderung der Agglutinationsfähigkeit im Blute von Wöchnerinnen auf den physiologischen Zerfall und die Resorption von Körpergewebe deuten zu müssen. Mir scheint ein derartiger Schluß fraglich zu sein, da, wie obiger Versuch zeigt, derartige Schwankungen auch bei gesunden Männern vorkommen.

lagerung und Geldrollenbildung habe ich, wie schon Langer (l. c.), in meinen Tabellen nicht mit unter die Agglutination gerechnet.

Auf der 76. Versammlung der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Aerzte hat Prof. Uhlenhuth über die Marx-Ehrenroothsche Methode folgendes ausgeführt (19):

„Die Agglutinine sind eben variable Faktoren, die bald stärker, bald schwächer wirken, ja auch besonders im angetrockneten Blute im Laufe der Zeit zu Grunde gehen können.“

Das Verhalten der Agglutinine im angetrockneten Blute habe ich verfolgt an den von Prof. Uhlenhuth aufbewahrten Blutproben, die in Schalen getrocknet und dann in Röhrchen aufbewahrt sind.

Ich bin dabei nach den Angaben M.-E. verfahren und habe konzentrierte (braun bis schwarzbraunrote) Lösungen der einzelnen Blutarten hergestellt. Meine Blutkörperchen sind, wie bei den früheren Versuchen, jedesmal frisch der Fingerbeere entnommen worden. Die im folgenden angegebenen Daten bezeichnen den Zeitpunkt, an dem die einzelnen Blutarten angetrocknet sind.

**Menschenblut:**

Reaktion +: 26. Sept. 1902, 10. März 1905, 17. April 1905.  
 „ —: 23. April 1901, 28. Mai 1901, 5. Juli 1901, 26. Sept. 1901, 29. Okt. 1901, 13. Okt. 1901, 25. Nov. 1901, 6. Jan. 1902, 25. Juli 1902, 27. Febr. 1902, 22. Dez. 1902, 8. Jan. 1903, 6. Febr. 1903, 1904, Mai 1904.

**Pferdeblut:**

Reaktion +: 23. April 1901, 25. Nov. 1901, 22. Dez. 1902, 10. März 1903, 1904, 1. März 1905, 30. März 1905.  
 „ —: 24. April 1899, 3. Okt. 1901.

**Rinderblut:**

Reaktion +: 25. Juni 1901, 22. Juli 1902, 22. Dez. 1902.  
 „ —: 22. April 1901, 1905.

**Taubenblut:**

Reaktion +: 26. Aug. 1901.  
 „ —: 19. Nov. 1901, 13. Mai 1902, 2. Aug. 1903.

**Entenblut:**

Reaktion +: keine.  
 „ —: 1. Dez. 1901, 29. Sept. 1902, 13. Nov. 1902, August 1904.

**Hundeblut:**

Reaktion +: 4. April 1903.  
 „ —: 23. April 1901, 8. Juni 1901, 27. Nov. 1903.

**Schweineblut:**

Reaktion +: 22. Dez. 1903.  
 „ —: 30. April 1901, 22. Juli 1901, 1. Dez. 1901, 22. Dez. 1902, 5. Okt. 1903.

**Hammelblut:**

Reaktion +: 13. April 1901, 10. Aug. 1904.  
 „ —: 15. Sept. 1901, 13. Sept. 1902, 19. Sept. 1902, 29. März 1905.

**Wildschweinblut:**

Reaktion +: keine.  
 „ —: 4. Mai 1899, 5. Mai 1901.

**Katzenblut:**

Reaktion +: 6. Nov. 1902, 17. Aug. 1904.  
 „ —: 1. Juli 1901, 10. Nov. 1902.

**Krähnenblut:**

Reaktion +: keine.  
 „ —: 1. Juli 1901, 10. Nov. 1902.

**Junge Schleiereulen:**

Reaktion +: 8. Aug. 1903.

**Hühnerblut:**

Reaktion +: 3. Nov. 1902.  
 „ —: 4. Febr. 1903.

<b>Hasenblut:</b>	Reaktion +: keine.
„	—: 1. Mai 1901, 20. Sept. 1902, 22. Dez. 1902.
<b>Hirschblut:</b>	Reaktion +: 26. Sept. 1901, 1. Okt. 1902, 14. Okt. 1902.
„	—: keine.
<b>Damwildblut:</b>	Reaktion +: Juni 1904.
„	—: keine.
<b>Rehblut:</b>	Reaktion +: keine.
„	—: 24. Mai 1901.
<b>Affenblut:</b>	Reaktion +: 1903.
„	—: keine.
<b>Kreuzotterblut:</b>	Reaktion +: keine.
„	—: Mai 1903.
<b>Brauner Bär:</b>	Reaktion +: keine.
„	—: 1904.
<b>Mausblut:</b>	Reaktion +: keine.
„	—: 19. April 1901.
<b>Igelblut:</b>	Reaktion +: 8. Okt. 1901, 10. Aug. 1903.
„	—: keine.
<b>Maulwurfblut:</b>	Reaktion +: keine.
„	—: 10. Sept. 1902.
<b>Eselblut:</b>	Reaktion +: 26. März 1901.
„	—: 7. Jan. 1903.
<b>Ziegenblut:</b>	Reaktion +: 10. Juni 1901, 28. Aug. 1901.
„	—: 11. Mai 1901.
<b>Kaninchenblut:</b>	Reaktion +: 7. April 1905.
<b>Meerschweinchenblut:</b>	Reaktion +: 30. Aug. 1901.
„	—: keine.
<b>Iltisblut:</b>	Reaktion +: keine.
„	—: 18. Dez. 1902.
<b>Elefantenblut:</b>	Reaktion +: 14. Juni 1903.
„	—: keine.

Setzt man den Fall, daß es darauf ankäme, von den angegebenen Blutsorten nach der Marx-Ehrenroothschen Hilfsprobe zu entscheiden zwischen Menschen- und Tierblut, und läge eine Probe von den 3 zuerst angeführten Blutproben und einem negativ reagierenden Tierblut vor, so käme man zu einem Trugschluß, ebenso wie wenn man negativ reagierendes Tierblutserum mit dem negativ reagierenden Menschenblutserum vergleichen würde.

Die Unzulänglichkeit der M.-E. Hilfsreaktion ergibt sich aber noch weiter aus der Tatsache, daß nach obigen Versuchen die Agglutinationsfähigkeit des Tierblutes den menschlichen Erythrocyten gegenüber in der einzelnen Species selbst eine durchaus verschiedene ist: Taubenblutserum

z. B. von 1901 agglutiniert, während eine Probe von 1903 nicht mehr reagiert.

Wie ungleichmäßig die Agglutinine im angetrockneten Blute sich erhalten, möge noch folgender Versuch zeigen:

Am 6. Juni 1905 wurde auf Deckgläschen angetrocknet das Blutserum einer Frau und eines Kaninchens. Beide agglutinierten meine Erythrocyten gleich stark. Am 19. Juni war die Aktivität des Kaninchenserums erloschen, während sie bei dem anderen noch ebenso stark vorhanden war. Am 5. Juli war dann auch mit dem menschlichen Serum eine positive Reaktion nicht mehr zu erzielen.

Mag man auch mit der Marx-Ehrenroothschen Hilfsreaktion unter Umständen zu einem rechten Resultate kommen, so ist sie jedenfalls nicht so zuverlässig, wie die forensische Praxis es verlangt. Da meistens auch wohl nur wenig Material für eine Blutdifferenzierung vorhanden ist, so wird man wohl am besten sich auf die Uhlenhuthsche Methode allein beschränken, zumal sie sicher genug ist, um einer Hilfsreaktion entbehren zu können.

#### Literatur.

- 1) Klein, Wiener klin. Wochenschr. 1902. No. 16.
- 2) Eisenberg, Wiener klin. Wochenschr. 1901. No. 42.
- 3) Landsteiner, Wiener klin. Wochenschr. 1901. No. 46.
- 4) Donath, Wiener klin. Wochenschr. 1900. No. 20.
- 5) Halban, Wiener klin. Wochenschr. 1900. No. 24.
- 6) v. Descatello und Sturli, Münch. mediz. Wochenschr. 1902. No. 26.
- 7) Halban und Landsteiner, Münch. mediz. Wochenschr. 1902. No. 12.
- 8) Ascoli, Münch. mediz. Wochenschr. 1901. No. 31.
- 9) Dienst, Centralbl. f. Gynäkol. 1905. No. 12.
- 10) Schenk, Monatsschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. XIX.
- 11) Langer, Zeitschrift f. Heilkunde. Bd. XXIV.
- 12) Mare und Ehrenrooth, Münch. mediz. Wochenschr. 1904. No. 7 und 16.
- 13) Polano, Habilitationsschr.
- 14) Landsteiner und Richter, Zeitschrift f. Medizinalbeamte. Bd. III. 1902.
- 15) Camus et Pagniez, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1901.
- 16) Pfeiffer, Zeitschrift f. Medizinalbeamte. 1905. No. 14.
- 17) Ollendorf, Deutsche mediz. Wochenschr. 1904. No. 30.
- 18) Lo Monachi und Pinachi, Münch. mediz. Wochenschr. 1902. No. 25.
- 19) Uhlenhuth, Wiener mediz. Wochenschr. 1904. No. 43—44.
- 20) Landsteiner und Leiner, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. Heft 5.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Unterschiede zwischen normalen und durch Immunisierung entstandenen Stoffen des Blutserums.

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

Von Dr. **Karl Landsteiner** und Dr. **Mathias Reich**.

Nach einer fast allgemein angenommenen Anschauung von Ehrlich stehen die nach Immunisierungen im Serum erscheinenden Substanzen in naher Beziehung zu den schon im normalen Blutserum vorhandenen Stoffen. Da sich tatsächlich in normalem Serum Stoffe mit ähnlicher antitoxischer, lytischer, agglutinierender, antifermentativer Wirkung vorfinden, wie im Immunserum, so hat begreiflicherweise die Annahme von

Ehrlich von vornherein viel Wahrscheinlichkeit für sich. Ueber die Art der vorausgesetzten Beziehung machte Ehrlich ursprünglich im Prinzip die einfachste mögliche Annahme, indem er die normalen und die Immunstoffe für identisch ansah; später hat er im Vereine mit Morgenroth<sup>1)</sup> sich dahin geäußert, daß auch Ungleichheiten der Stoffe vorkommen, und zwar im Sinne einer größeren Mannigfaltigkeit der Substanzen im Immuserum.

Die Untersuchung der Beziehungen zwischen den Stoffen im Normalserum (NS.) und Immuserum (IS.) ist bis jetzt nicht nach vielen Richtungen systematisch durchgeführt, obwohl einer solchen Untersuchung offenbar Wichtigkeit zukommt. Würden sich nämlich generelle Unterschiede zwischen den genannten Stoffen auffinden lassen, so wäre die angeführte und gegenwärtig vielfach benutzte einfachste Annahme im allgemeinen durch eine kompliziertere zu ersetzen.

Einiges über die Literatur des Gegenstandes haben wir in einer früheren Mitteilung<sup>2)</sup> angeführt. Es wurde dort darauf hingewiesen, daß die Arbeiten (Ford), in denen versucht wurde, mit Hilfe von Antikörpern die Identität der Stoffe nachzuweisen, ein sicheres Resultat nicht ergeben konnten; auf diesem Wege hätte sich nur eine Ungleichheit feststellen lassen.

Gruber<sup>3)</sup> teilte mit, daß erhitzte NS. im Gegensatz zu IS. Blutkörperchen nicht der lösenden Wirkung artgleichen Serums zugänglich zu machen pflegen. Morgenroth und Sachs<sup>4)</sup> bestritten die allgemeine Gültigkeit dieses Satzes. Shibayama<sup>5)</sup> fand, daß hämolytisches NS. durch Dialyse leichter unwirksam gemacht werde als hämolytisches IS. Wir haben demgegenüber darauf hingewiesen, daß derartige Beobachtungen nur dann zu verwerten sind, wenn auf die quantitativen Unterschiede genügende Rücksicht genommen wird, und auf diesen Punkt ist in den vorliegenden Experimenten noch nicht hinreichend geachtet worden.

In ähnlicher Weise ergab sich bei einigen Versuchen, die wir früher anstellten (l. c.), daß agglutinierendes NS. schneller durch Erhitzen unwirksam wird als IS. Da aber IS. beträchtlich stärker wirkt, so ist dieses Verhalten auch bei vorausgesetzter Gleichheit der N.- und I.-Substanzen zu erwarten. Wichtig war es, wenn auch die verhältnismäßige Abnahme der Wirksamkeit durch Erhitzen bei NS. größer gefunden wurde. Dies schien sich bei zwei Versuchen allerdings auch herauszustellen, doch war die Zahl der Versuche zu gering, um aus der nicht allzugroßen Differenz einen sicheren Schluß zu ziehen. Es dürfte also nützlich sein, quantitative Bestimmungen der Inaktivierbarkeit von NS. und IS. nochmals aufzunehmen.

Eisenberg und Volk<sup>6)</sup> geben an, bei der Untersuchung der Absorption normaler Bakterienagglutinine öfters andere Kurven erhalten zu haben als bei Immunagglutininen.

Kraus<sup>7)</sup> fand, daß im Serum von normalen Tieren, namentlich Ziegen und Pferden, ein Antitoxin gegen das Gift des *Vibrio Naskin*

1) Ueber Hämolysin. VI. Mitteil. Berl. klin. Wochenschr. 1901.

2) Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 46.

3) Münch. med. Wochenschr. 1901.

4) Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 30.

5) Centralbl. f. Bakt. etc. 1902. No. 30.

6) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902. p. 161.

7) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1903. p. 488.

vorkommt, das sich von dem im Serum immunisierter Ziegen und Kaninchen vorhandenen dadurch unterscheidet, daß es das Toxin erst nach längerer Einwirkung zu neutralisieren vermag, während eine entsprechend große IS.-Dosis das Gift sofort absättigt. Außerdem zeigten sich Unterschiede zwischen den beiden Serumarten in Bezug auf die Neutralisationskurven. Kraus kommt zu dem Schluß, daß sich das I.-Antitoxin vom N.-Antitoxin durch größere Avidität unterscheidet. Die Beobachtung blieb bisher auf den einen Fall beschränkt, und bei einer auf diese Verhältnisse gerichteten Untersuchung von Antihämolytinen konnte Kraus<sup>1)</sup> durch die Beobachtung der Neutralisationsdauer keinen Unterschied zwischen N.- und I.-Antilytinen finden.

Wir beobachteten ein verschiedenes Verhalten von NS. und IS. in Versuchen, durch die wir mit Hilfe der Abspaltung vom Agglutinin aus agglutinierten Blutkörperchen die Beschaffenheit der aufgenommenen Agglutinine näher zu untersuchen gedachten. Es fiel auf, daß die mit IS. agglutinierten Blutkörperchen im Vergleich zu den mit NS. behandelten beim Erwärmen weniger Agglutinin abgaben. Wir stellten nun mit dem Serum von vier immunisierten Kaninchen, und zwar zwei mit Gänseblut und zwei mit Meerschweinchenblut behandelten, und mit dem Serum einer Anzahl von normalen Kaninchen quantitative Versuche in dieser Richtung an, die unsere Beobachtung bestätigen<sup>2)</sup>.

Hierbei wurde zur Feststellung des Agglutinintitres von den zu prüfenden Serumproben und Lösungen und einer Reihe von Verdünnungen derselben ( $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{6}$ ,  $\frac{1}{8}$ ,  $\frac{1}{12}$ ,  $\frac{1}{16}$ ,  $\frac{1}{24}$ ,  $\frac{1}{32}$  u. s. w.) eine Menge von 0,4 ccm mit 0,1 ccm 1-proz.<sup>3)</sup> gewaschener Blutkörperchenaufschwemmung in 1-proz. NaCl-Lösung versetzt. Zur Herstellung der als Verdünnungsmittel und für die Blutkörperchenaufschwemmungen verwendeten 1-proz. Kochsalzlösung in destilliertem Wasser nahmen wir zweckmäßig chemisch reines Kochsalz. Die Ablesung wurde vorgenommen, nachdem alle zu einem Versuch gehörenden Proben mehrere Stunden im Eiskasten aufbewahrt worden waren, und als Grenze wurde die Probe mit mikroskopisch eben sicher erkennbarer Agglutination angesehen. Der Nenner des so bestimmten noch wirksamen Verdünnungsgrades sei als Zahl der in der geprüften Lösung vorhandenen Agglutinin-einheiten angegeben:

#### Versuch I.

Das durch  $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 55° inaktivierte IS. eines mit Meerschweinchenblut mehrmals intraperitoneal injizierten Kaninchens (I) enthält auf  $\frac{1}{30}$  verdünnt 64 A. Das ebenso inaktivierte NS. eines Kaninchens (I) enthält unverdünnt ebenfalls 64 A. Es werden von IS. und von NS. je 4 ccm mit 0,1 ccm einer serumfreien, auf das ursprüngliche Volumen gebrachten Aufschwemmung von Meerschweinchenblutkörperchen in 1-proz. NaCl-Lösung versetzt und die Mischung 3 Stunden lang im Eiskasten unter mehrmaligem Umschütteln gehalten. Dann werden die klaren Flüssigkeiten abgehoben. Sie enthalten bei IS. sowohl als bei NS. 12 A. Es beträgt demnach in beiden Fällen die absorbierte Menge etwa 52 A. Die Bodensätze beider Proben werden nun mit je 10 ccm 1-proz. NaCl-Lösung auf der Zentrifuge gewaschen und nach dem Abgießen der Waschflüssigkeit mit je 2 ccm 1-proz. NaCl-Lösung durch

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI. 1904. p. 49.

2) Vorläufig mitgeteilt in Wien. klin. Rundschau. 1905. No. 32.

3) Auf das ursprüngliche Blutvolumen bezogen.

15 Minuten bei 45° unter mehrmaligen Umschütteln digeriert. Dabei zeigt es sich, daß im IS.-Bodensatz die Klumpen sich nur wenig verkleinern, während der Bodensatz bei NS., der allerdings schon früher weniger intensiv verklumpt erschien, sich auffallend verteilt. Die Flüssigkeiten werden rasch warm abzentrifugiert und ihr Agglutiningehalt bestimmt. Er beträgt bei IS. 4 A., bei KS. 24 A. Ablesung der Agglutininbestimmung nach 6 Stunden.

#### Versuch II.

IS. I, NS. II. Anordnung wie in Versuch I, nur werden zur Absorption 0,2 ccm Meerschweinchenblutaufschwemmung genommen. Ablesung der Agglutininbestimmung nach 16 Stunden. Ergebnis:

$\frac{1}{30}$  IS. I = 96 A.  
NS. II = 64 A.  
Spaltungsflüssigkeit von IS. = 4 A.  
" " NS. = 16 A.

#### Versuch III.

IS. II eines mit Gansblut mehrmals intraperitoneal injizierten Kaninchens. NS. III. Zur Absorption werden 0,1 ccm Gansblutaufschwemmung (urspr. Vol.) genommen, zur Spaltung 4 ccm 1-proz. NaCl-Lösung. Ergebnis:

$\frac{1}{10}$  IS. II = 256 A.  
NS. III = 256 A.  
Absorbierte Menge von IS. = 128 A.  
" " NS. = 128 A.  
Spaltungsflüssigkeit von IS. = 8 A.  
" " NS. = 24 A.

#### Versuch IV.

IS. III eines mit Meerschweinchenblut (wie in Vers. I) behandelten Kaninchens. NS. IV. Meerschweinchenblut. Anordnung ganz ähnlich wie in den früheren Versuchen.

$\frac{1}{20}$  IS. III = 48 A.  
NS. IV = 32 A.  
Absorbierte Menge von IS. = 32 A.  
" " NS. = 28 A.  
Spaltungsflüssigkeit von IS. = 8 A.  
" " NS. = 16 A.

Ähnliche Resultate ergaben sich in anderen Versuchen; es zeigte sich immer eine merklich stärkere Spaltbarkeit der IS.-Verbindung. Da in diesen Versuchen das IS. verdünnt werden mußte, um in beiden Proben annähernd gleichen Agglutiningehalt zu erzielen, so konnte gedacht werden, daß die dadurch verursachte Ungleichheit der Lösungen in ihrem Gehalt an Eiweißkörpern oder irgend welchen anderen Stoffen für das Ergebnis von Belang sei.

Wir haben, um darauf Rücksicht zu nehmen, einige Versuche mit durch Abspaltung aus agglutinierten Blutkörperchen hergestellten agglutinierenden Lösungen<sup>1)</sup> vorgenommen, also die Spaltung zweimal hintereinander ausgeführt.

1) Vgl. Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 46.

## Versuch V.

IS. IV eines mit Gänseblut, wie in den anderen Versuchen, vorbehandelten Kaninchens. NS. eines gesunden Kaninchens (VI). Gänseblutaufschwemmung. Versuchsanordnung zunächst wie oben.

$\frac{1}{5}$  IS. IV = 512 A.

NS. VI = 512 A.

Spaltungsflüssigkeit von IS. = 8 A.

NS. = 24 A.

Nun werden agglutinierende Lösungen in folgender Weise hergestellt: Vom konzentrierten inaktiven Immuserum werden 4 ccm mit 0,3 ccm einer auf das ursprüngliche Volumen gebrachten Aufschwemmung von Gänseblutkörperchen zusammengebracht, vom NS. ebenso 12 ccm mit 0,2 ccm Aufschwemmung. Die beiden Mischungen werden 2 Stunden lang unter mehrmaligem Umschütteln im Eiskasten gehalten, dann die Bodensätze gewaschen und mit je 6 ccm NaCl-Lösung bei 45°  $\frac{1}{4}$  Stunde lang digeriert. Nach dem raschen Zentrifugieren werden kräftig agglutinierende Lösungen erhalten. Mit den Flüssigkeiten (IF. und NF.) wird nun der Versuch der Spaltung ebenso wie mit den beiden ursprünglichen Serumproben angestellt, d. h. es werden je 4 ccm der beiden Spaltungsflüssigkeiten mit 0,4 ccm auf das ursprüngliche Volumen gebrachter Aufschwemmung von Gänseblut zusammengebracht, in der Kälte stehen gelassen, gewaschen und die Bodensätze bei 45° mit je 4 ccm Kochsalzlösung digeriert und zentrifugiert. Ergebnis:

IF. = 384 A.

NF. = 64 A.

Absorbierte Menge von IF. = 288 A.

NF. = 56 A.

Spaltungsflüssigkeit von IF. = 12 A.

NF. = 24 A.

Trotzdem also die angewendete agglutinierende Lösung bei IF. wegen der hohen Konzentration des gebrauchten Serums beträchtlich stärker ist und auch aus dieser Lösung mehr A. aufgenommen werden, so ist doch die resultierende Spaltungsflüssigkeit bei NF. stärker.

Außer dem schon wiedergegebenen verschiedenen Verhalten von I- und N.-Agglutininen war noch ein Unterschied zu bemerken. Wurde nämlich die agglutinierende Wirkung solcher I- und N.-Sera und Spaltungsflüssigkeiten (sowie ihrer Verdünnungen) verglichen, die nach der Bestimmung der Verdünnungsgrenze etwa gleichwertig waren, so zeigte sich namentlich in den höheren und mittleren Konzentrationen ein Unterschied derart, daß die I.-Proben stärker verklumpt erschienen. Als Beispiel sei das Ergebnis der Titration von  $\frac{1}{5}$  IS. IV und NS. VI aus Versuch V angeführt.

Es bedeutet +++ starke, ++ mittlere, + schwache Agglutination.

Verdünnungsgrad	2	4	6	8	12	16	24	32	48	64
$\frac{1}{5}$ IS. IV	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
NS. VI	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Verdünnungsgrad	96	128	192	256	384	512	768
$\frac{1}{5}$ IS. IV	++	++	++	++	++	+	0
NS. VI	++	++	++	+	+	+	0



Es hatten nach der Größe der gebildeten Klumpen folgende Proben gleiches Aussehen, obwohl die wirksamen Verdünnungsgrenzen nahezu gleich gefunden wurden:

$\frac{1}{2}$	N.	und	$\frac{1}{24}$	I.
$\frac{1}{4}$	N.	"	$\frac{1}{64}$	I.
$\frac{1}{6}$	N.	"	$\frac{1}{96}$	I.
$\frac{1}{8}$	N.	"	$\frac{1}{128}$	I.

Es wurden nun je zwei nach dem Aussehen der Klumpen gleiche Proben vom IS. und NS. auf  $45^{\circ}$  erwärmt, und nun zeigte es sich, daß die Klumpen in den N-Proben sich leichter verkleinerten und verteilten, als die der I-Proben, so daß an Stelle der anfänglichen Gleichheit eine deutliche Ungleichheit trat. Dasselbe Verhalten, nämlich leichtere Verteilbarkeit der N.-Bodensätze in der Wärme, ergab sich, wenn ein derartiger Versuch nicht mit NS. und verdünntem IS., sondern mit einer Reihe von Verdünnungen agglutinierender Spaltungsflüssigkeiten angestellt wurde. Es wurde auch schon bei Versuch I erwähnt, und dasselbe zeigte sich in den übrigen Versuchen, daß bei Herstellung der Spaltungsflüssigkeiten die N.-Bodensätze sich in der Wärme leichter verteilten, doch sind diese Beobachtungen nicht so beweisend, wie die eben mitgeteilten, weil in diesen Fällen die IS.-Bodensätze schon von vornherein kräftiger agglutiniert erscheinen.

Die hier mitgeteilten Versuche lassen auf eine Ungleichheit im Verhalten der N.- und I.-Agglutinine schließen derart, daß die I.-Agglutinine gegenüber den N.-Agglutininen festere Verbindungen bilden und bei gleicher, nach der eher wirksamen Verdünnung gemessener Konzentration kräftiger agglutinierend wirken. Dieses Resultat ist anscheinend nicht im Einklang mit der Voraussetzung, daß bei der Immunisierung keine anderen Stoffe, als schon im normalen Zustand vorhandene sich im Serum ansammeln. Die Abweichungen ließen sich am wahrscheinlichsten dadurch erklären, daß die Tätigkeit der die normalen Serumstoffe produzierenden Zellen, zu denen vermutlich die lymphoiden Gewebe gehören, infolge der Immunisierungsreize alteriert werde und so anders beschaffene Produkte sich bilden. Vielleicht ist auch der Umstand mit in Betracht zu ziehen, daß bei den verschiedenen Arten der künstlichen Immunisierung möglicherweise solche Gewebsarten sich vorwiegend an der Immunkörperagglutination beteiligen, deren Anteil an der Produktion der normalen Serumstoffe nicht oder weniger in Betracht kommt. Es ist hier an die bekannten Versuche von Roemer und die neue Arbeit von Wassermann und Citron<sup>1)</sup> über die Entstehung von Immunkörpern am Orte der Injektion zu erinnern.

Es wird von Interesse sein, weiterhin an Bakterienagglutininen, Lysinen und anderen Immunstoffen Untersuchungen darüber anzustellen, ob dem hier beschriebenen Verhalten der NS. und IS. allgemeinere Gültigkeit zukommt<sup>2)</sup>.

1) Deutsche med. Wochenschr. 1905.

2) Nach einer privaten Mitteilung von Eisenberg wird dieser Autor demnächst über Unterschiede zwischen IS. und NS. auch rücksichtlich der Reversibilität ihrer Verbindungen berichten.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Technik der intraperitonealen Injektion.

[Aus dem königl. hygienischen Institut in Königsberg i. Pr. (Direktor: Prof. R. Pfeiffer).]

Von **E. Friedberger.**

Mit 1 Figur.

### 1. Einfacher Modus der Fixation des Meerschweinchens für die intraperitoneale Injektion.

Die Möglichkeit, ohne Assistenz und ohne die umständliche Prozedur des Aufspannens auf einen besonderen Tierhalter am ruhiggestellten Meerschweinchen eine intraperitoneale Injektion vornehmen zu können, wird jedem Experimentator, der einen derartigen Eingriff häufig vorzunehmen hat, willkommen sein, zumal zu Zeiten von Typhus- oder Choleraepidemien, wo diese Methode der Impfung häufig beim Pfeifferschen Versuche in Anwendung kommt.

Es existieren bereits eine Reihe von Methoden, die das erwähnte Ziel erstreben, aber keineswegs vollkommen erreichen.

Klebs<sup>1)</sup> fixierte die Meerschweinchen dadurch, daß er die Tiere ganz mit einer Flanellbinde umwickelte unter Freilassung des mittleren Teiles der Bauchwand zur Injektion.

Die Methode gewährt bei sorgfältiger Ausführung eine ausgezeichnete Fixation des Tieres, ist aber andererseits zeitraubend und unbequem.

Einfacher ist die Methode von Voges<sup>2)</sup>, der die Meerschweinchen mit dem Vorderkörper in eine Blechhülse mit Siebboden steckte. Die Fixation ist hier aber nur dann einigermaßen sichere, wenn der Durchmesser der Hülse genau der Größe des betreffenden Meerschweinchens entspricht. Es ist daher ein ganzer Satz von Hülsen für Tiere verschiedener Größe erforderlich, die aber auch dann natürlich nicht in jedem Falle passen.

Mir hat in den letzten Jahren bei vielen Hunderten von Injektionen, die ich an Meerschweinchen intraperitoneal vorzunehmen hatte, ein einfacher Handgriff, der jede persönliche oder instrumentelle Assistenz entbehrlich macht, sich ausgezeichnet bewährt.

Der einzige Apparat, dessen man für diese Fixationsmethode bedarf, ist eine linksseitige Brusttasche im Laboratoriumsmantel, in die das Tier mit dem Kopfe nach unten, Bauchseite nach links vertikal bis über den Thorax hin eingesteckt wird. Durch darauffolgende Horizontalstellung des Tieres unter leichter Drehung nach rechts werden Kopf und Vorderbeine in der sich bildenden Taschenfalte gut fixiert; die Hinterbeine werden in der Beckengegend zwischen Mittel- und Ringfinger der linken Hand gefaßt und Daumen und Zeigefinger bewerkstelligen die Fixation der mit der rechten Hand eingeführten Spritze in der Injektionsstelle.

Mit diesem einfachen Handgriff gelingen die Injektionen regelmäßig auch bei widerspenstigsten Tieren.

1) Deutsche med. Wochenschr. 1892.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. 1895.

## 2. Ein vereinfachter Sprizentypus für die intraperitoneale Injektion.

Um bei der intraperitonealen Injektion Verletzungen des Darmes zu vermeiden, sind verschiedene Methoden angegeben.

Stephenson und Bruce<sup>1)</sup> benutzten als Kanüle eine gekrümmte Hohnadel, deren Ausflußöffnung sich an der Konvexität befindet. Bei der Injektion hebt man eine Bauchfalte samt Peritoneum auf, stößt die Nadel durch, läßt die Bauchfalte los und vollzieht die Injektion, wobei die Flüssigkeit durch die in die Bauchhöhle freiragende Oeffnung der Kanüle einströmt.

Sobernheim<sup>2)</sup> stach in gleicher Weise wie die vorerwähnten Autoren eine gewöhnliche Kanüle durch die Bauchhautfalte und zog die Nadel dann etwas zurück, bis sie frei in das Peritoneum ragte.



Einfacher ist das Verfahren von R. Pfeiffer, der, nachdem die Bauchhaut durch einen kleinen Scherenschnitt eingeschnitten war, mit einer stumpfen Kanüle direkt durch die Muskulatur hindurchging.

Bei allen diesen Methoden besteht die Gefahr einer Darmverletzung in nicht unerheblichem Grade.

Die Spritze, deren ich mich seit längerer Zeit für intraperitoneale Injektionen bediene, unterscheidet sich von der gewöhnlichen Pravaz-Spritze nur dadurch, daß das vordere Ende keinen Kanülenansatz hat, sondern etwa 2 cm lang dünn ausgezogen ist; die Ausflußöffnung ist abgeschrägt, aber stumpf geschliffen.

Mit einer derartigen Spritze gelingt es, nach Durchtrennung der Bauchhaut mit der Schere, einerseits sehr leicht die Muscularis zu durchdringen, andererseits ist die Spritze doch so breit und stumpf,

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. IX.

2) Zeitschrift f. Hyg. Bd. XX.

daß eine Darmverletzung ausgeschlossen scheint und mir tatsächlich auch nie passiert ist. Die gesetzte Muskelwunde ist so gering, daß sie sich nach Herausziehen der Spritze sofort spontan schließt; infolgedessen ist ein Wiederaustritt der injizierten Flüssigkeit nicht zu befürchten, zumal wenn man durch vorherige leichte Massage für eine ordentliche Verbreitung der Injektionsmasse im Peritoneum sorgt.

Die Vorteile dieser Spritze „aus einem Stück“ liegen auf der Hand. Sie decken sich mit den Nachteilen, die die Kanüle an sich stets aufweist. Es kann weder eine Verstopfung, wie bei der Metallkanüle, noch vor allem ein dadurch veranlaßtes Austreten des infektiösen Inhalts stattfinden, wie es bei den Kanülspritzen an der Ansatzstelle der Kanüle nur zu oft erfolgt.

Die stumpfe und rundgeschliffene Form des Endstückes läßt es so gut wie unmöglich erscheinen, daß der Darm angestochen wird. Besonders empfehlenswert ist daher die Spritze auch für die intraperitoneale Injektion beim Kaninchen, wo die ungünstigen anatomischen Verhältnisse bei den gebräuchlichen Spritzen mit Metallkanüle nur zu leicht auch bei Beckenhochlagerung zu Darmverletzungen führen.

Da bei vollständiger Füllung des Spritzenrohres der Stempel aus dem ausgezogenen Endstücke die Flüssigkeit nicht mehr austreiben kann, so ist eine geringe Luftmenge in das Spritzenrohr einzuziehen, welche genügt, den Inhalt auch aus diesem toten Raum auszutreiben.

---

*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 Korrekturabszüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

### Inhalt.

- |   |  |
|---|--|
| <p><b>Ankersmit, P.</b>, Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. (Forts.), p. 687.</p> <p><b>Bürgi, Moritz</b>, Die Staphylokokkeninfektion bei den Hasen. (Forts.), p. 671.</p> <p><b>Carini, A.</b>, Sind die Vaccineerreger Spirochäten?, p. 685.</p> <p><b>Ernst, Wilhelm</b>, Ueber Pyelonephritis diphtherica bovis und die Pyelonephritibacillen. (Forts.), p. 660.</p> <p><b>Friedberger, E.</b>, Zur Technik der intraperitonealen Injektion, p. 718.</p> <p><b>Ghon, Anton und Mucha, Victor</b>, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. III. (Forts.), p. 641.</p> | <p><b>Landsteiner, Karl und Reich, Mathias</b>, Ueber Unterschiede zwischen normalen und durch Immunisierung entstandenen Stoffen des Blutserums, p. 712.</p> <p><b>Lüdke, H.</b>, Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie. II. (Forts.), p. 649.</p> <p><b>Luerssen, Arthur</b>, Bakteriologische Untersuchungen bei Trachom, p. 678.</p> <p><b>Martin, Ed.</b>, Isoagglutination beim Menschen, nebst einer Bemerkung zur Marx-Ehrenroothschen Blutdifferenzierungsmethode, p. 704.</p> <p><b>Mereshkowsky, S. S.</b>, Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. (Forts.), p. 696.</p> |
|---|--|

---

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XXXIX enthaltenen Arbeiten.

- Almquist, E. und Trolli-Petersson, G., Quantitative Desinfektionsversuche. 477
- Ankersmit, P., Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. 359. 574. 687
- Babes, A., siehe Theohari, A.
- Bahr, L., Ueber die zur Vertilgung von Ratten und Mäusen benutzten Bakterien. 263
- Baruchello, L., Untersuchungen über die Darmstreptokokken des Pferdes. 569
- Bertarelli, E., Experimentelle Untersuchungen und Beobachtungen über die Tollwut. 399
- , Ueber aktive und passive Immunisation der Neugeborenen und Säuglinge auf dem Wege der Verdauungsorgane. 285
- Bongiovanni, A., siehe Tizzoni, G.
- Bosc, F. J., Les maladies bryocytiques (maladie à protozoaires). III. La variole et son parasite. 36. 129. 247. 389. 594
- Braun, M., Notiz zur Entwicklung der Taenia tenuicollis Rud. 54
- Buerger, L., Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien; zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen. 216. 335
- , The macroscopic identification of colonies of the pneumococcus. 20
- Bürgl, M., Die Staphylokokkeninfektion bei den Hasen. 559. 671
- Bulloch, W. and Twort, F. W., On the virulence of Bacillus mallei obtained from human sources. 29
- Carini, A., Sind die Vaccineerreger Spirochäten? 685
- De Waele, H. u. Sugg, E., Experimentelle Untersuchungen über die Kuhpockenlymphe. 46. 142
- , Sur la production d'hémolysine par le Streptocoque variolo-vaccinal. 324
- et Vandevelde, A. J. J., Sur les ferments protéolytiques des microbes et une méthode d'évaluation quantitative de la liquéfaction de la gélatine. 353
- Doerr, R., Experimentelle Untersuchungen über das Fortwuchern von Typhusbacillen in der Gallenblase. 624
- Ehlers, H. W. E., Alsol, ein neues Tonerdepräparat. 190
- v. Eisler, M., siehe Landsteiner, K.
- Ernst, W., Ueber Pyelonephritis diphtherica bovis und die Pyelonephritisbacillen. 549. 660
- Friedberger, E., Zur Technik der intraperitonealen Injektion. 718
- Friedberger, E. u. Moreschl, C., Vergleichende Untersuchungen über die aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Cholera und Typhus. 453
- Fürntratt, K., Ueber einige Eigenschaften des Endoschen Fuchsin-Agars. 487
- Gaechtgens, W., Ueber die Erhöhung der Leistungsfähigkeit des Endoschen Fuchsinagars durch den Zusatz von Koffein. 634
- Galli-Valerio, B., Notes de parasitologie et de technique parasitologique. 230
- Gay, F. P., Observations on the single nature of haemolytic immune bodies, and on the existence of so-called Complementoides. 172
- , The fixation of alexines by specific serum precipitates. 603
- Ghon, A. und Mucha, V., Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. 497. 641
- Heller, O., Versuche zur Schutzimpfung gegen Cholera mit Choleranukleoproteid. 106
- Helly, K., Weitere Versuche über Exsudatzellen und deren Beeinflussung durch Bakterien. 94
- Hueppe, F. und Kikuchi, Y., Ueber eine neue sichere und gefahrlose Immunisierung gegen die Pest. 610
- Karwacki, L., Beitrag zur Kenntnis der Geschwulstflora. 369
- Kern, F., Ein neues Bakterienfilter. 214
- Kikuchi, Y., siehe Hueppe, F.
- Klein, A., Ueber Erythropräzipitin und andere Immunprodukte einzelner Bestandteile des Blutes. 303. 438
- Kleine, F. K. u. Möllers, B., Ueber Hühnerpest bei Gänsen. 545
- Koraen, G., Pathogene Bakterien, in Gegenwart von Luft und unter kontrollierbarer Luftleere kultiviert. 508
- Kraus, R. und Präbram, E., Ueber Beziehungen der Immunkörper zur präzipitinogenen Substanz des Blutserums (Bakterienagglutinine). 72
- Krencker, E., Zur Biologie der Typhus-Coligruppe. 14
- Landsteiner, K. u. v. Eisler, M., Ueber Agglutinin- und Lysinwirkung. 309
- u. Reich, M., Ueber die Verbindungen der Immunkörper. 83
- , Ueber Unterschiede zwischen normalen und durch Immunisierung entstandenen Stoffen des Blutserums. 712
- v. Löte, J., Ueber ein Symptom der experimentellen Lyssa (das sogenannte prämonitorische Fieber). 32

- Löwit, M., Der Nachweis sichelförmiger Gebilde im myelämischen Blute bei Giemsa-Färbung. 274
- Looss, A., Notizen zur Helminthologie Aegyptens VI. Das Genus *Trichostrongylus* n. g., mit zwei neuen gelegentlichen Parasiten des Menschen. 409
- , *Schistosomum japonicum* Katsurada, eine neue asiatische Bilharzia des Menschen. 280
- Lüdke, H., Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie II. 512. 649
- Luerssen, A., Bakteriologische Untersuchungen bei Trachom. 678
- Mankowski, A. F., Zur Frage von den Mitteln zur Vertilgung der Mücken, als Verbreiter der Malariainfektion. 277
- Martin, E., Isoagglutination beim Menschen, nebst einer Bemerkung zur Marx-Ehrenroothschen Blutdifferenzierungsmethode. 704
- Mereshkowsky, S. S., Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. 380. 584. 696
- Möllers, B., siehe Kleine, F. K.
- Moreschi, C., siehe Friedberger, E.
- Mucha, V., siehe Ghon, A.
- v. Niessen, Ueber mechanische Luftreinigung geschlossener Räume. 493
- Petersson, A., Ueber die bakteriziden Leukocytinstoffe und ihre Beziehung zur Immunität. 423. 613
- Pi y Suñer, A., siehe Turró, R.
- Porges, O., Zur Kenntnis der agglutinierenden Immunsere. 319
- Pfibrum, E., siehe Kraus, R.
- Reich, M., siehe Landsteiner, K.
- Reischauer, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen in den Darmentleerungen mit Verwendung der neueren Anreicherungsverfahren. 116
- Reitmann, K., Zur Kenntnis der *Saccharomycosis hominis*. 225
- Rosenblath, W., Ueber einen eigenartigen Fall von Blutfleckenkrankheit. 21
- Roux, L., Anaerobe Bakterien als Ursache von Nekrose und Eiterung beim Rinde. 531
- Russ, V. K., Ueber ein Influenzabacillenähnliches anaerobes Stäbchen. 357
- Sacharoff, G., Ueber Injektionen von Diphtherieantitoxin bei Tieren, welche mit normalem Pferdeserum vorbehandelt waren. 99
- Schnürer, J., Zur diagnostischen Verwertung der Rotzagglutination. 180
- Sittler, P., Die Sterilisation elastischer Katheter. 108. 194
- Sorgente, P., Weitere Untersuchungen über den Meningococcus. 1
- Sugg, E., siehe De Waele, H.
- Theohari, A. und Babes, A., Ueber ein gastrotoxisches Serum, mit einem Studium des Chemismus des Magens und der von diesem Gastrotoxin veranlaßten histologischen Veränderungen. 62. 160
- Tizzoni, G. und Bongiovanni, A., Die Behandlung der Wut mittels Radiumstrahlen. 473
- —, Die Wirkung der Radiumstrahlen auf das Virus rabiei in vitro und im tierischen Organismus. 187
- Troll-Petersson, G., siehe Almquist, E.
- Turró, R. u. Pi y Suñer, A., Der Mechanismus der natürlichen Immunität auf physiologischer Grundlage. 55. 149
- Twort, F. W., siehe Bulloch, W.
- Vandevelde, A. J. J., siehe De Waele, H.
- v. Winkler, H., Ueber einige Hilfsmittel für bakteriologische Arbeiten. 483

## II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Achromaticus vesperuginis* in *Vesperugo noctula*. 239
- Actinomyces bovis*, Färbemethode. 245
- Alexine, Fixation durch spezifische Serumpräzipitate. 603
- Alsol, bakterizide Wirkung. 190
- Anaeroben bei Nekrose und Eiterung beim Rind. 531
- Bacillus acidophilus*, Wachstum. 384. 584. 696
- anaerobes influenzaähnlicher. 357
- *bremensis febris gastricae*, Eigenschaften. 16
- *breslaviensis*, Eigenschaften. 16
- *dysenteriae*, Kultur unter Luftleere. 509
- —, Eigenschaften. 18
- —, Varietät. 231
- *enteritidis*, Eigenschaften. 16
- —, quantitative Bestimmung der Gelatineverflüssigung. 355
- Bacillus faecalis alcaligenes*, Eigenschaften. 18
- *friedbergensis*, Eigenschaften. 16
- *Gaustad*, Eigenschaften. 16
- *megatherium*, quantitative Bestimmung der Gelatineverflüssigung. 354
- *morbificans bovis*, Eigenschaften. 16
- *morseelensis*, Eigenschaften. 16
- *necrophorus*, Kultur und Impfung. 539
- *paratyphi*, Eigenschaften. 16
- —, Kultur unter Luftleere. 509
- *pestähnlicher*, Beschreibung. 230
- *pyocyaneus*, quantitative Bestimmung der Gelatineverflüssigung. 354
- *suipestifer*, Eigenschaften. 16
- *typhi murium*, Eigenschaften. 16
- Bacterium coli commune*, Eigenschaften. 16
- — —, Kultur unter Luftleere. 509
- — —, quantitative Bestimmung der Gelatineverflüssigung. 356

- Bacterium Grünthal, Eigenschaften. 16  
 — paracoli, Eigenschaften. 16  
 — vulgare, Bedingungen der Immunität. 423  
 Bakterienfilter neues. 214  
 Blastomyceten bei Molluscum contagiosum. 235  
 Blutfleckenkrankheit, Befund eines Bacillus. 21  
 Blutserum, Einwirkung der Immunisierung auf die Bestandteile. 712  
 Bothriocephalus latus, Abnormität. 239  
 Cedernöl, Flasche zur Aufbewahrung. 247  
 Cholera, aktive Immunisierung von Kaninchen. 453  
 —, Schutzimpfung mit Choleranukleoproteid. 106  
 Choleranukleoproteid zur Schutzimpfung gegen Cholera. 106  
 Choleravibrionen, Kultur unter Luftleere. 509  
 —, quantitative Bestimmung der Gelatineverflüssigung. 355  
 —, Verhalten gegen Alsol. 193  
 Deckgläschen, Ausglühmethode. 483  
 Dicrocoelium lanceolatum im Menschen. 239  
 Diphtherieantitoxin, Wirkung bei mit normalem Pferdeserum behandelten Tieren. 99  
 Dysenterie, aktive und passive Immunisierung. 512. 649  
 Endoscher Fuchsinagar mit Koffein, Wirkung. 634  
 Erythropräzipitin, Eigenschaften. 303. 438  
 Exsudatzellen, Beeinflussung durch Bakterien. 94  
 Fuchsinagar nach Endo, Eigenschaften. 487  
 Gelatineverflüssigung, quantitative Bestimmung. 353  
 Geschwülste, vorhandene Mikroorganismen. 369  
 Haemamoeba leucaemiae magna in myelämischem Blut. 274  
 Hämolysebildung durch Streptokokken. 324  
 Hühnerpest bei Gänsen. 545  
 Hundswut, Auftreten des prämonitorischen Fiebers. 32  
 —, Behandlung mit Radiumstrahlen. 473  
 — beim Murmeltier. 404  
 —, Filtrierbarkeit des Virus im Speichel. 408  
 —, Infektionsvermögen des Speichels wutkranker Menschen. 408  
 —, Infizierbarkeit der Speicheldrüsen der tollwütigen Kaninchen. 399  
 —, Uebertragung auf kaltblütige Tiere. 406  
 —, Wirkung der Radiumstrahlen auf das Virus. 187  
 Immunisierung der Neugeborenen durch die Verdauungsorgane. 285  
 —, Wirkung auf die Bestandteile des Serums. 712  
 Immunität natürliche, physiologische Grundlage. 55. 149  
 Immunkörper, hämolytische Wirkung. 172  
 — im normalen Serum. 433  
 —, Verbindungen. 83  
 Immunsera agglutinierende, Eigenschaften. 319  
 Injektion intraperitoneale, Methodik. 718  
 Isoagglutination beim Menschen. 704  
 Kapselfärbung der Bakterien, neue Methode. 216. 335  
 Katheter elastische, Sterilisation. 108. 194  
 —, Literatur über Sterilisierung. 208  
 Komplementoid identisch mit Alexinen. 177  
 Leptothrix in Symbiose mit Tuberkelbacillen. 234  
 Luft, Untersuchung auf Bakterien. 484  
 Luftreinigung durch Wasserdampf. 493  
 Mäuse, infektiöse Bacillen. 263  
 Meningococcus, Beschreibung verschiedener Stämme. 3  
 —, Immunisierungsversuche an Kaninchen. 9  
 Mikroorganismen im Darm, Wirksamkeit. 380. 584. 696  
 Milzbrand, Immunitätsversuche. 435. 613  
 Milzbrandbacillen, quantitative Bestimmung der Gelatineverflüssigung. 354  
 —, Verhalten gegen Alsol. 192  
 Molluscum contagiosum, Blastomycetenbefund. 235  
 Mücken, Vertilgungsmittel. 277  
 Myelämie, Vorkommen sichelförmiger Gebilde. 274  
 Negrische Körperchen, Auffinden im Zentralnervensystem der Hunde. 407  
 — —, Beziehung zum Auftreten der Tollwut bei Hunden. 403  
 — — in den Nervenzellen tollwütiger Hunde. 401  
 Peritonitis durch Anaëroben. 498. 641  
 Pest, Immunisierungsmethode. 610  
 Pneumococcus, makroskopisches Aussehen der Kolonien. 20  
 Pyelonephritis diphtherica beim Rind, Bakterienbefunde. 550. 663  
 — — —, Histologie. 554. 660  
 Radiumstrahlen, Wirkung auf das Lyssa-virus. 187  
 Ratten, infektiöse Bacillen. 263  
 Rind, Bakterien des Verdauungskanals. 359. 574. 687  
 Rotzagglutination, diagnostische Verwertung. 180  
 Rotzbacillen, Virulenz. 29  
 Saccharomykose der Nieren. 225  
 Schistosomum japonicum, Beschreibung. 280  
 Serum gastrotoxisches, Eigenschaften. 62. 160  
 Serumhämolyse, Wirkung. 312  
 Serumpräzipitine, Beziehung zu den Bakterienagglutininen. 72  
 Serumwirkung bakterizide. 316  
 Staphylococcus pyogenes albus, Kultur unter Luftleere. 509  
 — — aureus, Kultur unter Luftleere. 509  
 — — —, Verhalten gegen Alsol. 191

Staphylokokken beim Hasen, Kultur.	671	Typhusbacillen, quantitative Bestimmung	
Staphylokokkeninfektion beim Hasen.	559.	der Gelatineverflüssigung.	355
	671	—, Verhalten gegen Alsol.	193
Streptokokken im Pferdedarm.	569	Uncinaria duodenalis, Durchtritt durch die	
Sublimat, quantitative Desinfektionswir-		Haut.	241
kung.	477	—, Infektion von Fröschen.	242
Taenia tenuicollis, Wirtswechsel.	54	—, Kultur der Larven.	246
Tetanolysin, Wirkung.	315	—, Präparation der Eier und Larven.	246
Trachom, bakteriologische Befunde.	678	—, Resistenz der Eier und Larven.	242
Trichostrongylus probolurus, Beschreibung.	419	—, Verbreitung durch Fliegen.	242
— retortaeformis, Beschreibung.	413	Vaccine, Immunisierung mit der Säckchen-	
— subtilis, Beschreibung.	418	methode.	50
— — identisch mit T. instabilis.	422	—, Immunisierung mit steriler Oedem-	
— vitrinus Looss, Beschreibung.	421	flüssigkeit.	53. 142
Trypanosoma Lewisi in Ratten.	238	—, Impfungen bei Kälbern.	47
Trichosoma hepaticum in Ratten.	240	—, Impfungen bei Kaninchen.	46
Tuberkelbacillen des Menschen verglichen		—, Impfungen bei Ziegen.	47
mit denen der Rinder.	233	—, Impfungen mit dem Filtrat.	49
—, linsenförmige Anhäufungen.	234	—, Mikroben in den zur Immunisierung	
Typhus, aktive Immunisierung von Ka-		verwandten Säckchen.	144
ninchen.	453	—, Spirochätenbefund.	685
Typhusbacillen, Eigenschaften.	18	Variola, Impfungen.	36
—, Fortwuchern in der Gallenblase.	624	—, pathologische Anatomie.	40. 129. 247.
—, Kultur unter Luftleere.	509		389. 594
—, Nachweis in den Faeces.	116	—, spontanes Auftreten.	37

### III. Verzeichnis der Abbildungen.

Acarine auf Anopheles.	278	Sichelformen im myelämischen Blut bei	
Anophelesflügel.	279	Giemsafärbung.	274
Anopheleslarve.	279	Sterilisationsapparat für Katheter.	199
Bacillus mucosus capsulatus, Kapsel.	352	Streptococcus mucosus capsulatus, Kapsel.	
(Taf. III. Fig. 7—9)		352 (Taf. I. II. Fig. 4. 5)	
Bakterienfilter neues.	214	Trichosoma hepaticum, Verletzungen bei	
Dysenterie bacilläre, Stuhlkurven.	657—660	der Maus.	240
Flasche für Cedernöl.	247	Trichostrongylus probolurus.	422 (Taf. II.
Geschwülste, Organismenbefunde.	380 (Taf.)	Fig. 9—11)	
Glaskugeln für bakteriologische Luftunter-		— retortaeformis.	422 (Taf. I. Fig. 1—3)
suchungen.	486	— subtilis.	422 <sub>a</sub> (Taf. I. II. Fig. 4—8)
Hefen bei Molluscum contagiosum.	237	— vitrinus Looss.	422 (Taf. II. Fig. 12
— in Zellen	230 (Taf.)	—14)	
Hühnerpest bei Gänsen, Temperaturkurven.	548	Vaccine, Kurven des Verlaufes der natür-	
Influenzaähnliches Stäbchen.	358	lichen und künstlichen Infektion.	39
Injektion intraperitoneale, Methode.	719	Variola, Schnitte durch Pusteln.	41—45.
Kuhpockenimpfung beim Kalb, Temperatur-		132—134. 250—253	
kurven.	48—52. 142. 143	—, Zellen mit Parasiten.	602 (Taf. I. II)
Pneumococcus, Kapsel.	352 (Taf. I. II.	Verdampfapparat für Zimmerdesinfektion.	
Fig. 1—3. 6)		494. 495	
Pyelonephritis diphtherica beim Rind, Ge-		Zellen der Magenschleimhaut nach Ein-	
webeschnitte.	554. 556. 558	wirkung von gastrotoxischem Serum.	171 (Taf.)
— — — —, Organismen.	664. 665. 667		



# CENTRALBLATT

für

## Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:  
Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

Original

In Verbindung mit  
Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler, Prof. Dr. R. Pfeiffer, Prof. Dr. M. Braun  
Greifswald Königsberg i. Pr.

herausgegeben von  
Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3<sup>1</sup>

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XXXIX. Bd.

Jena, den 16. Juni 1905.

Heft 1.

Preis für den Band (50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Nummern erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe. Bei Einzelverkauf Preis für einen einfachen Druckbogen 40 Pfg., für eine Tafel 60 Pfg

## Dr. Hermann Rohrbeck

Karlstrasse 24 Berlin N.W. Karlstrasse 24



DR. HERM. ROHRBECK.

Erste Spezialfabrik  
für sämtliche  
Apparate und  
Utensilien zu bak-  
teriologischen  
und mikroskopi-  
schen Unter-  
suchungen.

### Bauanstalt für Desinfektoren

aller Systeme, für Krankenhäuser, Gemeinden, Kliniken etc.

Patent-Dampfdesinfektoren und Sterilisatoren, stationär und transportabel, unfehlbar sichere Desinfektion mit Hilfe von Unterdruck, Formalin-Desinfektoren. Thermostaten neuester Konstruktion von vorzüglichster Leistung, in allen Grössen; Sterilisatoren all. Systeme; Apparate f. Asepsis, kombinierte Apparate f. Verbandstoffe u. Instrumente. Autoklaven, Digestoren in allen Grössen zu jedem Ueberdruck.

Einrichtungen zu bakteriologischen Laboratorien  
von 200 Mk. an.

Billigste Preise bei exakter und elegantester Ausführung,  
da nur eigene Fabrikation.



**E. Leitz,**  
Optische Werkstätte,  
Wetzlar.

# Mikroskope

Mikrophotographische und Projektions-Apparate.

## ≡ Mikrotome ≡

Deutsche, englische, französische und russ. Kataloge kostenfrei.

Filialen:

**Berlin NW.**  
Luisenstr. 45.

**Frankfurt a. M.**  
Kaiserstr. 64.

**Chicago**  
32—38 Clark-Str.

**New-York**  
30 East 18th Str.

**St. Petersburg,** Woskressenski 11.

Vertreter für **München:**

**Dr. A. Schwalm,** Sonnenstr. 10.



# F. Sartorius, Göttingen (Hann.)

Werkstatt für  
wissenschaftliche  
Instrumente.

Abt. III.

## ≡ Mikrotome ≡

und Nebenapparate.

**Gehirn-Mikrotome**  
von bis jetzt unerreichter  
Leistung.

**D.R.G.M. Neueste D.R.G.M.**

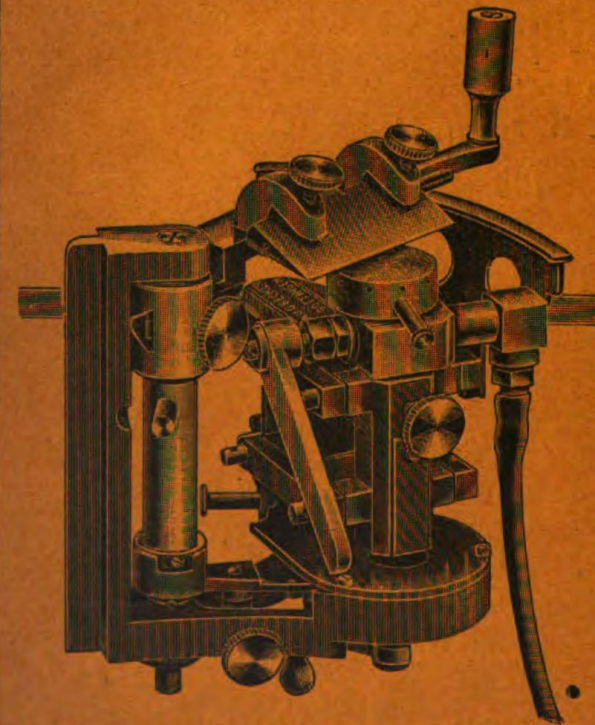
## Gefriermikrotome

(Studenten-Mikrotome)

für Kohlensäure u. Aetherspray,  
sowie Paraffin u. Celloidin von  
anerkannter Güte u. sauberster  
Ausführung.

Preislisten (deutsch, englisch u.  
französisch) gratis u. franko.

Vertreter



Mikrotom Lit. H. in Verbindung mit C. O. 2. an allen grösseren Plätzen  
im In- u. Auslande.

# SPEYER & PETERS

Spezialbuchhandlung für Medizin

== BERLIN N.W. 7, Unter den Linden 43 ==

bieten in wohlerhaltenen, garantirt vollständigen und gut gebundenen Exemplaren an:

Annales de dermatologie. Bd. 1—32. 1869—1901.	600.—
Annales des maladies des organes génito-urin. Jg. 1—22. 1882—1904.	800.—
Archiv f. Anatomie und Physiologie. Jg. 1877—98. (1298.—) Meist ungeb.	800.—
Archiv f. Hygiene. Bd. 1—43. 1883—1902. (650.50)	475.—
Archiv f. exper. Pathologie. Bd. 1—49. 1873—1903. (784.—)	650.—
Archiv f. mikrosk. Anatomie. Bd. 1—62. 1865—1903. (2880.30)	1800.—
Archives de médecine expérim. Bd. 1—10. 1889—98.	180.—
Charité-Annalen. Jg. 1—27. 1876—1903. (568.—)	200.—
Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 1—34 und Orig. Bd. 35. 1887—1904. (577.—) Ungeb.	370.—
Jahrbuch f. Kinderheilkunde. N. F. Bd. 1—58. 1868—1903. (687.—)	410.—
Jahrbuch, Morpholog. Bd. 1—14. 1876—88. (654.—)	385.—
Lebert, Traité d'anatomie pathol. 4 Bde. m. 200 color. Tafeln. 1857—61. (Geb. fr. 675.—).	210.—
Lubarsch u. Ostertag, Ergebnisse. Jg. 1—9 <sup>I</sup> in 14 Bdn. 1895—1904. (369.65) Ungeb.	265.—
Monatshefte f. Dermatologie. Bd. 1—35. 1882—1902. (573.70)	425.—
Nothnagel, Spec. Pathologie und Therapie. Vollständig: 24 Bde. in 40 Tln. 1894—1905. (Geb. ca. 840.—)	500.—
Pflüger's Archiv. Bd. 1—93. 1868—1903. (2147.60)	1450.—
Revue d'hygiène. Jg. 1—15. 1879—93. (fr. 300.—) Ungeb.	90.—
Rundschau, Hygienische. Jg. 1—12. 1891—1902. (324.—) Ungeb.	200.—
Thompson Yates Laboratories Report. Bd. 1—4 I. 1900—01. (75.50) Ungeb.	45.—
Virehow's Archiv. Bd. 1—169. 1847—1902. Originaldruck!	1400.—
Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. 1—40. 1877—1904.	400.—
Zeitschrift f. Tiermedizin. Bd. 1—22. 1875—97. (258.—)	100.—
Zeitschrift f. wiss. Mikroskope. Bd. 1—19. 1884—1902. (392.—)	200.—

Nachstehende Zeitschriften etc. kaufen wir zu hohen Preisen:

L'Année psychologique.

Archiv für experim. Pathologie.

Centralblatt für allg. Pathologie.

Heymann's Handbuch der Laryngologie.

Iconographie, Nouv., de la Salpêtrière.

Maly's Jahresbericht.

Weyl's Handbuch d. Hygiene.

Ziegler's Beiträge z. pathol. Anat. etc.

## Für den Bezug neuer Bücher

hält sich die **Sortimentsabteilung** unseres Geschäfts angelegentlichst empfohlen.

Ausserordentlich zahlreiche Beziehungen und mehr oder weniger ständige Vertretungen in allen grösseren Orten des In- und Auslandes ermöglichen eine schnelle und sachgemässe Ausführung aller, auch schwierigerer Aufträge auf in- und ausländische Bücher.

**Ganz besonders empfehlen wir uns zur**

## Annahme von Abonnements auf alle Zeitschriften des In- und Auslandes

die stets am Tage des Erscheinens an die aufgegebenen Adressen zur Absendung gebracht werden.

Korrespondenz auch in französischer  
und englischer Sprache.

## Spezialität: Einrichtung ganzer Bibliotheken

**SPEYER & PETERS,**

Spezialbuchhandlung für Medizin.

Berlin N. W. 7, Unter den Linden 43.

Inseratenannahme durch die Verlagshandlung.

Frosmanische Buchdruckerei (Hermann Pöhl) in Jena.

# CENTRALBLATT

für

## Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:

Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

### Originale

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler, Prof. Dr. R. Pfeiffer, Prof. Dr. M. Braun  
Greifswald Königsberg i. Pr.

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3<sup>1</sup>

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XXXIX. Bd.

Jena, den 5. Juli 1905.

Heft 2.

Preis für den Band (50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Nummern erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe. Bei Einzelverkauf Preis für einen einfachen Druckbogen 40 Pfg., für eine Tafel 60 Pfg.

## Dr. Hermann Rohrbeck

vorm. J. F. Luhme & Co.

Karlstrasse 20 a Berlin N.W. 6 Karlstrasse 20 a



Erste Spezialfabrik  
für sämtliche  
Apparate und  
Utensilien zu bak-  
teriologischen  
und mikroskopi-  
schen Unter-  
suchungen.



### Bauanstalt für Desinfektoren

aller Systeme, für Krankenhäuser, Gemeinden, Kliniken etc.

Patent-Dampfdesinfektoren und Sterilisatoren, stationär und transportabel, unfehlbar sichere Desinfektion mit Hilfe von Unterdruck. Formalin-Desinfektoren. Thermostaten neuester Konstruktion von vorzüglichster Leistung, in allen Grössen; Sterilisatoren all. Systeme; Apparate f. Asepsis, kombinierte Apparate f. Verbandstoffe u. Instrumente, Autoklaven, Digestoren in allen Grössen zu jedem Ueberdruck.

Einrichtungen zu bakteriologischen Laboratorien  
von 200 Mk. an.

Billigste Preise bei exakter und elegantester Ausführung,  
da nur eigene Fabrikation.









QR  
 .C4  
 alt 1  
 v. 39  
 1905  
 Dec 32

Centrals. f. Bakkeris  
 and Parasitenkunde  
 Originale  
 239704

J. Hamin  
 Richtts  
 Recalled 5-9

Oct 21 38  
 George J. Wright  
 Richtts North

239704

**SHELVED BY TITLE**

UNIVERSITY OF CHICAGO



72 903 154