



Über dieses Buch

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

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

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

Nutzungsrichtlinien

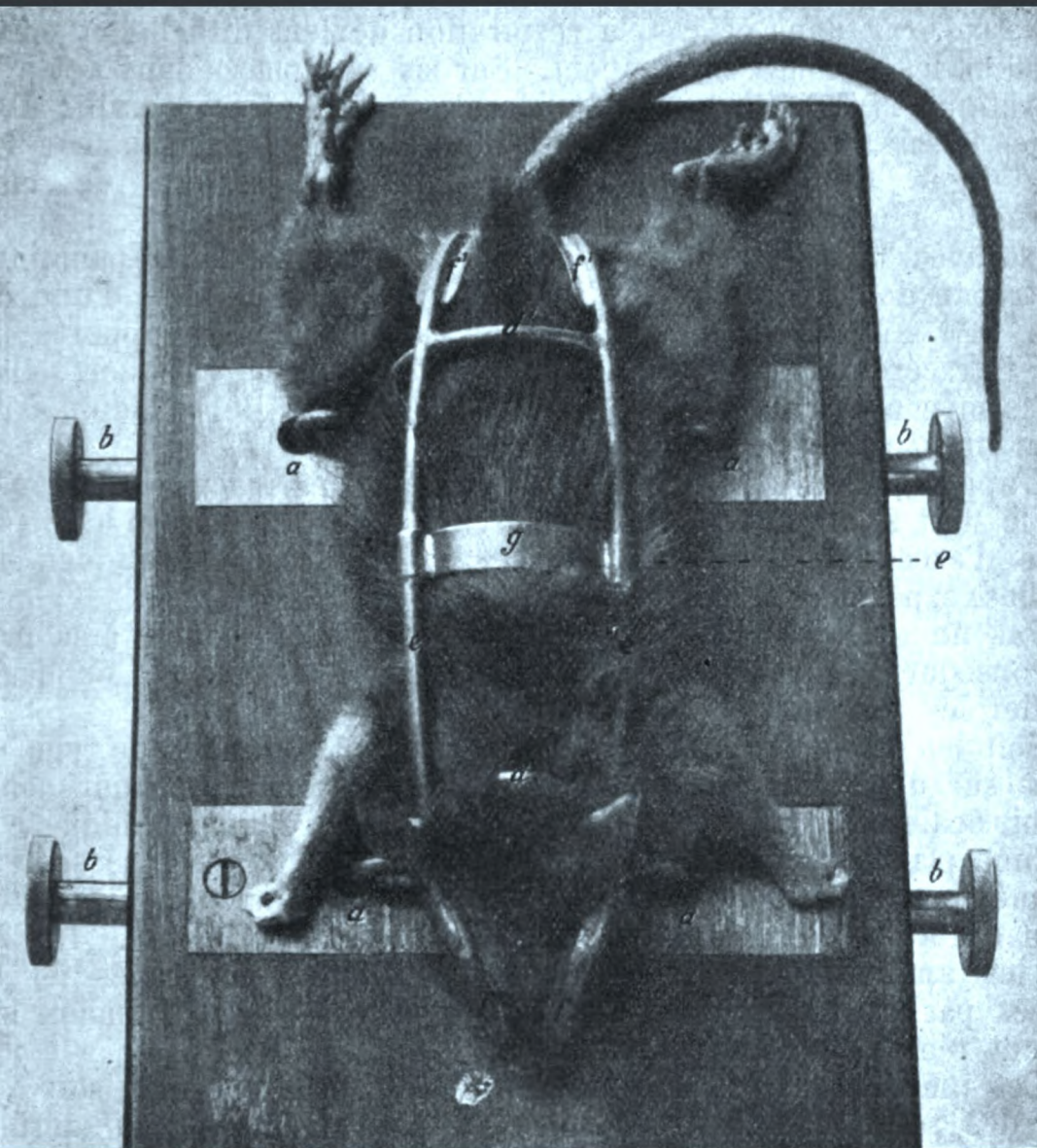
Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig.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

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

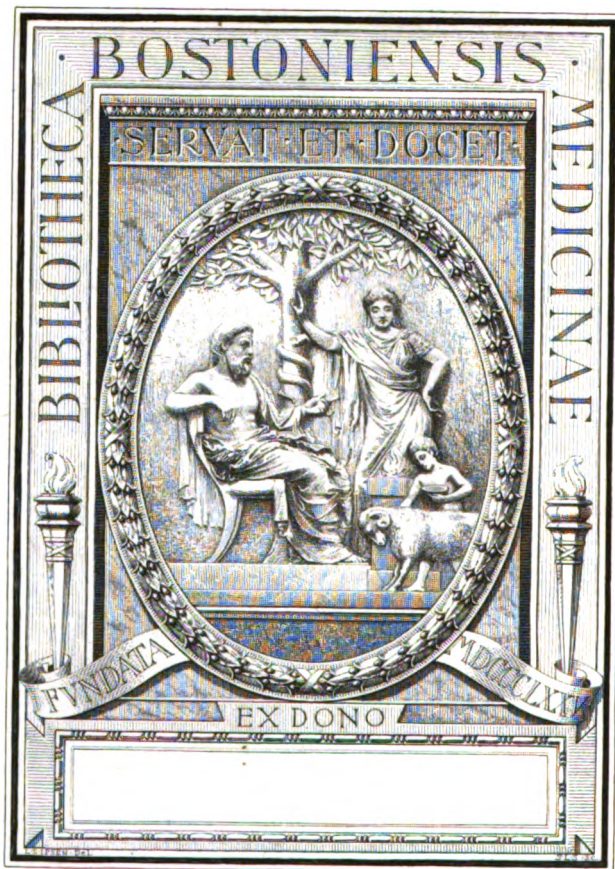
- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an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

Über Google Buchsuche

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



*Zentralblatt für Bakteriologie,
Parasitenkunde und ...*



CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XL. 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.

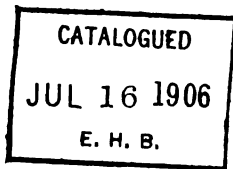
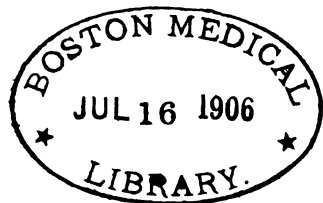
Erste Abteilung. XL. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

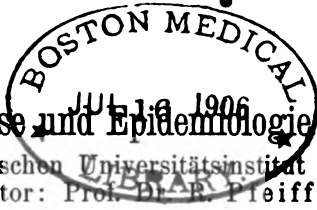
Originale.

Mit 16 Tafeln und 64 Abbildungen im Texte.

J e n a ,
Verlag von Gustav Fischer.
1906.



8970



Nachdruck verboten.

Beiträge zur Diagnose und Epidemiologie der Diphtheritis¹⁾.

[Aus dem kgl. hygienischen Universitätsinstitut zu Königsberg i. Pr.
(Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Privatdozent Dr. Robert Scheller,

Assistent am kgl. hygienischen Universitätsinstitut zu Königsberg i. Pr.

Als vornehmste Aufgabe der modernen Hygiene ist unzweifelhaft jetzt die sachgemäße Seuchenbekämpfung anzusehen.

Wohl war man schon in den ältesten Zeiten bemüht, den gekannten Seuchen durch teilweise noch drakonische Maßregeln die Spitze zu bieten; allein eine konsequente und erfolgreiche Bekämpfung der einzelnen Seuchen wurde in den letzten Jahrzehnten durch die epochale Entdeckung Kochs und seiner Schüler auf dem Gebiete der Bakteriologie angebahnt.

Mit der Erkennung der Krankheitserreger wurde in vielen Fällen der Schlüssel gegeben zu der Erforschung des häufig sehr komplizierten Infektionsmechanismus; zugleich konnte erst jetzt durch zielbewusste bakteriologische Untersuchungen die Art und Weise der Uebertragung von Mensch zu Mensch, sei sie eine direkte oder indirekte, näher studiert werden.

Während man sich früher hauptsächlich als Arzt nur mit den erkrankten Individuen zu beschäftigen hatte, ist jetzt nimmermehr mit der Behandlung der erkrankten Individuen allein die Aufgabe des Arztes, speziell des Hygienikers, erschöpft; vielmehr ist es mehr und mehr zum Bewußtsein auch weiterer ärztlicher Kreise gedrungen, den gesunden Menschen zu schützen und hierin den Hauptangriffspunkt der Seuchenbekämpfung zu sehen.

Neben allgemeinen Gesichtspunkten, die bei der Bekämpfung aller Seuchen zu gemeinsamen Maßregeln führen, haben wir jedoch bei der Bekämpfung der einzelnen Seuche weitgehend zu individualisieren. Sind doch die Wege der Uebertragung sowie Verbreitung und Ansteckungsgefahr bei jeder einzelnen Seuche verschieden.

Mit am schwierigsten ist die Bekämpfung der Diphtherie. Die klinische Erkennung der einzelnen Krankheitsfälle bietet mannigfache Schwierigkeiten und ist zumeist ohne die bakteriologische Diagnose mit Sicherheit nicht ermöglicht. Wenn auch schon früher die bösartige Form der Anginen, welche epidemisch auftraten, klinisch von den gewöhnlichen Anginen getrennt wurde, so ist dennoch erst eine scharfe ätiologische Trennung mit der Entdeckung der Diphtheriebacillen durch Loeffler (1) ermöglicht worden. Die Entdeckung Loefflers (1) wurde durch die Arbeiten Roux und Yersins (2), v. Behrings (3), Ehrlichs (4), Wernickes (5), Escherichs (6), Abels (7) u. A., welche die ätiologische Ursache der Diphtherie genauer erforscht haben, weiter ausgearbeitet und gestützt. Die Methodik der Untersuchung selbst wurde durch die Entdeckung der Körnchenfärbung durch Babes (8) und Ernst (9) wesentlich erleichtert und verbessert. Die Technik der

1) Als Habilitationsschrift der hohen medizinischen Fakultät der kgl. Albertus-Universität zu Königsberg i. Pr. am 10. Mai 1905 überreicht.

Körnchenfärbung wurde namentlich durch M. Neisser (10) sehr vervollkommnet.

Ich möchte vor allem mit einigen Worten die Einwände erwähnen, welche gegen den Wert der bakteriologischen Diagnose bei der Diphtherie erhoben wurden.

Vor allem wird stets hervorgehoben, daß die Diagnose der Diphtheriebacillen dadurch erschwert oder illusorisch gemacht werden kann, daß andere Bakterien als Diphtheriebacillen angesehen werden können. Es kommen hier in Betracht die sogenannten Pseudodiphtheriebacillen, Xerosebacillen, Hoffmannsche Stäbchen etc., die in den Untersuchungspräparaten häufig zur Verwechslung mit Diphtheriebacillen Veranlassung geben sollen.

Als weiterer Einwand wird eingeworfen, daß nicht immer auch wirkliche Diphtheriebacillen als solche erkannt werden müssen, da oft atypische Wachstumsweise derselben die Diagnose fast unmöglich machen kann. Ferner wird meistens gegen die bakteriologische Diagnose der Einwand erhoben, daß einerseits bei sicherer klinischer Diagnose „Diphtherie“ keine Diphtheriebacillen gefunden werden, andererseits aber bei Nichtdiphtheriefällen Diphtheriebacillen nachweisbar seien. Schließlich wird von einer Reihe von Autoren, so namentlich von Baumgarten (11), Zupnik (12) u. A. die Spezifität der Diphtheriebacillen angezweifelt. Als Stütze für diese Auffassung bringen diese Autoren verschiedene Einwände ins Treffen, so z. B., daß die Diphtheriebacillen ubiquitär seien, da sie sich auch bei Gesunden vorfinden, daß fernerhin die Beobachtung, nach welcher von Diphtheriebacillenträgern, die selbst nicht erkrankt sind, andere Individuen mit Diphtherie angesteckt werden, für die Nichtspezifität der Diphtheriebacillen deutlich spreche.

Ich glaube, daß nach den Arbeiten von M. Neisser (10), Neisser und Heymann (10), Prip (13), Kober (13), Gabritschewsky (15) u. A. die ätiologische Bedeutung der Diphtheriebacillen für die Diphtherie nicht mehr in Frage gestellt werden kann, daß fernerhin auch der Wert der bakteriologischen Diphtheriediagnose durch diese Autoren erfolgreich verteidigt worden ist; dessenungeachtet hoffe ich in folgenden Ausführungen auf Grund von über 5000 Diphtherieuntersuchungen, die ich in den letzten 1½ Jahren anzustellen Gelegenheit gehabt habe, und auf Grund der hierdurch gewonnenen Erfahrung einige wesentliche Beiträge zur Diagnose, Epidemiologie und Bekämpfung der Diphtherie liefern zu können.

Es sei mir zunächst gestattet, da bisher noch keine Mitteilung über unsere Diphtheriestation erfolgt ist, einiges über die Einrichtungen derselben zu sagen.

Das Verdienst, die Diphtherie-Untersuchungsstation am hiesigen „Hygienischen Institut“ geschaffen zu haben, gebührt Herrn Professor v. Esmarch, der 1894/95 als damaliger Direktor des Institutes unter großem Müheaufwand und unter Mitwirkung der Behörden die Station gründete und die beteiligten Aerztekreise für dieses gemeinnützige Unternehmen zu interessieren wußte. Die Errichtung dieser Station bewährte sich gleich von Anfang an, indem immer weitere Kreise Proben zwecks Stellung von Diagnosen an das Institut gelangen ließen. Die Untersuchung der Probe erfolgte stets kostenlos, mit Ausnahme eines kleinen Zeitraumes, in welchem für die Untersuchung einer einzelnen Probe 1,50 M. für Bemittelte berechnet wurde; da aber während der Zeit dieser letztgenannten Einrichtung die Zahl der eingelaufenen Fälle

um ein bedeutendes zurückgegangen war, so wurde fürderhin von einer Honorierung dieser Untersuchungen Abstand genommen. Die Frequenz der Untersuchungsstation war:

im Etatsjahre	1896/97	787 Fälle	im Etatsjahre	1901/02	449 Fälle
"	"	1897/98 638	"	"	1902/03 1786
"	"	1898/99 452	"	"	1903/04 2646
"	"	1899/1900 506	"	"	1904/05 3199
"	"	1900/01 516	"	"	"

Die Ursache für die so erhebliche Steigerung in der Frequenz der Station in den letzten Jahren liegt in den unermüdlichen Bestrebungen des Direktors des hygienischen Instituts Herrn Prof. Dr. R. Pfeiffer, die Aerzte über die Bekämpfung der Diphtherie aufzuklären. Es wurde so erreicht, daß immer mehr Aerzte sich zur Diagnosestellung unserer Station bedienten. Auch die Anregung, die Herr Prof. Pfeiffer den hiesigen Aerzten gab, möglichst oft die Kranken und die Rekonvaleszenten bakteriologisch untersuchen zu lassen, wurde von den Aerzten in weitgehendster Weise befolgt. Außerdem war es mir selbst vergönnt, durch persönliche Rücksprache mit vielen Aerzten diese für die Stellung der bakteriologischen Diagnose zu interessieren und sie namentlich zur Untersuchung der gesunden Familienmitglieder zu veranlassen.

Die Bedeutung dieser beiden Maßnahmen wird im Verlaufe dieser Arbeit an anderer Stelle erörtert werden.

Ich möchte zunächst den Gang der bakteriologischen Diagnose, wie sie an unserer Untersuchungsanstalt vor sich geht, eingehend schildern und im Anschluß daran meine Erfahrungen über die Diagnose der Diphtheribacillen mitteilen.

Methodik der bakteriologischen Untersuchung diphtherieverdächtiger Objekte.

In jeder Apotheke ist der Entnahmeapparat vorrätig: Ein Holzkästchen, enthaltend eine Gebrauchsanweisung (mit Rubriken zur Ausfüllung seitens des Arztes) sowie ein Reagenzrohr, in welchem an der Innenseite des verschließenden Korkes an einem Metallstabe ein Wattebausch zum Abtupfen befestigt ist. (Das Ganze ist natürlich zuvor im Institut in der Hitze sterilisiert.) Dazu erhältlich ist ein undurchlässiges Kuvert, das mittelst einer Spange verschlossen wird, und da es unsere Adresse gleich vorgedruckt trägt, sogleich als Muster ohne Wert in den nächsten Briefkasten geworfen werden kann. Die Kästchen werden aus dem Grunde möglichst flach hergestellt, damit die ganzen Päckchen in die Oeffnung der Briefkästen bequem hineingehen und den Aerzten resp. den Angehörigen des Patienten ein Weg bis zur Hauptpost erspart werden kann. Es erwies sich aber bezüglich rascherer Erledigung der Untersuchungen doch am vorteilhaftesten — ich nahm Gelegenheit, privatim es den meisten Aerzten mitzuteilen — die Proben durch Boten in das Institut zu senden, da doch so meistens ein halber Tag Vorsprung in der Beantwortung erzielt wird. Die angekommenen Proben werden von dem Assistenten (nur in dessen Abwesenheit von dem Diener) unter rollender Bewegung der Bäschen auf Loefflersche Serumplatten ausgestrichen, die Daten protokolliert, das Gläschen mit seiner Protokollnummer versehen und aufgehoben. Von einer sofortigen Untersuchung der Proben im Deckglaspräparat haben wir meistens aus dem Grunde Abstand genommen, weil wir leider in außerordentlich zahlreichen so untersuchten Fällen die Erfahrung machen konnten, daß

diese Art der Untersuchungen nicht Beweiskraft hat. Wohl kann man hier und da in besonders geeigneten Fällen die Diagnose stellen, aber dies wird nur dann zutreffen, wenn wir die Diphtheriebacillen im Deckglaspräparat in Häufchen beobachten können; anderenfalls erlebt man oft schwere Enttäuschungen. Eine Probe, in der wir anfangs mit Sicherheit Diphtheriebacillen diagnostizieren zu können glauben, erweist sich späterhin bei der Untersuchung der Platte als nicht diphtherieverdächtig. Oft sieht man im direkten Ausstrichpräparat Bacillen mit diphtheriebacillenähnlicher Körnchenfärbung, während man später im Plattenpräparat keine derartigen Bacillen eruieren kann. Es sind dies harmlose Mundbacillen, die überhaupt nicht bei höherer Temperatur wachsen. Umgekehrt können scheinbar im Deckglaspräparat diphtherieverdächtige Stäbchen fehlen, während im Plattenpräparat zahlreiche Diphtheriebacillen nachweisbar sind. Die direkten Ausstrichpräparate sind nur dann beweisend, wenn die Diphtheriebacillen nicht sehr spärlich vorkommen.

Die Platten werden bei einer Brutschranktemperatur von 35° belassen. Was die Zeit der Untersuchung der Platten anlangt, so konnte ich mich überzeugen, daß der allerfrüheste Termin einer erfolgreichen Untersuchung nach 4 Stunden Brutschranktemperatur beginnt. Diese Minimalzeit aber führt in den allerseltensten Fällen zu einem Resultat; häufiger kann man bereits die Diagnose zwischen 5—6 Stunden Brutschranktemperatur stellen. Die Kolonien sind dann bereits häufig typisch, ebenso die Bakterien von typischer Gestalt; trotzdem aber versagt zu dieser Zeit die Neisser'sche Doppelfärbung, wie ich mich überzeugen konnte, noch ganz oder teilweise; dennoch aber läßt sich in solchen Fällen bereits die Diagnose stellen, wenn die Bacillen in mikroskopischen Präparaten in der typischen Anordnung die charakteristische Diphtheriebacillengestalt zeigen. Die Färbung ist in diesen Fällen am besten mit Methylenblau oder Fuchsin vorzunehmen. Manchmal sieht man mit diesen beiden Reagentien bereits Körnchenfärbung, in Fällen, in denen die Neisser'sche Körnchenfärbung wegen der zu frühzeitigen Anstellung der Untersuchung versagt. Besser sind die Chancen einer Untersuchung zwischen der 8.—9. Stunde, jedoch auch hier ist ein negatives Resultat noch nicht beweisend. Es ist vielleicht von Interesse, einen Fall zu erwähnen, wo ich nach 10 Stunden, also zu einer Zeit, die man allgemein bereits als sicher entscheidend ansieht, nur Diplokokken und Streptokokken fand, am nächsten Morgen aber Diphtheriebacillen in größerer Menge alles andere beinahe überwuchernd.

Die Verschiedenheit in der Wachstumsenergie der Diphtheriebacillen hängt hier wohl von dem Schicksal, welches diese Bacillen vor oder nach ihrer Entnahme aus der Rachenhöhle zu erdulden hatten, ab. So können, wie auch Neisser betont, Spuren von früher angewandten Munddesinfizienten zwar nicht zerstörend, wohl aber wachstumhemmend auf die Diphtheriebacillen einwirken, die sonach eine Verlangsamung ihres Wachstums aufweisen. In ganzen werden die Diphtheriebacillen von den Desinfizienten in und außerhalb der Mundhöhle in ihrer Wachstumsenergie stärker geschädigt, als die übrigen bei der Untersuchung in Frage kommenden Begleitbakterien. Andererseits scheint auch die Art und Dauer des Transportes der Untersuchungstupfer nicht unwesentlich auf die Wachstumsenergie der Diphtheriebacillen auf den Platten einzuwirken. Längeres Offenliegen der Röhrcchen bei Lichteinwirkung, längerer Aufenthalt in großer Wärme ist dem späteren Wachstum der Diphtheriebacillen nicht gedeihlich. Alle diese Schädigungen, namentlich

Desinfektion der Mundhöhle in nicht allzu langer Zeit vor der Entnahme der Probe, können zur Folge haben, daß entweder die Platten ganz steril bleiben, oder das trotz vorhandener Diphtherie die Diphtheriebacillen, die viel empfindlicher für Desinfizientien etc. als die mit ihnen gleichzeitig betroffenen Kokken sind, nicht zum Wachstum gelangen können, während Streptokokken etc. auf der Platte, freilich in spärlichem Wachstum, auffindbar bleiben. Ebenso kann, wie in dem bereits oben erwähnten Falle, das Wachstum der Diphtheriebacillen infolge angewandter Desinfizientien eine Verzögerung erfahren. Darum auch auf unseren Anweisungen das leider zu wenig beachtete Verbot, innerhalb eines Zeitraumes von 2 Stunden vor der Entnahme der Probe desinfektorisch den Mund zu spülen. In Fällen von spärlichem Wachstum wird uns aber dieses bereits auf die Möglichkeit hinweisen, daß Desinfizientien angewandt worden waren.

Kommen wir nun zurück zur Zeit der Untersuchung, so eignet sich, was die Sicherheit des Befundes sowie die Färbbarkeit der Bakterien anlangt, am besten die Zeit von 11–13 Stunden nach der Einsendung, natürlich vorausgesetzt, daß man genügend Personal und Zeit zur Verfügung hat, die Probe mehrfach — also auch früher — zu untersuchen.

Zur Untersuchung werden mindestens 2 gefärbte Präparate hergestellt; eines mit Loefflerscher Methylenblaulösung, die sich mir als zweckmäßiger als die ebenfalls häufig angewendete Fuchsinlösung erwies, das andere mit der neuen Neisserschen Doppelfärbung¹⁾.

Haben nun die Bacillen die typische Form und Lagerung, weisen sie Doppelfärbung auf, so haben wir es fast unzweifelhaft mit Diphtheriebacillen zu tun; ja wir können beinahe auf die einfache Färbung (mit Methylenblau oder Fuchsin) verzichten, da bei der neuen Neisserschen Färbung die Form der Bakterien bei brillanter Körnchenfärbung ausgezeichnet zu Tage tritt.

Der Vorwurf, der von mancher Seite gegen die Neissersche Doppelfärbung erhoben wird, daß noch so und soviel andere Bacillen Neissersche Färbung zeigen, ist nicht stichhaltig; wohl kann ich bestätigen, daß eine große Reihe von Bakterien die Neissersche Färbung annehmen, ja ich könnte zu der Zahl der bekannten Bacillen eine ganze Anzahl von anderen hinzufügen, allein für den Geübten ist eine Verwechselung aller dieser Bacillen kaum möglich. Die Form auch einzeln liegender Diphtheriebacillen im Klatschpräparate hat für den Geübten doch so charakteristische Züge, daß sie kaum zu verkennen sind, ein Urteil, welches dann auch meistens durch deutlicheren Befund an anderer Stelle des Präparates bestätigt wird. Jedenfalls muß ich uneingeschränkt zugeben — ich war im Beginn meiner Untersuchungen entgegengesetzter Meinung — daß die neue Neissersche Diphtheriebacillenfärbung für jeden, der mit den Untersuchungen dieser Art vertraut ist, die souveräne diagnostische Diphtheriebacillenfärbung ist. Wenn namentlich

1) Die Neissersche Angabe lautet:

Lösung a:	
Methylenblaupulver	1,0
Alkohol	20,0
Aq. dest.	1000,0
Acid. acet. glac.	50,0

Lösung b:	
Krystallviolett	Höchst 1,0
Alkohol	10,0
Aq. dest.	300,0

Von Lösung a 2 Teile, von Lösung b 1 Teil, Färbungsdauer etwa 1 Sekunde, Abspülen mit Wasser, sofortige Nachfärbung mit Chrysoidin (1 g in 300 ccm heißen Wassers gelöst und filtriert), Färbungsdauer etwa 3 Sekunden, Abspülen mit Wasser.

in allerletzter Zeit von Autoren, z. B. von Blumenthal und Lipskerow gemeldet wird, daß die Neissersche Diphtheriebacillenfärbung im Stiche ließe, so hat dies wohl darin seinen Grund, daß Neisser die Zeitdauer der Färbung mit Lösung 1 (1 Sekunde) und mit Lösung 2 (3 Sekunden) zu gering angibt. Ich konnte mich davon überzeugen, daß es am vorteilhaftesten ist, beide Farbstoffe je ca. 10—15 Sekunden, unter Umständen auch noch länger, einwirken zu lassen. Ich kann hier nicht genügend betonen — es ergibt dies die Uebung nach vielfach vorgenommenen Untersuchungen — daß es hier, wie auch sonst bei beinahe allen anderen Färbungsmethoden, notwendig ist, in der Zeit der Einwirkung der Farbstoffe bei jedem einzelnen Präparat zu individualisieren. Was die Neissersche Färbungsmethode mir besonders wertvoll macht, ist der Umstand, daß in Gemischen von Diphtheriebacillen mit anderen Bakterien ja auch in jenen Fällen, wo die anderen Bakterien die Diphtheriebacillen beinahe gänzlich überwuchert haben, die Diphtheriebacillen nach Neisser mit einer Deutlichkeit elektiv gefärbt, selbst in einem dichten Haufen der anderen Bakterienflora, die im Gegensatz zu den Diphtheriebacillen meist sehr blaß gefärbt ist, oftmals zu Tage treten, während man sowohl nach Färbung mit Methylenblau als auch mit Fuchsin nicht das mindeste von Diphtheriebacillen sehen kann. Außerdem läßt die neue Neissersche Färbung auch die Struktur und die Form der Diphtheriebacillen sehr deutlich zu Tage treten, was bei anderen Doppelfärbungen nicht in gleichem Maße der Fall ist. Bei guter Einwirkung beider Farblösungen werden Pseudodiphtheriebacillen stets ungekörnert dargestellt. Es ist aber hier nochmals zu betonen, daß sich für die Diagnose nach 5 Stunden die Neissersche Färbung nicht eignet, daß aber trotzdem bei Anwendung von Loefflerschem Methylenblau Form und Gestalt sowie Struktur der Diphtheriebacillen deutlich und typisch zu Tage treten und so die Diagnose oftmals mit Sicherheit gestellt werden kann.

Ich möchte darauf hinweisen, daß, wie auch Neisser mit Recht hervorhebt, es hauptsächlich die weniger geübten Bakteriologen sind, die unter der Konkurrenz dieser sogenannten Pseudodiphtheriebacillen zu leiden haben. Ich selbst konnte mich davon überzeugen, daß, je weiter meine Erfahrung in der Diphtheriediagnose fortschritt, ich immer weniger Pseudodiphtheriebacillen zu Gesicht bekam. Das, was Anfänger oder Mindergeübte für Pseudodiphtheriebacillen ansehen, sind Bacillen von ganz anderer Natur, die mit Pseudodiphtheriebacillen gar nichts zu tun haben. Es ist vielleicht bemerkenswert, daß ich in den letzten 1500 Untersuchungen kein einziges Mal Pseudodiphtheriebacillen finden konnte. Wenn wirklich „Pseudodiphtheriebacillen“ konstatiert werden konnten, so lag meistens nach meinen Erfahrungen die Vermutung nahe, daß echte Diphtheriebacillen sich an anderen Stellen des Präparates vorfinden würden. Die weitere Untersuchung bestätigte meist diese Annahme. Nur selten war es mir vergönnt, Pseudodiphtheriebacillen ohne gleichzeitiges Vorhandensein von Diphtheriebacillen zu beobachten. Besonders häufig fand ich pseudodiphtheriebacillenähnliche Kolonien neben typischen Diphtheriebacillen in der Diphtherierekonvaleszenz. Wurden diese „Pseudodiphtheriebacillen“ aber umgezüchtet, so erwiesen sie sich manchmal als echte typische Diphtheriebacillen, die nunmehr auch Körnchenfärbung und Tierpathogenität zeigten. Bemerkenswert ist es auch, daß bei Nasendiphtherie die Diphtheriebacillen, wie bereits Reichenbach angegeben hat, und wovon ich mich wiederholt überzeugen konnte

in zumeist kürzeren, plumperen Formen vorkommen, welche dem Mindergeübten eventuell Veranlassung zu der Fehldiagnose: „Pseudodiphtheriebacillen“ geben könnten. Die Diagnose „Diphtherie“ wird aber in solchen Fällen meistens dadurch erleichtert, daß neben diesen kürzeren Formen von Diphtheriebacillen auch die typischen schlanken Formen von Diphtheriebacillen zu finden sind, und daß ferner bei Umzüchtung auch die plumperen Formen die typische schlanke Diphtheriebacillengestalt annehmen. Auch zeigen diese plumperen Diphtheriebacillenformen im Gegensatz zu den Pseudodiphtheriebacillen meistens eine deutliche sichtbare Körnchenbildung, die bei den Pseudodiphtheriebacillen niemals in so starker Ausdehnung vorkommt. Mit einem Worte, die Pseudodiphtheriebacillen spielen bei der Diagnose der Diphtherie keineswegs die Rolle, die ihnen von vielen Seiten zugeschrieben wird. Fernerhin wird hervorgehoben, was auch Neisser erwähnt, daß in manchen Untersuchungsmaterialien (Exsudaten etc.) Bacillen gefunden werden, die auf Grund der morphologischen Diagnose für Diphtheriebacillen angesehen werden können, ohne daß es solche sind. Auch hier muß man Neisser Recht geben, wenn er behauptet, daß erstens diese Fälle äußerst selten sind, daß fernerhin aber das Material, mit welchem man untersucht, schon eo ipso darauf aufmerksam machen wird, daß es sich hier trotz anscheinend morphologischer Aehnlichkeit nicht um Diphtheriebacillen handeln dürfte. Im übrigen werden auch hier weitere Züchtungen sowie Tierversuche die Identität mit Diphtheriebacillen ausschließen können.

Der Einwand, daß nicht immer auch wirkliche Diphtheriebacillen als solche erkannt werden müssen, ist auch nicht stichhaltig. Wenn auch die Form der Diphtheriebacillen sehr variabel ist, so daß oft Formen ins Auge fallen, die auf den ersten Blick nicht immer als Diphtheriebacillen anzusprechen sind, so ist dies erstens äußerst selten, fernerhin aber können in solchen Fällen meistens neben den atypischen Formen bei genauer Untersuchung Stellen im Präparat gefunden werden, wo typische Diphtheriebacillen in typischer Anordnung die Diagnose der Diphtherie sichern. Sollten übrigens in solchen Fällen bei mehrmaliger Untersuchung einer Platte stets Bacillen gefunden werden, die, obzwar diphtherieverdächtig, doch nicht mit Sicherheit als Diphtheriebacillen angesprochen werden können, so wird eine Umzüchtung der Bacillen sowie der Tierversuch mit unzweideutiger Sicherheit die Diagnose „Diphtherie“ feststellen oder verwerfen.

Wie gesagt: Die Diagnose ist nur bei großer Uebung und Erfahrung mit Sicherheit zu stellen, wenn diese nicht vorhanden ist, ist freilich eine Verwechslung mit Xerose-Bacillen, Hoffmannschen Bacillen etc. möglich.

Die Antwort an die Aerzte erfolgt entweder auf telephonischen Anruf hin oder sonst schriftlich mittelst einer frankierten Postkarte. Bei Einsendung von 50 Pfg. in Marken wird sogleich nach erfolgter Untersuchung das Resultat telegraphisch mitgeteilt. Es kommen auch hier und da freilich, wie erwähnt, Fälle vor, wo die Diagnose sich vorläufig als zweifelhaft erweist: Die Bacillen haben die richtige Größe, Form und Struktur, nur die Körnchenfärbung weisen sie nicht auf. In solchen Fällen muß man, wie bereits mitgeteilt, reinzüchten, und oft werden die Bacillen nach einer Umzüchtung typisch, worauf man die Diagnose Diphtheriebacillen stellen kann. Ganz vereinzelt kommen auch Fälle zur Beobachtung, wo auch die Reinkultur einen Zweifel aufkommen

läßt, d. h. wo vielleicht Größe und Form atypisch ist. In solchen Fällen stellt man dann zwar vorläufig die Wahrscheinlichkeitsdiagnose: Diphtheriebacillen, wird sich aber durch den Tierversuch von der Richtigkeit dieser Diagnose vergewissern. Wir haben eben gehört, daß die Diagnose in der Mehrzahl der Fälle sich nicht vor 11—12 Stunden — und kamen die Proben erst in den späteren Nachmittagsstunden — nicht vor dem nächsten Morgen ganz sicher stellen läßt. Fragen wir uns nun, ob dieser kleine Aufschub der Diagnose eine allzu große Tragweite hat, so müssen wir dieses dahin beantworten, daß wir stets dem Arzte den Rat geben, in nur irgendwie diphtherieverdächtigen Fällen prinzipiell nicht einmal die Minimalzeit von 5—6 Stunden bis zur Diagnosestellung abzuwarten, sondern jedenfalls je eher desto besser eine Seruminjektion vorzunehmen. Da nun in zweifelhaften Fällen der Arzt eo ipso eine Isolation des Kranken sofort vornehmen wird, so werden die wenigen Stunden Verzögerung in solchen Fällen nicht in Betracht kommen; dennoch ist die Untersuchung unerlässlich, da nur zu oft die Diagnose des Arztes als nicht zu Recht bestehend sich erweist; andererseits eine Bestätigung des ärztlichen Befundes durch die bakteriologische Untersuchung dem Arzte von großem Wert sein muß. Hierüber werde ich späterhin noch im Zusammenhange zu sprechen haben.

Um den Wert der Diphtherieuntersuchungen und die Bedeutung der bakteriologischen Diagnose zu kennzeichnen, dürfte es wohl am besten sein, an der Hand einer statistischen Uebersicht über 2982 Fälle, die vom 1. September 1903 bis 31. August 1904 von mir untersucht wurden, eine nähere Erörterung der Einzelheiten vorzunehmen. Bei der detaillierten Besprechung der einzelnen Punkte werden auch Fälle und Er-

Tabelle I.

Klinische Diagnose	Gesamtzahl	Diphtheriebacillen	
		positiv	negativ
Diphtherie mit Belag	728	508 (70 %)	220
Diphtherie ohne Belag	137	51 (37 %)	86
Angina mit Diphtherieverdacht oder ungewisse Diphtherie	192	95 (50 %)	97
Nachuntersuchungen während der Diphtherierekonvaleszenz	850	406 (48 %)	444
Angina mit Belag	465	145 (31 %)	320
Angina ohne Belag	136	15 (11 %)	121
Gesunde Angehörige von Diphtheriekranken	248	108 (38 %)	176
Larynxstenose oder Larynxkrup oder stenotisches Atmen	22	7 (32 %)	15
Conjunctivitis diphtherica	2	1	1
Afterdiphtherie	1	1	0
Vulvadiphtherie	1	1	0
Wunddiphtherie	1	1	0
Rhinitis (mit Diphtherieverdacht)	34	19 (56 %)	15
Scharlachdiphtherie	3	1	2
Bräune	1	1	0
Otitis media postdiphtherica	8	8	0
Influenza Angina	1	0	0
Gesunde, die nicht mit Diphtheriekranken in Berührung gekommen waren	16	0	17
Ohne Diagnose	100	33 (33 %)	67
Insgesamt	2982	1401 (47 %)	1581

fahrungen berücksichtigt werden, die sich aus den übrigen nicht in der Tabelle (p. 8) gezählten Untersuchungen ergeben.

Mit der Diagnose „Diphtherie“ eingesandte Untersuchungsproben.

Betrachten wir diejenigen Fälle, welche mit der klinischen Diagnose einer „typischen Diphtherie mit Belag“ uns eingesandt wurden, so ergibt sich, daß in 70 Proz. der Fälle diese Diagnose von uns bestätigt werden konnte; freilich ist dabei zu bemerken, daß viele der von uns als negativ befundenen Fälle sich nur im Anfang als diphtherieverdächtig erwiesen, späterhin, wie mir öfters die Aerzte mitteilen konnten, sich als einfache Angina manifestierten.

Freilich gibt es auch Fälle — auch solche kamen uns zur Beobachtung — in denen der ganze Verlauf der Erkrankung vollkommen dem Charakter der Diphtherie entspricht, wo wir aber trotz alledem bei selbst mehrfacher Untersuchung keine Diphtheriebacillen nachweisen konnten. Es sind dies eben jene, wenn auch schweren und diphtherieähnlichen Halsentzündungen, die jedoch mit echter Diphtherie nichts gemein haben und trotz der pathologisch-anatomischen und klinischen Aehnlichkeit sich ätiologisch scharf von der echten Diphtherie abheben. In den allermeisten Fällen ergab der weitere klinische wie epidemiologische Verlauf resp. die Sektion, daß es sich hier um ganz andere nicht diphtherische Prozesse gehandelt hat. Die irrtümliche Auffassung mancher Autoren, daß die echte Diphtherieerkrankung nicht durch die Diphtheriebacillen bedingt sei, ist heute nach den vorzüglichsten Untersuchungen mannigfachster Art von ganz autoritativer Stelle kaum mehr zu verstehen. Auch unsere Untersuchungen ergaben stets, d. h. mit wenigen Ausnahmen, das Resultat, daß, wo wir Diphtheriebacillen nachweisen konnten, es sich auch klinisch und epidemiologisch um wirkliche Diphtherieerkrankungen gehandelt hat, in den meisten der anderen Fälle aber es sich doch auf die eine oder andere Weise dokumentiert hat, daß Diphtherie nicht vorliegt. War auch das klinische Bild ein diphtherieähnliches oder gleiches, so konnte doch zumeist aus dem epidemiologischen Verhalten Diphtherie ausgeschlossen werden.

Welche Tragweite hat nun die Feststellung, ob ein klinisch als Diphtherie diagnostizierter Fall wirklich Diphtherie ist oder nicht?

Bei wohlhabenden Leuten wird wohl in jedem Falle, sei es nun Diphtherie oder nicht, der Patient isoliert werden, indem, wenn möglich, die anderen Angehörigen aus seiner Nähe entfernt werden. Bei armen Leuten wird ein solcher Kranker aber meistens in das Krankenhaus geschafft und daselbst auf die Diphtheriestation gebracht. Es ist nun sehr leicht möglich, daß ein Kranker, der mit der Diagnose Diphtherie in das Krankenhaus geschafft wird, obzwar es sich durch bakteriologische Untersuchung feststellen ließe, daß keine Diphtherie vorliegt, auf der Diphtheriestation erst mit Diphtherie angesteckt wird und in seiner Gesundheit schwer geschädigt, ja eventuell in seinem Leben gefährdet wird. Wenn auch solche Fälle nicht zur Mitteilung gelangt sind, so muß man dennoch an die Möglichkeit eines derartigen Vorkommnisses denken und daher in sämtlichen Fällen, in denen die klinische Diagnose Diphtherie gestellt wird, wohl den Kranken sofort isolieren, nicht aber mit Diphtheriekranken zum Zwecke der Absonderung zusammenbringen, ehe nicht die bakteriologische Untersuchung den klinischen Befund bestätigt hat.

Von besonderem Werte erwies sich die Bestätigung der klinischen

Diagnose „Diphtherie“ durch die bakteriologische Untersuchung namentlich dort, wo es sich um erste Erkrankungen an einem Orte, in einer Schule u. s. w. handelte; die betreffenden Kreisärzte gaben stets das Zeugnis, daß unser Befund für die Sicherheit ihres Handelns angesichts der großen sozialen Tragweite der zu treffenden Maßnahmen von unschätzbarem Werte gewesen sei.

Sind die Fälle klinisch mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit als Diphtherie diagnostiziert, so muß man, selbst wenn unser Befund negativ ist, dennoch in solchen Ausnahmefällen diejenigen Maßnahmen treffen, die man bei jedweder Diphtherieerkrankung trifft, ausgenommen das Zusammenlegen des Patienten mit anderen an Diphtherie erkrankten Personen; denn wie wir uns nachträglich überzeugen konnten, kam es hin und wieder in ganz vereinzelt Fällen vor, daß wir trotz mehrfacher Untersuchung in Fällen von wirklicher Diphtherie zunächst keine Diphtheriebacillen finden konnten und erst später bei Komplikationen Diphtheriebacillen nachweisen konnten. Es hängt dies entweder von der Art der Entnahme ab oder von dem Sitze der diphtherischen Erkrankung oder auch von der unzweckmäßigen Anwendung von Desinfizientien.

Fernerhin kann es unter Umständen bei sehr dicken Belägen vorkommen, daß die Diphtheriebacillen in der Tiefe des Gewebes sich befinden, während sie oberflächlich durch Desinfizientien oder andere äußere Einflüsse zeitweise verschwunden sind. Dieser Umstand dürfte auch bei 3 Fällen wirklicher Diphtherie (es waren unter den 5000 untersuchten Fällen die einzigen, bei denen wir trotz echter Diphtherie keine Diphtheriebacillen finden konnten) die Ursache für die Inkongruenz unseres Befundes und der tatsächlichen Erkrankung bilden. Diese Serie von 3 Fällen von Diphtherieerkrankung in einer und derselben Familie, bei denen wir trotz mehrfacher Untersuchung in der Rachenhöhle keine Diphtheriebacillen nachweisen konnten, wo aber dann später bei einem Kinde eine Mittelohrentzündung, die sich als von Diphtheriebacillen hervorgerufen erwies, die Diagnose Diphtherie feststellte, werde ich später eingehender erörtern. Jedenfalls ist die Zahl 70 Proz. eine zu niedrig gegriffene in Anbetracht des Umstandes, daß die allermeisten nur der von uns als positiv bezeichneten Fälle sich im weiteren klinischen Verlaufe als echte Diphtherie erwiesen, während die Fälle, bei denen unser Befund negativ war, sich später auch klinisch als Nichtdiphtherieen entpuppten.

In Fällen, in denen Diphtherie diagnostiziert worden war, trotzdem kein Belag vorhanden war, konnten wir in 37 Proz. der Fälle Diphtheriebacillen nachweisen. Es sind dies meistens solche Fälle gewesen, die sich nicht so sehr auf Grund der klinischen Erscheinungen als Diphtherie manifestierten, sondern mehr auf Grund von epidemiologischen Erwägungen mit der Diagnose Diphtherie uns zur Untersuchung übersandt wurden, teils sind es Fälle, wo irgend welche Familienmitglieder an Diphtherie erkrankt sind, der Patient aber nur einen leichten Fieberanfall hatte oder sonst sich unwohl zeigte, oder es sind Fälle von Erkrankungen von unbestimmten Symptomenkomplexen, die nur deshalb diphtherieverdächtig sich zeigten, weil zur Zeit der Erkrankung in dem betreffenden Orte oder vielleicht in demselben Hause eine Epidemie herrschte. Wenn 37 Proz. von solchen Fällen als Diphtherie wirklich diagnostiziert wurden, so ist es immerhin ein hoher Prozentsatz. Daß solche Fälle uns zur Untersuchung eingesandt wurden, ist aber andererseits hauptsächlich ein Erfolg der Erfahrungen, die wir gerade aus den

bakteriologischen Untersuchungen gesammelt haben. Wir haben kennen gelernt, daß zu Zeiten von Diphtherieepidemien auch leichteste Erkrankungen, die teilweise mit geringen Halsaffektionen, leichtesten Rötungen, manchmal aber auch ohne diese Rötung mit leichtem Fieber einhergehen, ätiologisch als Diphtherie aufzufassen sind und in ihrem epidemiologischen Verhalten ebenso zu behandeln sind wie die schwersten Diphtheriefälle. Ja gerade diese leichtesten aller Fälle sind es, welche die größte Gefahr für die Weiterverbreitung der Diphtherie in sich bergen für den Fall, daß sie nicht als Diphtherie diagnostiziert werden; denn die schweren Fälle, die als Diphtherie erkannt und rechtzeitig isoliert werden, sind bei weitem unschädlicher als jene leichten Fälle, die nicht einmal das Bett hüten, sondern ihrem Berufe auch während und nach der Zeit ihrer Erkrankung, da sie noch ansteckend sind, folgen.

Es könnte nun eingewandt werden, daß es sich vielleicht in den Fällen von leichtester Angina trotz unseres Diphtheriebacillenbefundes nicht um Diphtherie gehandelt habe, daß also die Diphtheriebacillen eben keine spezifische ätiologische Bedeutung für die Diphtherie haben. Darauf kann ich erwidern, daß diese Fälle einesteils, wie erwähnt, im Anschlusse an typische Diphtherieerkrankungen in der Umgebung auftraten, anderenteils aber durch direkte Uebertragung bei Angehörigen typische Diphtherie zur Folge hatten. Gerade der Umstand, daß solche Patienten mit Diphtheriebacillenbefund Angehörige mit klinisch typischer Diphtherie anstecken konnten, während dies bei fehlendem Diphtheriebacillenbefunde nie konstatiert wurde, entkräftet nicht nur den erwähnten Einwand, sondern ist ein untrüglicher Beweis für die Pathogenität der Diphtheriebacillen und ihre spezifische Bedeutung für die Diphtherie.

Untersuchungen von Proben, die mit der Diagnose „Angina mit Diphtherieverdacht“ oder „ungewisse Diphtherie“ eingesandt worden waren.

Wir kommen nun zu jenen Fällen, die uns mit der Diagnose „Angina mit Diphtherieverdacht“ oder „ungewisse Diphtherie“ eingesandt worden waren. Von den 192 erwiesen sich 95, also ca. 50 Proz., positiv. Es ist das eine ziemlich hohe Zahl in Anbetracht des Umstandes, daß eben hier die Aerzte nicht gewiß waren und zwischen Angina und Diphtherie schwankten. Auch hier gilt oft in vielen Fällen dasselbe, was oben bei den Fällen von „Diphtherie ohne Belag“ gesagt wurde, daß nämlich die Aerzte den Diphtherieverdacht oft nicht so sehr auf Grund der klinischen Symptome als vielmehr auf Grund von epidemiologischen Momenten aussprachen. Vielfach aber war hier im Anfang das Bild ein so undeutliches, daß der betreffende Arzt sich weder zu der einen noch zu der anderen Diagnose mit Sicherheit entschließen konnte. Sehr häufig fanden wir den Beweis der Richtigkeit der Diagnose darin, daß oft am nächsten Morgen, als wir den Arzt telephonisch von dem positiven oder negativen Befunde dieses oder jenes Falles verständigten, er uns auch mitteilen konnte, der betreffende Fall hätte sich auch so weiter entwickelt, wie es unserem bakteriologischen Befunde entspräche.

Nachuntersuchungen von Diphtherierekonvaleszenten.

Ich möchte nun das Kapitel „Nachuntersuchung“ einer näheren Erörterung unterziehen. Man stößt hier sowohl in Ärztekreisen wie auch in den Kreisen des Publikums häufig auf intensiven Widerstand; allein dessenungeachtet war es unseren Bemühungen geglückt, daß doch in einer sehr großen Anzahl von Fällen eine mehr minder lange dauernde Serie von Nachuntersuchungen vorgenommen werden konnten. In den Königsberger Schulen wird es auf Veranlassung Herrn Prof. Pfeiffers obligatorisch verlangt, daß Diphtherierekonvaleszenten erst dann die Schule besuchen dürfen, wenn bei ihnen bei der Untersuchung im hygienischen Institute keine Diphtheriebacillen mehr nachweisbar sind. Von dem Umstande, daß zum Schulbesuche auch Angehörige diphtheriekranker Kinder erst dann zuzulassen sind, wenn bei ihnen selbst sowohl als auch bei den in Frage kommenden Rekonvaleszenten keine Diphtheriebacillen mehr gefunden werden, werde ich noch später eingehender zu sprechen haben.

Bei der Verantwortung, die wir bei der Forderung von obligatorischen Nachuntersuchungen in gewissen Fällen auf uns laden, ist es von großer Wichtigkeit festzustellen, welchen Wert diese Nachuntersuchungen haben. Bei der Diphtherie ist es leider bekanntlich sehr schwer, die Gesunden prophylaktisch durch andere Maßnahmen zu schützen, als daß man ihr Zusammenkommen mit Diphtheriebacillenträgern verhütet. Der Wert der prophylaktischen Seruminjektion ist bisher noch nicht einstimmig als zu Recht bestehend anerkannt. Freilich melden verschiedene Autoren, daß bei prophylaktischen Masseninjektionen von Schulkindern oder Asylpfleglingen eine bis dahin immer stärker um sich greifende Diphtherieepidemie zum Stillstand gebracht werden konnte. Auch ich konnte mich von der unzweifelhaften Wirksamkeit einer derartigen prophylaktischen Seruminjektion überzeugen; aber freilich müssen wir daran erinnern, daß die Wirksamkeit einer derartigen prophylaktischen Immunisation eine zeitlich sehr begrenzte ist. Länger wie 3 Wochen hält eine derartige prophylaktische Maßnahme nicht die Gefahr der Ansteckung auf; zudem ist eine zweite spätere, ja selbst wenn auch 1—2 Jahre später vorgenommene Seruminjektion infolge der sich im menschlichen Körper bildenden, gegen die Antitoxine wirkenden Antikörper von sehr geringer und noch viel kürzerer Wirksamkeit. Es sind dies Vorgänge, wie sie Pfeiffer und Friedberger für die bakteriolytischen Seruminjektionen, Hamburger für die antitoxischen Sera nachweisen konnten. Wir haben also hier einerseits nicht die Möglichkeit, auf lange Zeit hinaus während einer Epidemie die Gesunden durch derartige Injektionen zu schützen, können leider auch nicht darauf rechnen, durch wiederholt vorgenommene derartige Injektionen einen dauernden Schutz zu gewähren. Unser Hauptbestreben muß daher darauf gerichtet sein, die Möglichkeit der Uebertragung der Diphtheriebacillen von den Diphtheriebacillenträgern auf die gesunden Individuen zu verhüten. Bei der Diphtherie ist dies nun viel schwieriger als bei anderen Krankheiten, da einerseits die Diphtheriebacillen sehr lange Zeit nach der Genesung noch virulent in der Mund- und Nasenhöhle der Rekonvaleszenten sich erhalten, andererseits auch, wie wir noch später besprechen werden, bei einem großen Prozentsatz der gesunden Angehörigen nachweisbar sind. Sowohl die Diphtherierekonvaleszenten als auch die gesunden Angehörigen sind für die mit ihnen Zusammenkommenden ebenso gefährlich wie die Diphtherie-

kranken selbst. Ich möchte hier auch betonen, daß ein Unterschied in der Ansteckungsfähigkeit von schweren und von leichten Kranken nicht besteht, daß in einer und derselben Familie sich im Anschluß an die leichtesten Diphtheriefälle des einen oder anderen Familienmitgliedes eine Reihe von anderen Familienmitgliedern anstecken, die dann oft eine sehr schwere Form der Diphtherie durchzumachen haben, umgekehrt habe ich auch beobachten können, daß Leute, die mit den schwersten Diphtheriekranken zusammenkamen, leichte oder gar abortive Form von Diphtherie zeigen. Hier muß nun die bakteriologische Untersuchung Aufschluß geben, ob die betreffenden Patienten resp. Rekonvaleszenten diphtherieansteckend sind oder nicht. Wenn auch die Aerzte in ihrer Praxis großen Schwierigkeiten hier und da begegnen, namentlich von seiten der einzelnen Krankenkassen, so dürfte es andererseits doch auch für die Aerzte von besonderem Werte sein, einen Maßstab zu haben, wann ein Patient aus der Behandlung resp. aus seiner Isolation zu entlassen ist oder nicht. Durch zahlreiche Fälle können wir es beweisen, daß mit der Wohnungsdesinfektion nach Ablauf der klinischen Erkrankungssymptome allein nichts geleistet werden kann. Einige der Herren praktischen Aerzte waren so liebenswürdig, mir einige Daten an die Hand zu geben. Unter diesen ist besonders die Mitteilung eines Arztes wertvoll, der mir mitzuteilen in der Lage war, daß trotz der jedesmal nach der Erkrankung stattgehabten Desinfektion in einer und derselben Familie im Verlaufe von $\frac{3}{4}$ Jahren 4mal Diphtherie ausgebrochen war. Jedesmal konnten wir die betreffenden Fälle bakteriologisch als wirkliche Diphtherie diagnostizieren. Es war in diesen betreffenden Fällen keine Nachuntersuchung gemacht worden. Die Desinfektion wurde vorgenommen, als bereits ein sehr großer Zeitraum nach der Genesung vergangen war. Wir können uns diesen Erkrankungscyklus nur so erklären, daß eben trotz der scheinbar vollendeten Genesung in den betreffenden Fällen die erkrankt gewesenen Personen der Familie die Diphtheriebacillen noch in ihrer Mund- oder Nasenhöhle beherbergten, daß trotzdem aber nach stattgehabter Desinfektion, in dem Glauben, daß nun Sicherheit vor einem weiteren Umsichgreifen der Krankheit vorhanden sei, die Absonderung der Patienten von den anderen Familienmitgliedern aufgehoben wurde und in längerer oder kürzerer Zeit sich nun die nächsten Familienmitglieder wieder ansteckten. Gilt dies nun von einer Familie, die nicht viel Köpfe zählt, so ist die Uebertragungsfahr in einer Schule eine noch viel größere. Handelt es sich ja hier um lauter jugendliche, besonders empfängliche Individuen, und ist hier ja eine Ansteckungsmöglichkeit durch die relativ noch größere Zahl der eventuellen Infektionsträger eine noch viel bedeutendere, als es in einer großen Familie der Fall ist, wo außerdem die einzelnen Familienmitglieder schon aus Selbsterhaltungstrieb vor Ansteckung, soweit es möglich ist, geschützt werden.

In einer Reihe von Schulepidemien hat sich bei uns das Verfahren der Nachuntersuchungen glänzend bewährt, und es konnten die Epidemien zum Stillstand gebracht werden; namentlich sind in der Zahl der durch längere Zeit beobachteten Fälle eine große Anzahl von Mitgliedern von Lehrerfamilien zu erwähnen. Gerade bei den Lehrerfamilien ist es von enormer Wichtigkeit, sowohl die Kranken als auch die gesunden Mitglieder, solange eine Ansteckungsfahr vorhanden ist, d. h. solange die bakteriologische Untersuchung die Anwesenheit von Diphtheriebacillen feststellt, zu isolieren. Eine Anzahl von Einzelheiten, aus denen hervor-

geht, daß auch bei Erkrankung eines Kindes einer Lehrerfamilie alle übrigen Mitglieder dieser Familie Diphtheriebacillen früher oder später aufwiesen, werde ich gelegentlich der Besprechung der Untersuchung gesunder Angehöriger noch näher zu erörtern haben.

Was die Dauer des Diphtheriebacillenbefundes bei Rekonvaleszenten anbelangt, so dürften folgende Zahlen darüber einigen Aufschluß gewähren:

Zur Untersuchung gelangten 339 Personen, bei welchen ich Gelegenheit hatte, öfters während der Rekonvaleszenz bakteriologische Untersuchungen vorzunehmen.

Diphtheriebacillen waren nachweisbar:

		unter 10 Tagen bei 75 Personen		
über 11 Tage	"	264	"	(77 Proz.)
" 21 "	"	119	"	(35 ")
" 31 "	"	62	"	(18 ")
" 41 "	"	35	"	(10 ")
" 51 "	"	26	"	(7,6 ")
" 61 "	"	18	"	(5 ")
" 90 "	"	8	"	(2 ")

Betrachten wir die Zahlen, wie sie uns diese Zusammenstellung vorführt, so sehen wir, daß ein sehr großer Prozentsatz von Fällen durch eine lange Zeit der Rekonvaleszenz Diphtheriebacillen beherbergten. Ueber 11 Tage haben wir mehr als $\frac{3}{4}$ der Fälle als Diphtheriebacillenträger gefunden. Weit über $\frac{1}{3}$ der Fälle zeigten die Diphtheriebacillen über 21 Tage. Die tatsächlichen Verhältnisse liegen aber doch ganz anders. Die Diphtheriebacillen bleiben viel längere Zeit in der Nasen- und Mundhöhle der Patienten, als es uns diese Zusammenstellung zeigt; denn unter diesen Zahlen sind auch diejenigen Fälle, welche bei der ersten Nachuntersuchung positiven Befund ergaben, aber nicht weiter zur Untersuchung eingesandt wurden. Es ist anzunehmen, daß viele dieser Fälle auch noch durch längere Zeit Diphtheriebacillen beherbergt haben dürften. Fernerhin ist eines Umstandes zu erwähnen, nämlich daß ein negativer Befund während der Nachuntersuchung noch nicht mit absoluter Sicherheit auf die gänzliche Diphtheriebacillenfreiheit der betreffenden Individuen schließen läßt. Ich konnte mich bei Untersuchungen, die durch längere Zeit hindurch konsequent durchgeführt wurden, überzeugen, daß oft trotz 1- oder 2maliger negativer Befunde ein nächstes Mal sich wiederum Diphtheriebacillen zeigten. Sind die Chancen eines negativen Befundes auch dann schon große, wenn in der Mundhöhle tatsächlich Diphtheriebacillen vorhanden sind (es wird ja oft von einer Stelle abgeimpft, die zufällig keine Diphtheriebacillen enthält), so müssen wir um so mehr auf einen fälschlichen negativen Befund gefaßt sein, wenn wir bedenken, daß bei der häufigen Desinfektion des Rachenraumes dieser zwar tatsächlich diphtheriebacillenfrei werden kann, daß trotzdem Diphtheriebacillen aber in den Nebenhöhlen und Nischen des hinteren Nasenrachenraumes weiter vegetieren und dann bei Gelegenheit wiederum in die Rachen- resp. Nasenhöhle vordringen können. Wir haben uns bei Untersuchungen ferner überzeugen können, daß oftmals Diphtheriebacillen in der Mundhöhle nicht mehr nachweisbar sind, während sie noch in der Nasenhöhle, die für das ungestörte Weiterwachstum günstigere Bedingungen bietet, sich weiter aufhalten. Es muß hier bemerkt werden, daß überhaupt der Infektionsgefahr, die von der Nasenhöhle ausgeht, im ganzen zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt wird.

Oft schließt sich an die Diphtherie ein leichter durch längere Zeit bestehender Schnupfen an, der ganz und gar keine Beachtung findet, aber bei näherer Untersuchung sich als ätiologisch von Diphtheriebacillen herrührend erweist; andererseits möchte ich hier noch erwähnen, daß auch die Infektion bei der Diphtherie sehr häufig in der Nase beginnt. Es entgeht oft der Beobachtung, daß die Diphtherie mit einem geringen Schnupfen begonnen hat und sich erst hierauf unter Einsetzen der typischen Halssymptome die Diphtherie typisch weiterentwickelt hat. Ich konnte durch regelmäßiges Umfragen bei einzelnen Aerzten erfahren, daß, wenn sie genauer bei dem Patienten forschten, sie in vielen Fällen die Auskunft erhielten, daß die Diphtherie mit einem Schnupfen begonnen hat.

Ich möchte hier einen Fall erwähnen, den Herr Privatdozent Dr. Stenger und ich gelegentlich einer größeren Untersuchungsreihe zu studieren Gelegenheit hatten. Zur Beobachtung gelangte ein Mädchen, die nach Königsberg gekommen war, um wegen Hypertrophie der Nasenschnecken sich dieselben entfernen zu lassen. Aus Gründen, die der Anordnung einer im Gange befindlichen Arbeit entsprechen, untersuchten wir mehrmals vor der Nasenoperation den Inhalt der Nasenhöhle und des Rachenraumes bakteriologisch sorgfältigst. Wir konnten in den Abstrichen von beiden Tonsillen niemals Diphtheriebacillen nachweisen; hingegen war es uns möglich, aus dem Sekret der Nasenhöhle jedesmal aus beiden Nasenlöchern Diphtheriebacillen zu züchten. Es mußte, da die Patientin bald wegreisen wollte, auf ihren Wunsch die Operation vorgenommen werden, dieselbe verlief typisch ohne irgend welche Komplikation von seiten der Nasenhöhle. Zwei Tage danach stellte sich plötzlich ein starker Kopfschmerz ein, sowie Fieber, tags darauf ergab das klinische Bild das Vorhandensein einer typischen Halsdiphtherie. Beide Tonsillen zeigten typische, reiche, diphtheritische Beläge. Die Züchtung von denselben ergab Reinkultur von Diphtheriebacillen. In Anbetracht der Wichtigkeit dieses Befundes suchten wir anamnestiche Daten zu erlangen. Es war lange Zeit kein Anhaltspunkt zu finden, bis endlich nach längerem Eindringen die Patientin erzählte, sie wäre Meierin auf einem Gute, auf welchem durch längere Zeit eine Diphtherieepidemie herrschte und wo bereits etliche Personen an Diphtherie gestorben waren. So hatten wir dann den ganzen Verlauf der Krankheit vor Augen. Die Patientin hatte, in der Umgebung von Diphtheriekranken sich befindend, Diphtheriebacillen akquiriert, die bei ihr, ohne irgend welche Krankheitssymptome hervorzurufen, in der Nasenhöhle durch längere Zeit anwesend waren. Der Eingriff, den die Operation setzte, hatte das Epithel der Nase, das infolge der Flimmerbewegung das Weitergreifen der Bakterien normalerweise hintanhält, geschädigt, und hierdurch die Möglichkeit geschaffen, daß die Diphtheriebacillen auf die Tonsillen gelangten und hier eine Diphtherie hervorriefen. Bemerkt sei, daß die Diphtherie nicht von der Wunde ausgegangen war, welche nicht diphtheritisch aussah und ohne Komplikation normal verheilte. Uebrigens sei hier bemerkt, daß die schweren Symptome, welche anfangs die Diphtherieerkrankung machte, nach einer Seruminjektion rasch zurückgingen und die Patientin bald geheilt entlassen werden konnte.

Wenn Dr. Stenger und ich ¹⁾ diesen Fall auch demnächst eingehen-

1) Anmerkung während der Korrektur: Die Arbeit ist unterdes erschienen: Scheller, R. u. Stenger, P., Ein Beitrag zur Pathogenese der Diphtherie. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 42.)

der beschreiben wollen, so sei es doch gestattet, hier auf die Tragweite eines derartigen Vorkommnisses hinzuweisen. Es wirft uns ein scharfes Licht auf einen Infektionsmodus, der bisher wenig oder gar nicht beobachtet wurde. Dasselbe, was hier nach einer Operation geschehen ist, kann unserer Meinung nach auch eintreten, wenn bei Anwesenheit von Diphtheriebacillen in der Nase durch einen Katarrh das Epithel geschädigt wird und so ein Eindringen der Diphtheriebacillen auf die Tonsillen gestattet. Wir können uns vorstellen, daß die Natur diesen Infektionsweg, den wir hier unfreiwillig experimentell vorgenommen haben, sicherlich nicht allzu selten einschlägt. Es ist nicht allein durch die Anwesenheit von Diphtheriebacillen das Eintreten einer Krankheit bedingt. Das auslösende Moment ist meistens eine durch Schädigungen dieser oder jener Art hervorgerufene Disposition. So können wir es uns auch nur erklären, daß gesunde Angehörige, bei denen wir durch 3—4 Wochen hindurch Diphtheriebacillen nachweisen konnten, ohne daß sie irgend welche Krankheitssymptome zeigten, plötzlich nach dieser Zeit an Diphtherie erkrankten, obzwar die Anwesenheit der Diphtheriebacillen schon so lange vorher Gelegenheit hätte geben können zum Ausbruche der Diphtherie. Es trat eben auch hier plötzlich durch eine Schädigung, sei sie thermischer, chemischer, mechanischer oder bakteriologischer Natur, eine vermehrte Disposition für eine Infektion auf. Wir werden auch späterhin, wenn wir das Kapitel „Gesunde Angehörige Diphtheriekranker“ zu besprechen haben, in zahlreichen Fällen sehen, daß bei diesen Personen durch sehr sehr lange Zeit Diphtheriebacillen anwesend waren, ohne daß der Organismus eine Schädigung erfahren hatte. Ueberdies hat uns der eben beschriebene Fall wohl mit Recht in der Annahme bestärkt, daß auch die Rachendiphtherie ohne Nasensymptome wohl öfter, als wir vermuten, rhinogenen Ursprungs sein dürfte.

Keihen wir nach dieser Abschweifung wieder zu den „Nachuntersuchungen“ zurück. Nach den Erfahrungen, die wir an zahlreichen Familien, welche wir durch längere Zeit untersuchen konnten, gemacht haben, können wir mit Sicherheit behaupten, daß die Zeitdauer des positiven Diphtheriebacillenbefundes bei Rekonvaleszenten eine bedeutend größere ist, als wir es in unseren Zahlen finden. Daran sind, wie ich schon oben bemerken konnte, hauptsächlich die negativen Befunde schuld, die auch bei Anwesenheit von Bacillen hier und da vorkommen. Ich möchte nun aber behaupten, daß in der allergrößten Mehrzahl der Fälle die Diphtheriebacillen sich mindestens 3 Wochen lang während der Rekonvaleszenz bei dem betreffenden Individuum erhalten, daß somit noch lange Zeit bei scheinbarer Gesundheit eine Ansteckungsgefahr vorhanden ist. In einer großen Anzahl von Fällen hält der Diphtheriebacillenbefund eine weit längere Zeit vor. Es ist sehr bemerkenswert, daß nach 41 Tagen nach unserer Zusammenstellung, die nur die Minimalzeit bietet, noch ca. 10 Proz. der Diphtheriefälle positiven Bacillenbefund darboten; nach 51 Tagen noch 7,6 Proz., ja daß sogar nach 90 Tagen 2 Proz. der Fälle Diphtheriebacillen zeigten. Es wirft dies ein richtiges Streiflicht auf die Bedeutung der bakteriologischen Untersuchung während der Rekonvaleszenz, andererseits aber zeigt es uns, wie kompliziert die Faktoren sind, mit welchen wir bei der Bekämpfung der Diphtherie zu rechnen haben, und wie schwer die Verhütung einer Ansteckung gesunder Personen ist. Einen Fall möchte ich noch hervorheben, bei dem im Anschlusse an eine Halsdiphtherie

sich eine chronische Diphtherie entwickelte, die bis jetzt schon bereits 2 $\frac{1}{2}$ Jahre besteht und welche von uns stets als von Diphtheriebacillen herrührend festgestellt wurde.

Wenn ich bis jetzt über „Nachuntersuchungen“ gesprochen habe, die gewissermaßen nur eine Kontrolle bieten sollen, ob bei früher festgestellter Diphtherie während der Rekonvaleszenz noch Diphtheriebacillen vorhanden sind, so komme ich jetzt auf einen nicht minder wichtigen Teil der Nachuntersuchungen zu sprechen, namentlich auf diejenigen Untersuchungen während der Rekonvaleszenz, die bei im Anfang nur klinisch gestellter Diagnose feststellen sollten, ob der bereits abgelaufene Krankheitsprozeß tatsächlich Diphtherie war. Derartige Untersuchungen sind namentlich in jenen Fällen von großer Wichtigkeit, wo der Arzt, sei es wegen der großen Entfernung zu dem Patienten, sei es infolge anderer Umstände, erst zu dem Kranken gelangt, wenn der klinische Prozeß bereits abgelaufen ist. Es ist für ihn wohl unmöglich, aus den Erzählungen und der Beschreibung der Angehörigen mit Sicherheit die Diagnose: Diphtherie oder Nichtdiphtherie zu stellen. Hier gibt ihm unsere Nachuntersuchung einen wertvollen Aufschluß über die Aetiologie der bereits abgelaufenen Erkrankung. Namentlich von Wichtigkeit ist diese in Fällen, wo ein Kreisarzt, von einer Epidemie in einer Schule benachrichtigt, erst hingelangt, wenn die Erkrankungen bereits abgelaufen sind. Es handelt sich hier meistens um die Frage, ob die Schule geöffnet bleiben oder ob sie wegen der drohenden Ansteckungsgefahr für die übrigen Kinder gesperrt werden soll. So hat uns der Kreisarzt des Landkreises Königsberg i. Pr. einmal gleichzeitig den Rachenabstrich von 8 Kindern einer Schule gesandt, die vor 8—21 Tagen Diphtherie überstanden haben sollten. Unser Befund, daß bei sämtlichen Kindern Diphtheriebacillen nachweisbar waren, gab ihm einen wertvollen Aufschluß über die vorzunehmenden amtlichen Maßnahmen.

Es rollt sich uns nun die Frage auf, ob wir wohl die Dauer des Aufenthaltes der Diphtheriebacillen während der Rekonvaleszenz durch Desinfizientien verkürzen können. Wenn auch sowohl die Mundhöhle als auch der Nasenrachenraum ziemlich ungünstige Bedingungen für eine Desinfektion bieten, so werden wir dennoch, wenn wir die geeigneten Desinfizientien anwenden, mit einiger Wahrscheinlichkeit darauf rechnen können, die Diphtheriebacillen doch ganz wesentlich in ihrer Wachstumsenergie hemmen zu können. Die Wahl der Desinfizientien ist aber leider oft eine nicht zweckentsprechende. Das am liebsten und häufigsten angewandte Kalium chloricum verdient keine Aufnahme unter die Desinfizientien der Mund- und Rachenhöhle. Erstlich ist seine desinfektorische Kraft eine äußerst geringe; zweitens ist es auch wegen seiner großen Giftigkeit weiteren Kreisen zur Benutzung nicht anzuvertrauen. Die allerbesten Desinfektionsmittel dürfen wohl diejenigen sein, bei welchen bei der Anwendung nascierender Sauerstoff frei wird und stark bakterientötend einwirkt. In erster Linie sind zu erwähnen Wasserstoff-superoxyd und Kalium hypermanganicum, die ob ihrer relativen Unschädlichkeit und infolge ihres starken desinfektorischen Wertes es verdienen, vor allen anderen als Desinfizientien bei der Diphtherie angewandt zu werden. Schließlich ist noch essigsäure Tonerde zu empfehlen, die neben ihrer desinfektorischen Wirksamkeit auch die Entzündungsprozesse im Halse günstig beeinflusst.

Worauf meistens am wenigsten geachtet wird, ist, daß der Aufenthalt der Diphtheriebacillen in der Nasenhöhle maßgebend für die

Dauer des Diphtheriebacillenbefundes und für die Ansteckungsgefahr ist. Gewicht ist daher darauf zu legen, daß auch die Nasenhöhle ausgiebigst desinfiziert wird; wir können dies mit Wasserstoffsperoxyd, Kalium hypermanganicum, Sozodol etc. bewirken.

Die Desinfektion der Mund- und Nasenhöhle hat neben der Abkürzung der Dauer des Diphtheriebacillenbefundes noch einen großen praktischen epidemiologischen Wert; denn durch sie können wir die Gefahr einer Uebertragung auf die gesunden Personen um ein beträchtliches einschränken. Wenn wir auch wissen, daß die Diphtheriebacillen während des Prozesses der Diphtherie sowohl wie während der Rekonvaleszenz trotz der Anwendung der Desinfektion oft eine lange Zeit hindurch nicht verschwinden, so geben uns gerade unsere Plattenuntersuchungen, die nach vorhergegangener Desinfektion vorgenommen wurden, Aufschluß darüber, daß zur Zeit und unmittelbar nach der vorgenommenen Desinfektion die in Mund- und Nasenhöhle vorgefundenen Diphtheriebacillen nicht entwicklungsfähig waren. Können wir also auch den weiteren Aufenthalt der Diphtheriebacillen bei den Diphtheriekranken resp. Rekonvaleszenten nicht verhindern, sondern eventuell nur abkürzen, so werden wir durch diese antiseptische Gurgelung dennoch die Gefahr der Uebertragung um ein wesentliches einschränken. Es sei hier erwähnt, daß als eine ausgezeichnete prophylaktische Maßregel gegen die Ansteckung mit Diphtherie die regelmäßige desinfektorische Spülung der Mund- und Rachenhöhle bei den gesunden Angehörigen oder während einer Diphtherieepidemie bei allen Gesunden sich erweist. Freilich müssen wir den Begriff der Desinfektion der Mundhöhle hier schärfer begrenzen, als es die Zahnärzte und die Laien tun. Eine Spülung mit unseren gebräuchlichen Zahn- und Mundwässern hat so viel wie gar keinen desinfektorischen Wert. Die Wirkung ist nur eine desodorierende. Sämtliche Keime der Mundhöhle bleiben ungeschädigt. Auch hier ist es vorläufig am besten, tägliche Desinfektion der Mundhöhle früh und abends mit Wasserstoffsperoxyd, welches gänzlich unschädlich und überaus wirksam ist, vorzunehmen. Es herrscht vielfach die irrige Ansicht, daß durch die Injektion von Serum erstens die Diphtheriebacillen bei dem Diphtheriekranken in ihrer Wachstumsenergie geschädigt werden, daß zweitens aber auch durch die prophylaktische Injektion gesunder Personen die Aufnahme von Diphtheriebacillen bei diesen hintangehalten werden kann. Dies ist aber leider nicht der Fall. Das Diphtherieheilserum wirkt bekanntlich nur antitoxisch, nicht aber bakterizid, d. h. wir können wohl die von den Bakterien gebildeten Gifte durch die Diphtherieheilseruminjektion paralisieren, nicht aber eine Weiterentwicklung und ein Weiterwachstum der Diphtheriebacillen hintanhaltend. Daher ist ein Diphtheriebacillenträger nicht weniger infektiös, wenn er Diphtherieheilserum erhalten hat, ebenso ist ein gesunder Angehöriger, der Diphtherieheilserum erhalten hat, der Aufnahme von Diphtheriebacillen in die Nasen- oder Rachenhöhle ebenso ausgesetzt, wie wenn Diphtherieheilserum nicht angewendet worden wäre. Es können also sowohl Kranke wie Gesunde trotz angewendeter Heilseruminjektion, wie ich es selbst in zahlreichen Fällen beobachten konnte, die Diphtherie weiterverbreiten.

Fälle, die mit der Diagnose „Angina“ eingesandt worden waren.

Wir gelangen nun zunächst zu jenen Proben, die uns mit der Diagnose Angina mit Belag eingesandt wurden. Konnten wir in

31 Proz. der uns eingesandten Proben Diphtheriebacillen nachweisen, so ist dies angesichts der epidemiologischen Tragweite ein sehr beachtenswerter Befund. Es sind dies Fälle gewesen, welche dem Arzte sich als typische Anginen darstellten und uns nur eingesandt wurden, weil entweder die Eltern des Kindes aus Sorge es wollten oder weil der Arzt bei der hier so stark herrschenden Diphtherieepidemie sein Gewissen beruhigen wollte. Vielfach kamen wir mit den Aerzten infolge unseres Befundes in einen Disput, indem jene behaupteten, es wäre das klinische Bild direkt einer Diphtherie widersprechend; aber meistens war auch in diesen Fällen entweder der weitere Verlauf oder das epidemiologische Verhalten — Ausbruch von typischer Diphtherie bei anderen Familienmitgliedern — so geartet, daß auch der Arzt dann unsere Diagnose bestätigen konnte.

Ich möchte einen interessanten Fall hier erwähnen, der ein 20-jähriges Mädchen betrifft, von der uns eine Probe mit der Diagnose: „Typische folliculäre Angina“ eingesandt wurde. Unsere Untersuchung ergab Diphtheriebacillen beinahe in Reinkultur. Der betreffende Arzt, dem die Diagnose mitgeteilt wurde, telephonierte mir, es wäre ganz und gar keine Veranlassung, trotz unseres Befundes, eine Seruminjektion zu machen, da die Beläge gelb wären und auch das ganze übrige Bild für eine folliculäre Angina und gegen eine Diphtherie spräche. Nach 5 Tagen meldete mir der Arzt, daß am 4. Tage sich unter Abstoßung des gelben folliculären Belages ein typisch diphtherischer Belag entwickelt habe, mit typisch diphtherischen Allgemeinerscheinungen, daß diese Symptome aber nach einer Diphtherieheilseruminjektion rasch zurückgegangen seien und daß er jetzt vollkommen von dem Vorhandensein einer Diphtherie überzeugt wäre.

Es ist hier am Platze, gegen Deutungen Stellung zu nehmen, die auf Grund von Diphtheriebacillenbefunden bei „Anginen“ und infolge des Fehlens von Diphtheriebacillen bei der klinischen Diagnose „Diphtherie“ gemacht worden sind. Eine Anzahl Autoren, unter anderen auch Baumgarten, zweifelt auf Grund derartiger Beobachtungen an der ätiologischen Bedeutung der Diphtheriebacillen für die Diphtherie. Wir konnten uns aber, wie ich bereits erwähnt habe, in der allergrößten Anzahl der Fälle überzeugen, daß die klinische Diagnose, die unserem bakteriologischen Befunde widersprach, im Verlaufe der Erkrankung nicht aufrechtzuerhalten war. Wie in obgenanntem Falle, so meldeten uns auch in den meisten anderen Fällen die Aerzte gelegentlich der zur Nachuntersuchung eingesandten Proben, daß auch sie auf Grund der weiteren klinischen Symptome oder durch epidemiologische Anhaltspunkte (Aetiologie der Erkrankung oder weitere Infektionen in der Familie) gezwungen statt der ursprünglichen Diagnose „einfache Anginen mit Belag“ nunmehr die klinische Diagnose „Diphtheritis“ gestellt hätten. Des weiteren meldeten 3mal Aerzte, daß sie trotz unseres positiven Diphtheriebacillenbefundes an der Diagnose „Angina“ festgehalten hätten, keine Injektion gemacht hätten und erst durch während der Rekonvaleszenz eingetretene Nervenlähmungen veranlaßt worden seien, sich unserer Diagnose „Diphtherie“ anzuschließen und daß sie nun trotz ihrer anfänglichen Skepsis von dem Werte der bakteriologischen Diagnose überzeugt wären. Daß sich Anginen, bei denen wir Diphtheriebacillen nicht finden konnten, jemals im weiteren Verlaufe als Diphtherie entpuppt hätten, hörte ich niemals, und doch wäre bei der Kontrolle, die die Aerzte unseren Diagnosen gegenüber ausüben, ein solches Vor-

kommis uns sofort mitgeteilt worden. Es ist daher der Widerspruch des Bacillenbefundes und der klinischen Erkrankung ein nur scheinbarer, und es kann gerade infolge des Umstandes, daß sich auch gerade jene scheinbar einfachen Anginen, bei denen Diphtheriebacillen nachgewiesen wurden, späterhin als Diphtherie zeigten, die ätiologische Bedeutung der Diphtheriebacillen für die Diphtherie unwiderleglich gelten.

Auch von jenen Fällen, die uns mit der Diagnose „Angina ohne Belag“ eingeschickt wurden, konnten wir noch eine hohe Prozentzahl (11 Proz.) der Fälle als Diphtheriebacillenträger feststellen. Auch hier gilt dasselbe wie bei den Anginen mit Belag, nämlich, daß die Fälle, bei denen wir Diphtheriebacillen finden konnten, entweder leichteste Diphtherieen Angehöriger von diphtheriekranken Personen vorstellten oder daß sich die am 1. Tage der Erkrankung zeigenden leichtesten Halssymptome im weiteren Verlaufe typisch zu diphtherischen Belägen weiterentwickelten oder ferner, daß im Anschluß an jene leichten Anginaerkrankungen in der Familie oder in der Umgebung des Patienten typische Diphtherie auftrat. Wir ersehen aus diesen Fällen die Notwendigkeit, während einer Diphtherieepidemie sämtliche, also auch die leichtesten Halsaffektionen, sowie unbestimmte fieberhafte Erkrankungen bakteriologisch zu untersuchen, daß diese für den Fall des Diphtheriebacillenbefundes als Diphtherieen zu behandeln sind, d. h. sie sind einer Seruminjektion zu unterwerfen und man muß sie auch entsprechend isolieren. Was die Frage dieser Seruminjektionen bei diesen leichtesten Diphtherieerkrankungen anlangt, so sind viele der Aerzte entschiedene Gegner der Seruminjektion bei Diphtheriebacillenbefund, wenn die Symptome in der Mundhöhle nur geringe sind. Meines Erachtens aber müssen wir bei jedem Falle von Halsentzündung, bei welchem wir Diphtheriebacillen nachweisen, erstens damit rechnen, daß die Halssymptome sich zu typischer klinischer Diphtherie weiterentwickeln können und daß ferner auch bei jenen scheinbar allerleichtesten Fällen bei nicht vorgenommener Seruminjektion in der Rekonvaleszenz die bekannten diphtherischen Komplikationen (Nervenlähmungen) ebensogut auftreten können wie in Fällen mit reichlichen diphtherischen Belägen. Von solchen Komplikationen bei leichtesten Fällen machten 4 Aerzte etliche Male Mitteilung. Man wird daher in jedem Falle von Anginen mit Diphtheriebacillenbefunde eine Diphtherieheilseruminjektion vornehmen müssen.

Untersuchung „gesunder Angehöriger diphtheriekranker Personen“.

Wir wollen nun das Kapitel „Gesunde Angehörige diphtheriekranker Personen“ näher besprechen. In 38 Proz. aller Untersuchungen gesunder Angehöriger konnten wir Diphtheriebacillen nachweisen, mit dieser Prozentzahl aber ist keineswegs gesagt, daß nur 38 Proz. aller mit den Diphtheriekranken in Berührung kommender Personen tatsächlich Diphtheriebacillen beherbergen und somit Infektionsträger sind. Bei unseren Fällen, die wir hier ziffernmäßig zusammengestellt haben, sind auch die späteren negativen Untersuchungen von ursprünglich Diphtheriebacillen tragenden Angehörigen enthalten; andererseits aber sind uns zumeist die Untersuchungen der gesunden Angehörigen, wenn sie negativ waren, nur einmal zugesandt worden. Wir haben somit nur in den negativen Befunden die Angabe erhalten, daß zu der betreffenden Zeit der Abstrich diphtheriebacillenfremd war. Bei

Untersuchungen ganzer Familien aber, die ich bis in allerjüngste Zeit konsequent durchführen konnte — es unterstützten mich hierbei in lebenswürdigster Weise die verschiedenen Herren Kreisärzte — konnte ich feststellen, daß beinahe sämtliche Mitglieder einer Familie, in welcher ein Diphtheriefall konstatiert werden konnte, früher oder später Diphtheriebacillen aufwiesen.

Es sei hier als klassisches Beispiel die Lehrerfamilie „Sch.“ in Tabelle II angeführt.

Tabelle II.

Diphtheriebacillenbefund bei der Lehrerfamilie „Sch.“, bei welcher ein Kind an Diphtherie erkrankt gewesen war.

Namen	Alter	Klinische Diagnose	Diphtheriebacillenbefund am						
			10. Juni	30. Juni	9. Juli	15. Juli	22. Juli	29. Juli	5. Aug.
Sch., Eva	7 J.	Diphtherie bereits am 8. Juni abgelaufen	p. ¹⁾	p.	p.	n.	p.	n.	n.
„ Klara	2 ^{3/4}	Gesund	n.	n.	n.	p.	n.	n.	n.
„ Helene	9	„	p.	n.	p.	p.	p.	n.	n.
„ Herbert	8	„	p.	p.	p.	p.	n.	p.	n.
„ Armin	1 ^{1/2}	„	n.	n.	n.	n.	n.	n.	n.
„ Lehrer	39	„	—	p.	p.	n.	n.	n.	n.
„ Lehrersfrau	31	„	p.	n.	p.	p.	n.	n.	n.
„ Br., Auguste (Dienstmädchen)	17	„	n.	n.	n.	n.	n.	p.	n.

Aus einer derartigen Beobachtungsreihe, wie sie Tabelle II übersichtlich demonstriert, ersehen wir erstlich, daß auch im Verlaufe von Nachuntersuchungen von Diphtherierekonvaleszenten, wie wir bereits schon erwähnt haben, hier und da negative Befunde vorkommen, während bei einer nächsten Untersuchung der Befund positiv ausfällt (Sch., Eva). Ferner sehen wir, daß nicht alle Mitglieder einer Familie, in der ein Diphtheriefall konstatiert werden konnte, zur gleichen Zeit Diphtheriebacillen acquirieren, sondern daß zu verschiedenen Zeiten verschiedene Mitglieder der Familie Diphtherieträger sein können. Auch

Tabelle III.

Diphtheriebacillenbefund bei Lehrerfamilie Br., von welcher 3 Kinder erkrankt gewesen waren.

I. Untersuchung 16. Dezember.

Namen	Alter	Klinische Diagnose	Diphtheriebacillenbefund am				
			16. Dez.	14. Jan.	21. Jan.	28. Jan.	4. Febr.
Br., Helene	8 Jahre	Diphtherie am 12. Oktober	p.	n.	p.	n.	n.
„ Frida	3	„ „ 24. Nov.	p.	p.	n.	n.	n.
„ Ida	13	Fieber, Kopfschmerz (Diphtherie?) am 20. Oktober	n.	n.	n.	n.	n.
„ Lehrer	44	Gesund	n.	n.	p.	p.	n.
„ Lehrersfrau	?	„	n.	p.	n.	n.	n.
„ Otto	6	„	n.	n.	p.	p.	n.
„ Hugo	11	„	p.	n.	p.	p.	n.
„ Eduard	9	„	p.	p.	n.	n.	n.

1) Die hier gebrauchten Abkürzungen „p“ und „n“ bedeuten „positiv“ und „negativ“.

die Untersuchung der gesunden Angehörigen ergibt, daß zu manchen Zeiten bei ihnen keine Diphtheriebacillen gefunden werden müssen, während früher oder später Diphtheriebacillen nachweisbar sind. Die praktische Bedeutung derartiger Untersuchungen, in denen ich aus der großen Reihe analog sich verhaltender Befunde in Tabelle III und IV noch Beispiele hinzufüge, ist eine eminente.

Tabelle IV.

Diphtheriebacillenbefund bei Lehrerfamilie Wi., von welcher ein Kind Diphtherierekonvaleszent war.

Namen	Alter	Klinische Diagnose	Diphtheriebacillenbefund am		
			30. Nov.	23. Dez.	6. Jan.
Wi., Martin	9 Jahre	Abgelaufene Diphtherie	p.	p.	n.
„ Lehrer	36 „	Gesund	p.	p.	n.
„ Lehrersfrau	31 „	„	p.	p.	n.
„ Johannes	1¼ „	„	p.	p.	p.

Erstlich ersehen wir aus den vorstehenden Tabellen, daß die Gefahr der Uebertragung der Diphtheriebacillen auf die gesunden Angehörigen eine so große ist, daß beinahe alle Angehörigen früher oder später Diphtheriebacillenträger werden und somit nun fürderhin ihrerseits auch wiederum die Diphtherie weiterzubreiten vermögen. Von sehr großer Wichtigkeit sind die Untersuchungen bei Erkrankungen in Lehrerfamilien. Wir haben hier öfters die Gelegenheit gehabt, zu beobachten, daß auch der Lehrer Diphtheriebacillenträger wird und so, wenn nicht die geeigneten Maßnahmen getroffen würden, die Diphtherie auf die Schüler übertragen könnte. Aber auch die Untersuchung gesunder Schüler, welche in ihrer Familie einen Diphtheriekranken haben, ist von dem epidemiologischen Standpunkte aus von großer Wichtigkeit. Wir müssen die Schüler so lange von dem Unterricht und von der Berührung mit anderen Schülern fernhalten, als bei irgend einem Angehörigen der Familie noch Diphtheriebacillen nachweisbar sind. In den Fällen, in denen die Erkrankung Lehrerfamilien betrifft, soll der Lehrer, falls er nicht in der Schule wohnt, von seinem Amte zeitweise suspendiert werden; anderenfalls, wenn seine Wohnung in der Schule gelegen ist, ist die Schule für die Zeit des Diphtheriebacillenbefundes bei den Familienangehörigen zu schließen. Es rollt sich nun die Frage auf, ob wir vielleicht einen Lehrer oder einen Schüler zum Unterrichte zulassen dürfen, wenn in seiner Familie der Krankheitsfall bereits abgelaufen ist, andere Mitglieder zwar Diphtheriebacillen beherbergen, er aber (Schüler oder Lehrer) diphtheriebacillenfrei ist. Wir müssen uns entschieden dagegen aussprechen, denn bei der Berührung, in welche die Angehörigen diphtheriekranker Personen, selbst bei guter Isolation mit dem Infektionsträger kommen, ist es ein sehr gewagtes Spiel, eine ganze Anzahl von empfänglichen, jugendlichen Individuen der Gefahr einer Infektion auszusetzen. Wir haben ja gesehen, daß selbst bei zeitweiliger Diphtheriebacillenfreiheit dieser oder jener gesunde Angehörige späterhin wiederum Diphtheriebacillen beherbergt. Selbst eine häufige Nachuntersuchung von solchen Personen, die man nur bedingungsweise, d. h. für die Zeit, in der sie diphtheriebacillenfrei waren, in die Schule entließe, würde uns doch nicht rechtzeitig von dem Wiederauftreten von Diphtheriebacillen und somit von der Infektionsgefahr Aufschluß geben. Es ist daher, wie es in Königsberg bereits obligatorisch ist, zu verlangen,

daß weder Lehrer noch Schüler bei einer Erkrankung in ihren Familien in die Schule entlassen werden, so lange in ihrer Familie oder bei ihnen noch Diphtheriebacillen nachweisbar sind. Ja, ich möchte, wohl mit Recht, dafür eintreten, daß diese Maßnahme, und zwar mit allergrößter Schärfe, auch auf jene Personen ausgedehnt würde, die in anderen Berufen die Gefahr der Ansteckung auf eine große Zahl von Personen übertragen könnten. Es sind dies z. B. Inhaber oder Angestellte von Warenhäusern, aber in erster Linie sind es Personen, die in Eßwarengeschäften beschäftigt sind. Die Diphtherie in den Städten kommt deshalb so schwer zum Verlöschen, weil von der Umgebung, aus der die Städter ihre Nahrungsmittel beziehen, die Krankheitskeime immer wieder eingeschleppt werden können. Wir müssen darauf sehen, daß namentlich in Milchbetrieben auch auf dem Lande ein jedweder Fall von Halsentzündungen, selbst wenn er noch so leicht ist, einer eingehenden bakteriologischen Untersuchung unterworfen werden möge, da die Milch, ein sehr guter Nährboden für Diphtheriebacillen, die Infektion weiterverbreiten kann.

Bemerkenswert war es bei den Untersuchungen gesunder Angehöriger, daß diese oft noch zu einer Zeit Diphtheriebacillen beherbergten, da die Diphtherierekonvaleszenten bereits längst diphtheriebacillenfrei waren. Wir haben es oft erlebt, daß wir während der Rekonvaleszenz bei dem diphtheriekranken Kinde Diphtheriebacillen fanden, bei den Angehörigen aber nicht, und plötzlich zu einer Zeit, wo der Patient keine Diphtheriebacillen mehr zeigte, nun die gesunden Angehörigen Diphtheriebacillen darboten. Vielleicht ist dies, wenn es keine Zufälligkeit ist, damit zu erklären, daß anfangs eine strenge Isolation angeordnet und durchgeführt worden war, die gegen Schluß der Erkrankung infolge der oft herrschenden Ungeduld, trotz unseres positiven Diphtheriebacillenbefundes bei den Rekonvaleszenten, teilweise gänzlich aufgehoben wurde. Ferner müssen wir darauf aufmerksam machen, daß die uns unter dem Titel „gesunde Angehörige“ eingesandten Fälle in solche Fälle zerfallen, welche stets gesund geblieben sind, und in solche Fälle, bei denen die Erkrankung in den allerleichtesten Formen aufgetreten ist. Vielfach wurde uns nachträglich mitgeteilt, daß dieser oder jener der vermeintlichen gesunden Angehörigen zu der Zeit der Diphtherieerkrankung in der Familie ein leichtes Fieber gehabt hat, ohne irgendwelche Hals Symptome, welches am nächsten Tage wieder verschwunden war. Wir haben es hier wahrscheinlich mit abortiv verlaufenden Diphtherieerkrankungen zu tun, die, weil beinahe symptomlos, der Beachtung entgangen sind; daß aber tatsächlich viele der gesunden Angehörigen diphtheriekranker Personen Diphtheriebacillen beherbergen, ohne krank gewesen zu sein, dafür spricht der Umstand, daß bei einigen oft erst nach 3–4 Wochen langem Diphtheriebacillenbefunde eine typische Diphtherie sich entwickelte. Daß gesunde Personen die Ueberträger von Diphtheriebacillen sein können, dafür spricht auch die von uns gemachte Erfahrung, daß namentlich in Aertzefamilien so häufig Diphtherieerkrankungen konstatiert werden konnten. Hier war es zu meist das Haupt der Familie, der Arzt, welcher in seiner Praxis mit Diphtheriekranken in Berührung gekommen war und nun, die Diphtheriebacillen in seiner Mundhöhle beherbergend, diese auf andere Familienmitglieder verbreitete und die Veranlassung für die entstandene Diphtherieerkrankung bot. Ich konnte in einem Falle von Diphtherie in einer Aertzefamilie gleich am allerersten Tage der Erkrankung des

einen Kindes bei dem betreffenden Arzte Diphtheriebacillen beinahe in Reinkultur in der Rachenhöhle nachweisen. Es wird sich auch hieraus die Konsequenz ergeben, daß Personen, die, wie z. B. die Aerzte, gezwungen sind, mit diphtheriekranken Personen wie mit anderen Leuten zusammenzukommen, eine weitere Verbreitung der Diphtherie durch häufige desinfektorische Spülungen ihrer Nasen- und Mundhöhle verhindern oder zumindest erschweren müssen. Denn wie hier die Verbreitung durch den Arzt auf die Familie konstatiert werden konnte, so kann ja auch hier und da die Ansteckung auf gleiche Weise auf andere Kinder erfolgen.

Ferner wurden uns Fälle mit den Diagnosen „Larynxstenose“, „Larynxkrup“ und „stenotisches Atmen“ eingesandt. Wir konnten hier bei 32 Proz. dieser Fälle Diphtheriebacillen konstatieren. Es sind dies Fälle, wo nur Symptome der erschwerten Atmung, sowie auch die epidemiologischen Momente bei den Aerzten die Vermutung aufkommen ließen, es handle sich um Diphtherie. Rachenerscheinungen waren nicht nachzuweisen. Auch unter den Fällen, die uns unter der Diagnose Diphtherie eingesandt wurden, kamen Fälle vor, die der Arzt nur auf Grund dieses Befundes mit der Diagnose Diphtherie versehen hat, die aber von uns ebenfalls als Diphtherie diagnostiziert wurden. Unter den Fällen, die unter der Rubrik „Diphtherie“ mitgezählt sind, kamen auch Fälle vor, die die klinischen Symptome einer Lungenentzündung mit stenotischem Atmen darboten. Merkwürdig war es, daß gerade in einer und derselben Familie 3 Kinder an derartigen Erscheinungen erkrankten und schwere Lungensymptome zeigten, aber keine weiteren Erscheinungen von Halsdiphtherie. Da in dem betreffenden Hause Diphtherie herrschte, so stellte der Arzt vermutungsweise die Diagnose Diphtherie, deren Richtigkeit von uns durch den bakteriologischen Befund bestätigt werden konnte. Hierher gehören auch Fälle mit der klinischen Diagnose Bräune (Pseudokrups), von denen uns einer zur Untersuchung zugesandt wurde und sich nach dem Ergebnis unserer Untersuchung als Diphtherie entpuppte.

Eine sehr häufige Art der Diphtherie ist die „Nasendiphtherie“. Weit öfter, als es unsere Zahlen angeben, dürfte diese Diphtherie vorkommen und sowohl epidemiologisch als auch klinisch von Bedeutung sein. Die Bedeutung der Nasendiphtherie ist in den Arbeiten von Reichenbach, R. O. Neumann (23), Gerber und Podach (21, 22) u. a. festgestellt worden. Wir konnten unter 34 uns mit der Diagnose „Rhinitis mit Diphtherieverdacht“ eingesandten Fällen 19, das sind 56 Proz., als von Diphtherie herrührend nachweisen. Es ist darauf auch an dieser Stelle nochmals hinzuweisen, daß während einer Diphtherieepidemie nicht nur auf jedwede Halserkrankung zu achten ist, sondern daß auch den einzelnen Schnupfenfällen, wie namentlich auch R. O. Neumann hervorhebt, die nötige Aufmerksamkeit zu schenken ist; dürfen wir doch nicht vergessen, daß viele dieser Schnupfenfälle leichteste Form von Nasendiphtherie sind und gerade infolge des Reichtums an Sekret und auch infolge ihrer verhältnismäßig langen Dauer einer weiteren Verbreitung der Diphtherie Vorschub leisten. Ich konnte durch Nachfrage bei verschiedenen Aerzten, namentlich aber gelegentlich der Untersuchungen von Lehrerfamilien erfahren, daß gerade zu der Zeit, als das eine oder das andere der Familienmitglieder Diphtherie durchzumachen hatte, andere Familienmitglieder mit einem fieberhaften

Schnupfen, der mit großer Mattigkeit verbunden war, aber nach ein paar Tagen spurlos vorüberging, behaftet waren. Infolge der Häufigkeit dieses Zusammentreffens auf der einen Seite einer Diphtherie, auf der anderen eines leichten Schnupfens in einer und derselben Familie, müssen wir wohl annehmen, daß jedenfalls auch diese beinahe symptomlos verlaufenden und oft gänzlich unbeachtet leichten Schnupfenanfalle zu Zeiten einer Diphtherie leichteste Diphtherieerkrankungen sein können; andererseits ist der Schnupfen während einer Diphtherieepidemie deswegen schon mit Sorgfalt zu behandeln, weil sich für den Fall, daß er auch anfangs nicht diphtherischer Natur war, im Anschluß an ihn eine Diphtherieerkrankung entwickeln kann; denn die katarrhalisch erkrankte Nasenhöhle bietet dem Eindringen von Diphtheriebacillen wenig Widerstand, ebensowenig der Weiterbeförderung derselben von hier in die Mundhöhle. Ich konnte mehrfach Fälle längere Zeit bakteriologisch untersuchen, die mir auch mit der Diagnose einfache Rhinitis eingesandt wurden, konnte hier im Anfange niemals Diphtheriebacillen nachweisen, bis plötzlich die Probe, die uns nach einer Verschlimmerung des Schnupfens und nach plötzlich eingetretenen Allgemeinerscheinungen eingesandt war, Diphtheriebacillen in Reinkultur darbot. Daß Schädigungen des Nasenepithels eine Diphtherieerkrankung begünstigen können, habe ich bereits oben an der Hand des Falles erwähnt, in welchem nach einer Nasenoperation Rachendiphtherie mit Diphtheriebacillenbefunde aufgetreten war.

Von selteneren Fällen sind zu erwähnen Diphtherieen der *Conjunctiva*, Diphtherie des Afters, Diphtherie der Vulva, Wunddiphtherie.

In letzterem Falle war die Diphtherie einer Wunde bei einem Manne aufgetreten, der sich in den Finger geschnitten hatte und in dessen Familie mehrere Kinder an Diphtherie erkrankt waren; eine Serumbehandlung hat in diesem Falle eine gute Heilwirkung gehabt. Komplikationen von Scharlach mit echter Diphtherie konnten wir in einem Falle nachweisen.

Bemerkenswert sind noch die Fälle, die uns mit der Diagnose „*Otitis media postdiphtherica*“ eingesandt wurden. In diesen sämtlichen 8 Fällen konnten wir Diphtheriebacillen meist in Reinkultur in dem Ohrsekrete nachweisen. Von Interesse dürfte es sein, zu erfahren, daß in beinahe allen diesen Fällen die *Otitis media* aufgetreten war nach Verschwinden der übrigen Krankheitssymptome, also bereits nach Beginn der scheinbaren Rekonvaleszenz. Daß hier die *Otitis media* nicht auf Grund einer Mischinfektion entstanden war, konnten wir in einigen Fällen durch den bakteriologischen Befund, welcher Reinkultur von Diphtheriebacillen ergab, beweisen. Es ist dies auch ein Beweis dafür, daß die Diphtheriebacillen gerne in den Nebenhöhlen des Nasen- und Rachenraumes eindringen und hier günstige Bedingungen für ihre weitere Entwicklungen finden. Unter den Fällen von *Otitis media* ist ein Fall inbegriffen, in welchem erst nach Ausbruch der Ohrerkrankungen die Diagnose Diphtherie gestellt werden konnte. Bei 3 Kindern der betreffenden Familie konnten wir trotz wiederholter bakteriologischer Untersuchung und trotz bestehender Halssymptome keine Diphtheriebacillen nachweisen; erst die Komplikation seitens des Ohres bei einem der Kinder stellte die ätiologische Bedeutung für diese Familienepidemie fest.

Ferner sind uns 100 Fälle ohne Diagnose zugegangen, bei denen wir in 33 Fällen Diphtheriebacillen konstatieren konnten. Einen Schluß

aus diesen Zahlen zu ziehen, ist nicht möglich, da das Fehlen einer Diagnose teils auf einem Vergessen seitens des Arztes beruht, teils aus anderen äußeren Gründen erfolgte.

Bakteriologischer Befund bei gesunden Personen.

Wichtig ist der Befund bei 16 gesunden Personen, welche nicht mit Diphtheriekranken in Berührung gekommen waren. Bei allen diesen Personen konnten wir Diphtheriebacillen nicht nachweisen. Es hat dieser Befund eine enorme Bedeutung angesichts der Behauptung vieler Autoren, daß Diphtheriebacillen auch bei gesunden Personen vorkommen, welche mit Diphtheriekranken nichts zu tun gehabt haben¹⁾.

Immunität bei Diphtherie.

Ich möchte mit einigen Worten auf die Frage zu sprechen kommen, wie lange die Immunität nach Diphtherie andauert. Wie auch aus anderen Untersuchungen früherer Autoren bekannt ist, so konnten auch wir feststellen, daß die Immunität nach Diphtherie eine sehr kurze Dauer hat. Ich selbst konnte in einigen Fällen im Verlaufe nicht ganz eines Jahres eine neue Diphtherieerkrankung desselben Individuums feststellen. Daß es sich in diesen Fällen um eine einfache Angina mit noch von der Diphtherie her bestehenden Diphtheriebacillen gehandelt hat, kann ich auf Grund unserer Befunde ausschließen; denn gerade in diesen Fällen konnten wir durch andauernde wiederholte Untersuchung nach der Rekonvaleszenz das Fehlen von Diphtheriebacillen feststellen, während bei der neuerlichen Erkrankung die bakteriologische Untersuchung Reinkultur ergab. Ist nun schon die aktive Immunität, wie es sich aus diesen Betrachtungen ergibt, eine so kurzdauernde, so können wir es umso mehr verstehen, daß bei der passiven Immunisierung die Dauer einer eventuellen Immunität eine noch viel kürzere sein muß. Es ist daher nur dringend anzuraten, nicht allzuviel sich auf die prophylaktischen Injektionen zu verlassen und nicht im Vertrauen auf diese die so wichtigen prophylaktischen Maßnahmen anderer Art zu vernachlässigen.

Was schließlich die Serumtherapie anlangt, so berichteten einhellig fast alle Aerzte, daß in den Fällen, in denen wir Diphtheriebacillen konstatieren konnten, die Diphtherieseruminjektion eine sofortige günstige Beeinflussung der Allgemeinerscheinungen (Fieber, Kollaps etc.) zur Folge hatten, während in den übrigen, selbst klinisch für Diphtherie gehaltenen Fällen, in denen wir Diphtheriebacillen nicht nachweisen konnten, durch eine Seruminjektion keine Veränderung des Krankheitsbildes hervorgerufen wurde. Spricht dieser Umstand einerseits für die Wirksamkeit der Serumtherapie, so können wir andererseits hierin auch wiederum einen Beweis für die spezifische Bedeutung der Diphtheriebacillen erblicken.

Schließlich konnte auch ich mich überzeugen, daß es angezeigt ist, möglichst hochwertige Sera zu nehmen, da man so bei gleichbleibenden Antitoxineinheiten geringere Serummenngen braucht und üble Nebenwirkungen größerer Serummenngen vermeiden kann.

Ich will nun die Resultate, zu welchen unsere Untersuchungen geführt haben, im folgenden übersichtlich zusammenstellen und zugleich

1) Anmerkung während der Korrektur: Ich konnte neuerdings bei einer großen Zahl von gesunden Personen, die mit Diphtheriekranken nicht in Berührung gekommen waren, stets das Fehlen von Diphtheriebacillen nachweisen.

auch auf die Erfahrungen zu sprechen kommen, welche durch frühere Forschungen gezeitigt wurden.

Die Diagnose der Diphtherie ist in jedem Falle durch bakteriologische Untersuchung zu sichern; haben sich doch sowohl in unseren Untersuchungen als auch in jenen von M. Neisser, Neisser und Heymann, Prip, E. Neisser u. A. die Schwierigkeiten offenbart, die einer sicheren Diagnose der Diphtherie auf Grund der klinischen Symptome allein sich entgegensetzen. Sowohl schwere Halserkrankungen haben sich in unseren Untersuchungen und in den Untersuchungen anderer, obwohl klinisch unter der Diagnose „Diphtherie“ gehend, als nicht diphtherisch erwiesen, als auch andererseits haben sich die oft leichtesten Krankheitsfälle, welche oft gar nicht diphtherieverdächtig aussahen, auf Grund der bakteriologischen Untersuchung als Diphtherie entpuppt.

Die Diagnose der Diphtheriebacillen erfolgt fast ausschließlich auf Grund des Züchtungsverfahrens auf Loefflerschen Serumplatten. Eine Untersuchung des direkten Ausstriches von den Tonsillen führt in den meisten Fällen nicht zu einem sicheren Resultat. Die Untersuchung der Platten geschieht mittelst Klatschpräparaten, welche mit Methylenblau und nach Neisser gefärbt werden. In zweifelhaften Fällen entscheidet der Tierversuch. Nicht zugänglich ist es, die Diagnose „Diphtherie“, wie es oft in Kliniken geschieht, nur auf Grund des direkten Deckglaspräparates zu stellen. Wünschenswert ist es, daß die bakteriologische Diagnose allenthalben Zentralinstituten anvertraut wird, da für diese Untersuchungen eine große Erfahrung und Uebung notwendig ist.

Die Einwände, daß auch andere Bacillen für Diphtheriebacillen gehalten werden können, und daß ferner auch Diphtheriebacillen oft nicht als solche erkannt werden, sind nach meinen Erfahrungen, die sich in dieser Beziehung mit denen von M. Neisser decken, nicht stichhaltig, falls die Untersuchungen geübten Bakteriologen anvertraut werden.

Daß bei sicherer Diphtherie keine Diphtheriebacillen gefunden werden, gehört zu den äußersten Seltenheiten und ist nur durch ganz besondere Umstände bedingt. Ich habe unter mehr als 5000 Fällen nur 3mal bei klinisch sicherer Diphtherie, welche später auch bakteriologisch als sichere Diphtherie nachgewiesen werden konnte, keine Diphtheriebacillen finden können, und da diese 3 Untersuchungen Kinder derselben Familie betrafen, so dürfte es sich um gleiche äußere Umstände (Art der Entnahme, häufige Desinfektion oder dergleichen) gehandelt haben.

Der häufige scheinbare Widerspruch zwischen klinischer und bakteriologischer Diagnose ist durch die Unzulänglichkeit der klinischen Diagnose bedingt.

Die Diphtheriebacillen sind nicht ubiquitär, sondern kommen nur bei Diphtheriekranken und bei Personen, die mit den Diphtheriekranken in irgend welche Beziehung getreten waren, vor.

Die Angaben Kobers (14) sowie Cobbets (16), daß die Diphtheriebacillen auf die Umgebung des Diphtheriekranken beschränkt sind, konnte auch ich durch meine Untersuchungen bestätigen. Es ist daher nicht anzuzweifeln, daß der Diphtheriebacillus ein spezifischer Krankheitserreger ist: „der Erreger der Diphtherie“. Was die Infektionsträger anbelangt, so sind es vor allem die Diphtherie-

kranken selbst, ferner die Rekonvaleszenten sowie die gesunden Angehörigen derselben. Aus den Untersuchungen Prips geht hervor, daß in einer nicht unerheblichen Zahl von Diphtherieinfektionsfällen die Erkrankung hervorgerufen wird durch den Kontakt mit Rekonvaleszenten, wie auch mit den gesunden Angehörigen derselben, bei denen Diphtheriebacillen bakteriologisch nachweisbar sind. Wenn Prip in seinen Beobachtungen 4 Proz. aller seiner Fälle als mit Sicherheit von Rekonvaleszenten ausgehend, 3 weitere Prozente mit Wahrscheinlichkeit von solchen ausgehend, sicherstellen konnte, so muß man diese Zahlen noch immerhin als Minimalzahlen auffassen; denn auch ich konnte durch nähere Umfragen in einer überaus großen Anzahl von Fällen feststellen, daß in einer verhältnismäßig großen Anzahl der Erkrankungen die Infektion von der Berührung mit Rekonvaleszenten herrührt. Daß auch Gesunde die Ueberträger der Diphtherie sein können, dafür boten mir viele Krankheitsberichte einen sicheren Anhaltspunkt. Die Infektion erfolgt meistens von Mensch zu Mensch; daher ist die Desinfektion allein ohne Isolation der kranken und gesunden Bacillenträger eine ungenügende Maßregel; freilich müssen wir auch darauf Rücksicht nehmen, daß auch Gegenstände, die in Berührung mit Diphtheriekranken resp. Rekonvaleszenten gekommen sind, Diphtherie übertragen können; so hat auch Park (24) in der Wäsche, Abel (7) am Spielzeug, Sevestre (25), Johannessen (26) an Kleidungsstücken, die von diphtheriekranken Personen herrührten, noch durch sehr lange Zeit nach der Erkrankung infektionstüchtige Diphtheriebacillen nachweisen können. Flügge (17), Neisser, Ritter (18), Wright und Emerson (19) u. A. fanden im Staube der Krankenzimmer, in welchen sich die Diphtheriepatienten aufgehalten hatten, virulente Diphtheriebacillen. Wir haben Veranlassung, anzunehmen, daß eine Uebertragung sowohl durch Spielzeuge als auch durch Nahrungsmittel (Milch) wie auch durch den Staub in der Tat hin und wieder vorkommen kann; doch tritt dieser Infektionsmodus jedenfalls sehr in den Hintergrund gegenüber der hauptsächlichlichen Uebertragungsweise der Diphtherie: von Mensch zu Mensch. Die Eintrittspforten der Diphtherieinfektion sind hauptsächlich die oberen Luftwege und zwar kommt hier der Rachenraum sowohl wie die Nase in Betracht. Seltener Eintrittspforten sind die Conjunctiva, dann Vulva, After und Haut. Hautdiphtherie kommt fast ausschließlich nur nach Verletzungen vor.

Das Vorhandensein von Diphtheriebacillen im Organismus bedingt noch nicht immer eine Erkrankung mit Diphtheritis. Finden wir doch bei zahllosen gesunden Personen in der Umgebung Diphtheriekranker Diphtheriebacillen in Mund- und Nasenhöhle, ohne daß diese die geringsten Krankheitssymptome zu zeigen brauchen. Zur Erkrankung gehört eine gewisse Disposition. Wir müssen auch bei der Diphtherie eine natürliche und eine künstliche Disposition unterscheiden. Bei gewissen Personen wird das Hineingelangen von Diphtheriebacillen in die oberen Luftwege ausreichen, um mit großer Sicherheit eine Diphtherieerkrankung zu bedingen; bei anderen Personen wird erst eine thermische, mechanische oder chemische Schädigung der Schleimhäute der oberen Atmungswege die Disposition für Diphtherie hervorrufen. Zu erinnern ist an den Fall, in welchem wir erst nach einer Nasenoperation Diphtherie auftreten sahen, obzwar vorher schon durch lange Zeit bei vollster Gesundheit Diphtheriebacillen nachweisbar waren.

Die Maßnahmen zur Verhütung der Diphtherie sind bereits vielfach von kompetenter Seite erörtert worden. Hauptsächlich ist hier C. Fränkel (20) zu erwähnen, der in seinem Vortrage in Kiel am 11. September 1896 mustergültige Maßnahmen gegen die Diphtherieepidemie vorschlug. Ich möchte unsere Erfahrungen über die Bekämpfung der Diphtherie in folgende Satzsätze zusammenfassen.

1) Infektionsträger sind sowohl die diphtheriekranken Personen als auch die Diphtherierekonvaleszenten, sowie die gesunden Angehörigen, nebenbei sind auch Gebrauchsgegenstände und Genußmittel, mit welchen der Kranke in Berührung kam, als eventuelle Ueberträger der Infektion im Auge zu behalten.

2) Die Maßnahmen gegen die Weiterverbreitung der Diphtherie richten sich also vor allem gegen die Diphtheriebacillenträger, das sind die erkrankten Personen während und nach ihrer Erkrankung, sowie deren Angehörige; auch wird man niemals Gegenstände, die der Erkrankte gebraucht hat, ohne vorangehende Desinfektion der Benutzung seitens anderer gesunder Personen überweisen.

3) Wichtig ist der möglichst frühzeitige Nachweis der Diphtheriebacillen bei den Erkrankten und bei ihren Angehörigen; namentlich von Bedeutung ist die Erkennung der leichtesten Krankheitsfälle. Während einer Diphtherieepidemie soll ein jedweder ungewisser fieberhafter Krankheitsprozeß, namentlich bei Kindern, der bakteriologischen Untersuchung auf Diphtheriebacillen zugeführt werden, während der Rekonvaleszenz und bei den gesunden Angehörigen soll so lange untersucht werden, bis mindestens 2 oder 3 aufeinanderfolgende Untersuchungen bei allen Familienmitgliedern keine Diphtheriebacillen mehr nachweisen können.

4) Die Kranken müssen auf das sorgfältigste von den Gesunden isoliert werden. Ihre krankhaften Sekrete müssen durch Desinfektion unschädlich gemacht werden, ebenso muß eine sorgfältige Desinfektion der Wäsche, Eßgeschirre und der übrigen Gebrauchsgegenstände stattfinden. Eine Abkürzung des Krankheitsprozesses durch die Serumtherapie ist auch für die Verhütung der Weiterverbreitung von Wichtigkeit. Die Rekonvaleszenten müssen von den gesunden Angehörigen mit derselben Strenge isoliert werden, wie während der Dauer der Erkrankung; erst nach sicherem Fehlen von Diphtheriebacillen in den Sekreten des Mund- und Nasenraumes darf die Absperrung der Kranken aufgehoben werden.

5) Die gesunden Angehörigen sind, namentlich wenn sie im jugendlichen Alter stehen, durch prophylaktische Seruminjektion gegen die Ansteckung zu schützen.

Um einer Weiterverbreitung der Diphtherie durch die gesunden Angehörigen entgegenzutreten, müssen diese auf alle Fälle, ob sie nun Diphtheriebacillen beherbergen oder nicht, wenn es sich um Schüler oder Lehrer handelt, so lange vom Schulbesuch ferngehalten werden, als bei einem der Familienmitglieder noch Diphtheriebacillen nachweisbar sind.

6) Bei Schulepidemien ist die prophylaktische Seruminjektion nicht als unbedingt zureichend anzuerkennen, da sich die immunisatorische Wirksamkeit nur auf sehr kurze Zeit erstreckt. Es müssen bei einer Schulepidemie die Diphtherieträger eruiert werden und von den übrigen Kindern getrennt werden, eventuell muß man die Schule schließen.

7) Diese Maßnahmen sind auch auf die Inhaber und die sonst be-

schäftigten Personen in Nahrungsmittelbetrieben sowohl als auch auf die Angestellten in Warenhäusern auszudehnen.

8) Desinfektorische Gurgelungen sowohl der gesunden als auch der kranken Personen während einer Diphtherieepidemie sind eine gute Prophylaxe einerseits gegen die Erkrankung der Diphtherie, andererseits gegen die Weiterverbreitung derselben.

Es sei mir zum Schlusse gestattet, meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Prof. Dr. R. Pfeiffer, für das rege Interesse, das er meinen Untersuchungen entgegengebracht hat, meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

- 1) Loeffler, Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen u. s. w. (Mittel. a. d. kais. Ges.-Amt. Bd. II. 1884.)
 - , Centralbl. f. Bakt. Bd. II. 1887. p. 105.
 - , Mittel. im Greifswalder med. Verein. 1. 1888. Déz.
 - , Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1890. p. 528.
 - , Berl. klin. Wochenschr. 1890.
 - , Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 5 u. 6.
 - , Verhandl. über Diphtherie. VIII. internat. Kongreß f. Hyg.
 - , Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 10.
 - , Deutsche Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. Bd. XXVII.
 - , Deutsche med. Wochenschr. 1894. No. 42.
 - , Hygiene der Milchprodukte. (Deutsche Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. Bd. XXXIV. 1902.
- 2) Roux u. Yersin, Annales d'Inst. Pasteur. Dec. 1888.
 - , Ibid. 1889.
 - , (III. Mémoire.) Ibid. Mai 1890.
- 3) v. Behring, Deutsche med. Wochenschr. 1882. p. 147 u. 1887. p. 422.
 - , Centralbl. f. klin. Med. 1888. No. 38.
 - , u. Nissen, Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. p. 412.
 - , ibid. Bd. IX. 1890. p. 395 u. Bd. XII. 1892.
 - , Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 50.
 - , u. Kitasato Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 49.
 - , Allgemeine Therapie der Infektionskrankheiten. 1006 p. Wien (Urban u. Schwarzenberg) 1899.
 - , u. Wernicke, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XII. 1892.
 - , Geschichte der Diphtherie. Leipzig (Thieme) 1893.
 - , Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 52.
 - , ibid. 1893. No. 23, 24 u. 25.
 - , Blutserumtherapie. I. u. II. Leipzig (Thieme) 1892.
 - , Boer u. Kossel, Deutsche med. Wochenschr. 1893. No. 17 u. 18.
 - , u. Knorr, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. 1893.
 - , u. Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 1894. No. 20.
 - , Gesammelte Abhandlungen z. ätiologischen Therapie von ansteckenden Krankheiten. Leipzig 1893.
 - , Infektion und Desinfektion. Leipzig 1894.
 - , Antitoxisch-therapeutische Probleme. (Fortschr. d. Med. 1898.)
 - , Allgemeine Therapie der Infektionskrankheiten. (Lehrb. d. allg. Therapie von Eulenburg u. Samuel.)
 - , Diphtherie. (Bibliothek v. Coler. 1901.)
- 4) Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 32 u. No. 49.
 - , Klin. Jahrb. Bd. VI. 1897.
 - , u. Kossel, Zeitschr. f. Hyg. 1894.
 - , u. Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. 1894.
 - , u. Hübner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. 1894.
 - , Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 38.
- 5) Wernicke, Immunität bei Diphtherie. (Kolle u. Wassermann, Lehrb. d. path. Mikroorg.)
- 6) Escherich, Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1890.
 - , Aetiologie und Pathogenese der epidem. Diphtherie. Wien (Hölder) 1894.
 - , Wien. med. Wochenschr. 1893.

- 7) Abel, Zur Kenntnis der Diphtheriebacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1894. No. 35.
— —, Zur Aetiologie der Rhinitis fibrinosa. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. p. 843.)
— —, Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893; Bd. XVII. 1895.
- 8) Babes, Progrès méd. 1886.
— —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889.
— —, ibid. Bd. XX. 1895.
— —, Virchows Arch. Bd. CXIX. 1890.
- 9) Ernst, Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. 1888.
— —, ibid. Bd. V. 1889.
- 10) Neisser, M., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIV. 1897. p. 443.
— — u. Heymann, Klin. Jahrb. Bd. VII. 1899.
— —, Hyg. Rundschau. Bd. XIII. 1903. No. 14.
— —, Berl. klin. Wochenschr. 1904. 14. März. p. 283.
- 11) Baumgarten, Berlin. klin. Wochenschr. No. 31, 32.
— —, Zahlreiche Bemerkungen in Baumgartens Jahresberichten.
- 12) Zupnik, Berlin. klin. Wochenschr. 1897. No. 50. p. 1085.
— —, Prag. med. Wochenschr. 1902. No. 30. p. 361.
- 13) Prip, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 283.
- 14) Kober, M., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. 1899. p. 433.
- 15) Gabritschewsky, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXI. No. 15. p. 813.
— —, Schwierigkeiten bei der Bekämpfung der Diphtherie. (Wratsch. 1901. No. 11.)
— —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 45.
- 16) Cobbett, Journ. of Hyg. Vol. I. p. 235.
— —, Ibid. p. 228.
— —, Edinburgh med. Journ. 1900. June.
- 17) Flügge, Zeitschr. f. Infektionskrankh. Bd. XVII. 1894.
- 18) Ritter, Berlin. klin. Wochenschr. 1892.
— —, Verhandl. der X. Versamml. der Gesellsch. f. Kinderheilk. Wiesbaden 1894.
- 19) Wright u. Emerson, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIV. 1894.
- 20) Fränkel, C., Deutsche Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. Bd. XXIX. 1897. Heft 1.
- 21) Gerber u. Podack, Deutsches Arch. f. klin. Med. No. 54. p. 262.
- 22) Podack, Ueber fibrinöse Entzündung etc. [Inaug.-Diss.]
- 23) Neumann, R. O., Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. 1902. No. 2.
- 24) Park, Med. Record (New York). 1892. July 30 and Aug. 6.
- 25) Sevestre, Rev. d'hyg. 1905. No. 4.
- 26) Johannessen, Deutsche med. Wochenschr. 1895.
Beck, Diphtherie. (Kolle u. Wassermann, Lehrb. d. pathog. Mikroorg. Bd. II.)
Rautenberg, Sitzungsber. d. Königsberger Ver. f. wissenschaftl. Heilkunde.

Nachdruck verboten.

Typhusbacillen in der Milch.

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz-Josef-Universität zu Kolozsvár (Direktor: Dr. J. v. Lőte, o. ö. Professor).]

Von Dr. Daniel Konrádi, Assistenten.

Mit der Forschung nach der Ursache der Infektionskrankheiten entstand gleichzeitig auch das Bestreben, die Wege, auf welchen der Krankheitserreger den Organismus angreift, und auf welchen derselbe den Organismus verläßt, möglichst kennen zu lernen. Die genauen Kenntnisse dieser Umstände bilden die Basis der modernen Prophylaxe. Diese Umstände waren bezüglich der Verbreitung besonders zweier Infektionskrankheiten, der Cholera asiatica und des Typhus abdominalis, von größter Wichtigkeit. Auf Grund dieser Umstände trat an Stelle der Pettenkoferschen Theorie diejenige R. Kochs und seiner Schule, nach welcher man heute keine miasmatische und mias-

matiko-kontagiöse Infektionskrankheiten kennt. Auf diese Art wurde die früher miasmatische Malaria auf einmal zur kontagiösen und der frühere miasmatiko-kontagiöse Unterleibstypus zur kontagiösen Infektionskrankheit. Betrachten wir im folgenden die Entstehungsverhältnisse dieser letzteren Infektionskrankheit ein wenig eingehender.

Es ist allgemein bekannt, daß eine der wichtigsten Quellen der Typhusinfektion das Wasser ist. Vor 3 Jahren hatte ich auch die Gelegenheit, diese Tatsache durch eine diesbezügliche Erfahrung zu bekräftigen.

Ueber eine sehr interessante diesbezügliche Erfahrung wurde ich durch den Herrn Kollegen Dr. Simó unterrichtet. Anfangs Mai 1904 entstand explosionsartig in der 450 Seelen zählenden Gemeinde Bőő (Komitat Maros-Torda) eine Typhusepidemie. In der ersten Woche kamen 35—40 Fälle vor, und in einer Frist von 6 Wochen stieg die Zahl dieser Fälle auf 200. Die Infektion geschah durch den auf dem Marktplatze der Gemeinde sich befindenden Brunnen, welchen die ganze Gemeinde benützte. Der Brunnen wurde durch die Dejekte eines aus einem fremden Dorfe krank Heimgekehrten infiziert. Dieser wohnte in der Nähe des Brunnens etwas erhoben, und es konnte nachgewiesen werden, daß die Lage und die Beschaffenheit des Bodens das Hineinsickern der auf dem Düngerhaufen entleerten Dejekte möglich machte. Der Brunnen wurde für immer verschüttet und die Epidemie nahm alsbald ihr Ende.

Sehr interessant ist vom Standpunkte des häufigen Vorkommens die Arbeit Schüders. Schüder hat 638 Typhusepidemien und 12 einzelne Fälle aus der in- und ausländischen Literatur von 1870—1899 zusammengestellt. Aus dieser Zusammenstellung wissen wir, daß in 77,4 Proz. der Fälle das Wasser die Schuld war. Neuestens berichtet Borntraeger über eine Typhusepidemie mit 118 Erkrankungen und 9,3 Proz. Mortalität, deren Quelle ebenfalls das Wasser war.

Nach dem Wasser folgt in zweiter Reihe die Milch, und zwar nach den Angaben Schüders in 17 Proz., und im größeren Abstand die Kontaktinfektion in 4,3 Proz. der Fälle.

Die Bedeutung der Kontaktinfektion ist neuestens immer mehr und mehr in den Vordergrund getreten, ja sogar ist nach Seige diese Art der Entstehung des Unterleibstypus in erster Linie verantwortlich zu machen. In einer Mitteilung „Ueber Kontaktinfektion als Aetiologie des Typhus“ (1905) berichtet Seige über sehr interessante Fälle, in welchen sich ein Kontakt mit „Typhusträgern“ immer nachweisen ließ. Besonders gefährlich sind in dieser Beziehung die sogenannten „Typhusbacillenträger“, über welche Lentz neuestens in einem besonderen Artikel „Ueber chronische Typhusbacillenträger“ handelt.

Ueber solche Befunde von Typhusbacillen finden wir viele Daten in der Literatur (Neufeld, Frosch, Drigalski, Dönitz, Lentz).

Aber auch außerhalb des menschlichen Organismus können die Typhusbacillen sehr lange am Leben bleiben, wie dies auch meine Untersuchungen beweisen.

Was die Infektionswege beim Unterleibstypus anbelangt, so müssen wir gestehen, daß wir noch weit davon sind, alle diese Wege zu kennen. So kommt z. B. nach Veeder für Feldarmeen eine Uebertragung auch durch Fliegen vor. Diese Beobachtung machten auch die englischen Militärärzte in Süd-Afrika. Deshalb ließ Cummins alle Exkreme in eiserne Kessel entleeren, deren Inhalt täglich ausgekocht wurde. Nach

Warry soll auch Wasserkren (cresson) bei der Uebertragung eine Rolle spielen. Wasserkren genießen die Engländer sehr gerne in rohem Zustand. Es scheint aber, daß auch hier das Wasser die Schuld bei der Uebertragung hat.

Im folgenden soll über eine Typhusepidemie berichtet werden, die in der Stadt Kolozsvár im Herbst 1904 vorkam.

Vorher soll aber eine Zusammenstellung über die Typhuserkrankungen der letzten 10 Jahre folgen, für welche ich Herrn Stadtphysikus Dr. Johann v. Bartha zu Danke verpflichtet bin.

Jahr	Einwohner	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember	Summa	Auf 1000 Einwohner fällt
1894	38 472	2 (2)	2 (0)	2 (0)	1 (1)	1 (1)	6 (1)	2 (0)	5 (2)	10 (1)	9 (3)	13 (1)	14 (5)	67 (17)	1,74
1895	41 571	21 (4)	12 (3)	8 (2)	4 (0)	5 (4)	2 (2)	2 (0)	5 (0)	5 (0)	9 (3)	11 (1)	6 (1)	90 (20)	2,16
1896	42 611	12 (1)	6 (0)	9 (2)	5 (3)	0 (0)	2 (0)	4 (3)	1 (1)	9 (1)	5 (0)	6 (1)	0 (1)	59 (13)	1,38
1897	43 459	10 (2)	10 (3)	24 (4)	4 (1)	7 (3)	18 (2)	17 (2)	21 (3)	11 (4)	22 (3)	14 (1)	14 (4)	172 (32)	3,98
1898	44 326	16 (2)	18 (2)	29 (4)	17 (4)	7 (0)	10 (2)	24 (4)	21 (2)	32 (4)	13 (0)	35 (2)	31 (2)	253 (28)	5,70
1899	44 869	21 (6)	11 (3)	8 (0)	6 (5)	3 (3)	1 (0)	5 (0)	1 (0)	8 (0)	15 (2)	7 (5)	7 (0)	93 (24)	2,07
1900	45 322	11 (3)	21 (5)	6 (2)	6 (4)	6 (2)	8 (3)	5 (0)	11 (2)	11 (0)	12 (0)	14 (3)	10 (1)	121 (25)	2,66
1901	48 027	5 (1)	9 (2)	10 (1)	5 (1)	2 (0)	8 (1)	6 (0)	6 (1)	6 (2)	13 (1)	4 (2)	8 (1)	82 (13)	1,70
1902	49 956	8 (3)	4 (1)	3 (0)	0 (0)	4 (1)	6 (2)	1 (0)	3 (3)	22 (0)	18 (1)	25 (1)	10 (3)	104 (15)	2,08
1903	50 637	16 (2)	10 (2)	9 (1)	4 (3)	9 (2)	7 (3)	13 (2)	8 (2)	27 (2)	26 (0)	9 (1)	9 (2)	147 (22)	2,90
1904	50 994	7 (0)	10 (2)	12 (2)	8 (1)	12 (2)	12 (3)	20 (1)	12 (1)	19 (0)	35 (4)	31 (3)	28 (5)	206 (24)	4,04
1905	50 994	31 (5)	8 (1)	12 (3)	7 (4)	6 (2)	12 (3)								

Die Zahlen in () bedeuten die Mortalität.

Wie auch aus dieser Zusammenstellung ersichtlich ist, kommen in der Stadt Kolozsvár Typhusfälle immer vor, nur ist manchmal die Zahl der Erkrankungen relativ größer. So geschah dies auch im Herbst 1904. Es ist nun selbstverständlich, daß man nach der Infektionsquelle forschte, und gerade Herrn Prof. Purjesz war es auffallend, daß sich mehrere von dem Hilfspersonale eines hiesigen Bäckergeschäftes fast auf einmal in die interne Klinik aufnehmen ließen, wo sich herausstellte, daß sie an Unterleibstypus leiden. Auf seine Anweisung hin wurden dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie, wo auch das städtische Leitungswasser unter amtlicher Kontrolle steht, Milchproben eingesandt. Die Typhuserkrankungen konnten nach den Ergebnissen der Wasseruntersuchungen nicht mit dem Wasser in Zusammenhang gebracht werden. Die bakteriologischen Untersuchungen der Milch aber brachten Licht in dieser Frage.

Ich fand nämlich in einem Tropfen der aus dem obenerwähnten Bäckergeschäfte am 26. Oktober 1904 entnommenen Milchprobe neben vielen anderen Kolonien 9 solche, welche bei kleiner Vergrößerung (Reichert Okk. 2, Obj. 4) das folgende Bild zeigten: Dünne Kolonie, die im großen und ganzen eiförmig ist, doch ihr Rand ist entschieden gelappt, der Rand der Lappen ist ungleich und weniger tief gezackt, übrigens zeigt die Kolonie überall scharfe Konturen, je nach dem Hoch- oder Tiefstand des Objektives mit dunkler oder hellerer Grenzlinie. In ihrer Mitte ein stumpf-eiförmiger, ziemlich scharf begrenzter und gekörneter Kern, der blaß gelb-grau ist, und entschieden netzförmige Aderung zeigt. Die Kolonie selbst ist auch gleichförmig fein gekörnt und zeigt vom Zentrum ausgehende zahlreiche, in sich verzweigte, gewundene

Striche, deren einzelne Maschen ziemlich breit sind, weißlichgrau und wachsartig glänzend. Diese Aderung umfaßt vom Zentrum bis zur Peripherie die ganze Kolonie. Den gelblichgrauen Kern umfaßt eine weißlichgraue Zone, welche successive in eine mittlere hellgelbgraue, die dann ebenfalls in die ganz helle, weißgraue Randzone übergeht (48 Stunden alte Kolonie).

Morphologische Eigenschaften: Kurze, plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden, welche im hängenden Tropfen ebensolche Eigenbewegung zeigten, wie die zur Kontrolle dienenden echten Typhusbacillen; bei der Cilienfärbung sieht man viele ringsumherliegende Cilien. Gram negativ.

Biologische Eigenschaften: Gelatine wird nicht verflüssigt, Milch wird nicht koaguliert, jedoch gedeihen die Bacillen in derselben ganz gut. In Zucker enthaltenden Nährböden wird kein Gas gebildet. Auf der Oberfläche der Kartoffel sieht man, daß der aus der Milch isolierte Bacillus gerade so gedeiht, wie der auf der anderen Hälfte derselben Kartoffel sich entwickelnde echte Typhusbacillus. Bouillon wird gleichmäßig getrübt, ohne Häutchenbildung. In der Lackmusmolke nach Petruschky produzieren sie so wenig Säure, daß von der $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge nur 3 Tropfen zur Neutralisation nötig war, während bei Coli 15 Tropfen derselben Lauge gebraucht wurden. In der Maassenschen Normallösung gedeihen diese Bacillen nicht. Indol wird nicht gebildet. Auf dem Nährboden von Drigalski-Conradi bilden sie durchscheinende blaue Kolonien, gerade so, wie der zur Kontrolle benutzte echte Typhusbacillus.

Die Agglutination wurde mit zwei Menschen- und einem Kaninchenserum durchgeführt.

a) Menschenserum agglutinierte die isolierten Bacillen bei der Verdünnung 1:100.

b) Menschenserum bei 1:200¹⁾.

c) Kaninchenserum, welches durch vorherige zweimalige Inokulation echter Typhusbacillen in die Bauchhöhle eines Kaninchens hergestellt wurde. Die erste Inokulation geschah am 15. Dezember 1904, die zweite am 1. Januar 1905. Serumgewinnung am 15. Januar. Dieses Serum agglutinierte die isolierten Bacillen auch bei einer Verdünnung von 1:8000.

Mit diesem Kaninchenserum wurde auch die Pfeiffersche Reaktion durchgeführt, und zwar, wie folgt: Mit 1 ccm Bouillon vermischte ich 0,02 ccm Serum und zerrieb darin eine 2 mm große Oese der 20-stündigen Agarkultur des aus der Milch isolierten Bacillus. Diese wurde dann in die Bauchhöhle des gesunden Meerschweinchens gespritzt. Nach 30 Minuten wurde mittels Glaskapillare Serum entnommen. Die Bacillen zeigten gar keine Eigenbewegung, waren ganz zerfallen, nahmen die Farbstoffe nicht an. Das Meerschweinchen blieb am Leben. Das andere Meerschweinchen, welches mit derselben Dosis, aber ohne Serum, injiziert wurde, ging am nächsten Tage zu Grunde. Es waren also 0,02 ccm Typhusserum im stande, die Tiere vor der tödlichen Infektion zu retten, resp. die Bacillen in der Bauchhöhle des Meerschweinchens während 30 Minuten aufzulösen.

Alle diese Versuche zeigen deutlich, daß die aus

1) Ueber diese Ergebnisse wurde in der ärztlichen Fachsitzung am 17. Dezember 1904 berichtet. (Sitzungsberichte des „Erdélyi Muzem-Egylet“.)

der Milch isolierten Bacillen sowohl in ihren morphologischen, als auch biologischen Eigenschaften mit den echten Typhusbacillen identisch sind.

Als wir dem Physikatsamt über das Resultat dieser Untersuchungen berichtet hatten, und dasselbe die notwendigen prophylaktischen Maßregeln durchführen ließ, nahm die Zahl der Erkrankungen ab, und sank schon im Februar 1905 auf 8.

Es schien aber notwendig, möglichst alle Bezugsquellen der Milch einer Untersuchung zu unterwerfen. Dies bestrebend, untersuchte ich von 33 Bezugsquellen stammende Milch. Die Untersuchungen ergaben, daß wir in den Proben sehr viele saprophytische Bakterien fanden, aus dem Tropfen einiger entwickelten sich unzählige Kolonien, in mehreren fand ich auch den *Bac. violaceus*. Auch fanden sich sehr viele verflüssigende Arten.

In einer anderen Milchprobe, welche aus einer hiesigen Milchwirtschaft (Kleinverkauf) stammte, konnten ebenfalls echte Typhusbacillen nachgewiesen werden mit allen obenerwähnten Eigenschaften. In diesem letzten Falle gelang es uns auch, den Weg auszuforschen, auf welchem der Typhusbacillus in die Milch gelangte. Der eine Sohn des Wirtes der erwähnten Wirtschaft litt an einem leichten Typhus, der ihn aber nicht verhinderte, die Kühe zu melken, und so kamen von seinen Händen die Bacillen in die Milch.

Es konnte also aus 33 Milchproben in zweien der Typhusbacillus nachgewiesen werden.

Dieser Nachweis ist insoweit von Wert, als es bis jetzt den literarischen Angaben nach noch in keinem Falle gelungen ist, den Typhusbacillus in der Milch nachzuweisen¹⁾, obwohl viele Typhusepidemien bekannt sind, deren Entstehen mit der Milch in Zusammenhang gebracht werden konnte (E. Hart, E. Roth, Schlegten-dal, de Rossi, Ricken, Riedel, Wilkens, Sedgwick, Hünermann, Schüder, R. Behla u. a.).

Uns Ungarn ist die im Jahre 1904 in der Stadt Arad aufgetretene Typhusepidemie noch in lebhafter Erinnerung. Diese Epidemie kann ich nach den Angaben des Herrn Oberphysikus Dr. Ludwig Pozsgai in folgendem beschreiben:

In der ersten Hälfte des Jahres 1904 kamen in der Stadt Arad im ganzen 8 Typhusfälle vor. Anfangs Juli wurde 1 Fall gemeldet. Von der 3. Woche dieses Monats angefangen, kamen die Erkrankungen immer häufiger vor: Es wurden am 19. Juli 2, 21. 2, 24. 5, 25. 1, 27. 6, 28. 6, 29. 8, 30. 3, 31. 5 Erkrankungen angezeigt, so daß der Charakter einer Epidemie konstatiert werden konnte. Die Epidemie erreichte ihren

1) R. Behla schreibt auf p. 27 seiner interessanten Arbeit: „Die Sammelmolke-reien als Typhusverbreiter“ folgendes: „Bis jetzt ist der Nachweis (nämlich des Typhusbacillus in der Milch) in keinem Falle gelungen... Wir müssen uns in der Regel begnügen, auf indirektem Wege die ätiologische Rolle der Milch bei der Entstehung von Typhusepidemien klarzulegen...“ In der ersten Abteilung des XVIII. Jahrganges des Jahresberichts von Baumgarten-Tangl (1902) (erschienen 1904) referiert Kempner die obenerwähnte Arbeit von R. Behla und berichtet auch über die Ergebnisse von Reynolds (The typhoid fever situation in Chicago): „Während der letztjährigen Typhusepidemie in Chicago wurden in der Milch nur typhusähnliche Stäbchen gefunden. Dagegen wurden in den Vorjahren bei den kleineren, mehr lokalen Epidemien, welche mit der Milchversorgung in Verbindung standen, echte Typhusbacillen in der Milch nachgewiesen.“ Nähere Daten, ausführliche Beschreibung, Identifizierung dieser Bacillen sind mir nicht bekannt. In diesem Sinne ist meine Beobachtung die zweite in der Literatur.

Höhepunkt Mitte August, als die Zahl der Erkrankungen tagtäglich 4, 5, 6, 7, in 2 Fällen sogar 8 betrug, so daß die Zahl der Erkrankungen bis 15. August auf 60 stieg. Von diesem Zeitpunkte angefangen, nahm die Zahl fortwährend ab, so daß die Epidemie Mitte Oktober ihr Ende fand. In einer Frist von $3\frac{1}{2}$ Monaten erkrankten im ganzen 142 Personen.

Die Epidemie konnte mit dem Wasser in keinen Zusammenhang gebracht werden.

In den ersten Tagen der Epidemie war es auffallend, daß die Erkrankungen gerade in besseren Kreisen ihr Opfer fanden. Aus diesem Grunde wurde die Infektionsquelle in den Nahrungsmitteln gesucht. Es konnte bald konstatiert werden, daß der größte Teil der Erkrankungen durch die Schlagsahne, welche aus dem benachbarten Új-Arad bezogen wurde, hervorgerufen war. Es konnte nachgewiesen werden, daß dort aus der Umgebung eines Typhuskranken Schlagsahne in mehrere Konditoreien und Kaffeehäuser nach Arad expediert wurde. Es war weiter noch zu konstatieren, daß die Mehrzahl der Erkrankten (82) in dieser Zeit in den betreffenden Konditoreien von dieser Schlagsahne genossen hatten.

Als Beweis dient noch der Umstand, daß die Opfer dieser Epidemie zum größten Teile Frauen und Kinder waren, und zwar 67 Frauen und 33 Kinder.

Auch aus dieser Epidemie ist ersichtlich, wie man auf die Infektionsquelle einer Epidemie auch ohne bakteriologische Untersuchungen folgern kann. Lehrreich ist dieselbe auch von dem Standpunkte aus, daß es gelungen ist, die Wege und die Umstände der Entstehung genau kennen zu lernen, was leider in meinem ersten Falle nicht nachgewiesen werden konnte. Ich konnte nur so viel erfahren, daß das Bäckergeschäft, in dessen Milch ich die Bacillen zuerst nachgewiesen habe, seine Bedürfnisse aus einer weit gelegenen Gemeinde deckt.

Literatur.

- Behla, Die Sammelmolkereien als Typhusverbreiter. Jena 1902.
 Borntraeger, Typhusepidemie infolge Wasserbeckenverseuchung. (Beiträge z. Typhusforschung. Jena 1905.)
 Cummins, zitiert bei E. Marx: Die experimentelle Diagnostik etc. der Infektionskrankheiten. Berlin 1902.
 Dönitz, Festschrift für R. Koch. 1903.
 Drigalski, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI.
 Frosch, Regionäre Typhusimmunität. (Festschr. f. R. Koch.)
 Hünemann, Zwei Typhusepidemien beim VIII. Armeekorps. (Deutsche militärärztl. Zeitschr. 1901.)
 Harth, E., zitiert bei Behla, Die Sammelmolkereien etc.
 Konrádi, Typhusbacillen im Brunnenwasser. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV.)
 —, Ueber die Lebensdauer pathogener Bakterien im Wasser. (Ibid.)
 Lentz, Brunnen- oder Kontaktepidemie? (Beitr. z. Typhusforschung. Jena 1905.)
 Neufeld, Typhus. (Kolle-Wassermanns Handb. Bd. II. 1903.)
 Ricken, Unterleibstyphus und Molkereien. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1901.)
 Riedel, Ein Beitrag zur Typhusverbreitung durch Milch. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1898.)
 de Rossi, Ueber die Milch als Verbreiterin von Infektionskrankheiten. (Ref. Centralbl. f. öffentl. Gesundheitspflege. 1898.)
 Roth, E., Ueber Verbreitung des Typhus durch Milch. (Deutsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. 1890.)
 Schlegten dal, Die Bedeutung der Molkereien für die Verbreitung des Unterleibstyphus. (Deutsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. Bd. XXXII.)
 Schüder, Zur Aetiologie des Typhus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVIII. 1901.)

Sedgwick, Ueber die Verschleppung des Typhus durch Milch. (Zeitschr. f. Milch- u. Fleischhyg. 1899.)

Seige, Ueber Kontaktinfektion als Aetiologie des Typhus. (Beitr. z. Typhusforschung. Jena 1905.)

Veeder, Ref. Baumgarten-Tangls Jahresbericht. 1898.

Warry, Ref. „Egészség“. 1905. No. 8.

Wilkins, Eine durch Milchinfektion hervorgerufene Typhusepidemie, beobachtet zu Hamburg. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII.)

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.

(Schluß.)

Wenn wir nunmehr den Versuch unternehmen wollen, die Zugehörigkeit des von uns isolierten anaëroben Bacillus zu bestimmen, so geschieht dies mit dem Bewußtsein, diese Frage derzeit nicht in völlig abschließendem Sinne beantworten zu können. Alle Autoren, die sich eingehender mit den anaëroben Bakterien beschäftigen, wissen die Schwierigkeiten zu würdigen, die die Identifizierung der einzelnen Arten bereitet. Gerade bei den anaëroben Bakterienformen begegnen wir auf Schritt und Tritt einem so wechselvollen Verhalten hinsichtlich der Morphologie und des Biochemismus, das uns mit Recht veranlaßt, in der Beantwortung vieler Fragen mit einem abschließenden Urteil vorläufig noch zurückzuhalten. Wir verweisen in dieser Hinsicht — um nur ein Beispiel anzuführen — auf die Wandlungen, die unsere Kenntnisse über den „Gasphlegmonebacillus“ von Welch-Fraenkel auf Grund der so interessanten Studien von R. Grassberger und A. Schattenfroh¹⁾ zu machen im Begriffe stehen.

So variabel aber auch das Verhalten der uns bekannten anaëroben Bakterien in den künstlichen Nährmedien sein mag, im menschlichen Organismus zeigen viele von ihnen doch eine gewisse Konstanz, die es uns ermöglicht, sie ohne besondere Schwierigkeiten zu erkennen. Auch in dieser Hinsicht verweisen wir auf den Bacillus von Welch-Fraenkel. Bei allen Prozessen, die durch diesen Bacillus hervorgerufen werden — sei es daß es sich um in vivo entstandene, sei es daß es sich um postmortale handle —, begegnen wir charakteristisch plumpen Stäbchen, unbeweglich und ohne Sporen. Und wenn auch kleine Verschiedenheiten in der Form häufig zu beobachten sind, so überschreiten diese doch niemals gewisse Grenzen.

Diese Tatsache ist für uns wertvoll. Schon deshalb, weil sie unser Bemühen in der Erkennung pathologischer Prozesse nicht von vornherein aussichtslos erscheinen läßt.

1) Grassberger, R. u. Schattenfroh, A., Ueber Buttersäuregärung. III. Abhandlung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLVIII.)

Der von uns gefundene Bacillus zeigte in den Deckglaspräparaten aus dem peritonitischen Exsudate Formen, die bei der ersten flüchtigen Betrachtung zunächst an den Bacillus von Welch-Fraenkel erinnerten. Bei genauerem Durchsehen jedoch schien es sicher, daß die Formen im allgemeinen dünner und meist auch etwas länger waren, wie jene, die der Bacillus von Welch-Fraenkel im menschlichen Organismus bildet. Diese Tatsache gab auch die Veranlassung, die Isolierung bezw. Bestimmung des Bacillus durchzuführen. Die Resultate unserer Untersuchungen gaben uns recht. Schon die erste Generation der Kultur in Traubenzuckeragar, die mühelos gelang, unterschied sich auffallend von den Kulturen, wie wir sie sonst bei der Isolierung des Bacillus von Welch-Fraenkel zu erhalten gewohnt sind. Und die Unterschiede mehrten sich, je weiter wir in die Bestimmung der Eigenschaften des isolierten Bacillus eindringen.

In der angeschlossenen Tabelle haben wir die wichtigsten Eigenschaften des Bacillus von Welch-Fraenkel, des Bacillus des malignen Oedems und des isolierten Bacillus zusammengestellt. Wir überblicken damit besser die für die 3 genannten Bakterien mehr oder weniger wichtigen Charaktere.

Die gleichmäßig schmälere und etwas längere Formen unseres Bacillus, seine leicht nachweisbare Beweglichkeit in den Kulturen und im Tierkörper und seine Fähigkeit, ziemlich leicht zu versporen, sind allein schon Merkmale, die eine Unterscheidung vom Bacillus Welch-Fraenkel rechtfertigen können. Dazu kommt der Umstand, daß es uns niemals gelang, bei unserem Bacillus Granulose zu sehen. Wir untersuchten daraufhin wohl ziemlich alle Kulturen, die wir gemacht haben. Niemals sahen wir eine Spur von Blau- oder Braunfärbung. Es wäre sicherlich unrichtig, wollten wir aus diesem Grunde mit voller Sicherheit behaupten, daß dem von uns isolierten Bacillus die Fähigkeit mangle, überhaupt Granulose zu bilden. Immerhin ist aber dieser konstant negative Ausfall unserer Untersuchungen nach dieser Richtung bemerkenswert.

Ein weiterer, unserer Ueberzeugung nach wichtiger Unterschied zwischen den genannten zwei Bacillenarten liegt in den Oberflächenkolonien auf Traubenzuckeragar: Leicht erhaltliche, gleichmäßig aussehende, etwas erhabene und ziemlich große Kolonien beim Bacillus von Welch-Fraenkel, sehr schwer erhaltliche, ziemlich kleine und flache Kolonien bei unserem Bacillus. Was als Ursache für diese relativ schwere Erlangung von Oberflächenkolonien bei unserem Bacillus anzusehen ist, können wir mit Sicherheit nicht entscheiden. Nur so viel steht außer allem Zweifel, daß technische Fehler bezüglich strenger Anaërobie in unseren vielen Versuchen völlig ausgeschlossen waren. Vergleichende Untersuchungen, die wiederholt vorgenommen wurden, bewiesen dies auf das sicherste. Vielleicht waren die Spannungsverhältnisse in der Glocke von Einfluß. Wir kamen bisher noch nicht dazu, dieser Frage eingehender nachzugehen. Nicht außer acht darf dabei allerdings der Umstand gelassen werden, daß unser Bacillus im allgemeinen auf allen Nährmedien, besonders aber auch in zuckerhaltigen Agarnährböden immer ein viel weniger üppiges Wachstum zeigte als der Bacillus Welch-Fraenkel. Damit in einem gewissen Zusammenhang stand die Tatsache, daß auch Gasbildung bei unserem Bacillus im allgemeinen geringer war als beim Bacillus von Welch-Fraenkel. Wenn auch manchmal die Gasbildung als eine reichliche bezeichnet

werden konnte, so erreichte sie doch nicht jene Mächtigkeit, die wir für gewöhnlich beim *Bacillus* von Welch-Fraenkel sehen.

Der Geruch der Kulturen war bei unserem *Bacillus* ein wechselnder, häufig aber ein ziemlich intensiver und mahnte an alten Käse. Gelatine wurde ungleichmäßig und verschieden rasch verflüssigt. Wir wissen, daß diese Merkmale zu inkonstant sind, um diagnostisch verwertet werden zu können.

Wichtiger erschien uns das Verhalten der beiden Bakterienformen in der Milch. Immer erfolgte die Gerinnung, wenn sie eintrat, verhältnismäßig langsam, ebenso auch die Lösung des Gerinnsels, die manchmal zu einer vollständigen wurde. Niemals war die Gasbildung eine starke, auch nur annähernd jener beim *Bacillus* Welch-Fraenkel vergleichbar.

Von den übrigen geprüften Eigenschaften sei noch hervorgehoben, daß unser *Bacillus* reichlich Indol bildete und stets auch Alkohole (Aethylalkohol) nachweisen ließ, was beim *Bacillus* Welch-Fraenkel nicht gelingt.

Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß die Pathogenität unseres *Bacillus* keine große war und bei der Fortzucht in den künstlichen Nährmedien Tendenz zur Abnahme zeigte. Niemals erhielten wir bei subkutaner Impfung an Meerschweinchen jenes für den *Bacillus* Welch-Fraenkel so charakteristische Bild, vielmehr näherte sich unser *Bacillus* in diesem Punkte dem *Bacillus oedematis maligni*.

So gibt es denn der Unterschiede genug, um die Artverschiedenheit des von uns isolierten *Bacillus* gegenüber dem *Bacillus* Welch-Fraenkel zu rechtfertigen.

Näher scheint unser *Bacillus* dem des malignen Oedems zu stehen. Auf gewisse Aehnlichkeiten bezüglich der Befunde nach subkutaner Impfung am Meerschweinchen wurde schon hingewiesen. Die geringere Pathogenität unseres *Bacillus* und die relativ raschere Abnahme dieser in der Kultur würde unserer Meinung nach eine Trennung beider nicht rechtfertigen. Wissen wir doch, daß auch bei den anaëroben Bakterien die Pathogenität der einzelnen Stämme einer Art gerade so wechselndes Verhalten zeigen kann als bei den aëroben. Auch morphologisch näherte sich unser *Bacillus* eher dem des malignen Oedems als dem *Bacillus* von Welch-Fraenkel. Als Unterschiede zwischen beiden müßten aber hervorgehoben werden der geringere Formenreichtum bei unserem *Bacillus*, wenn dieser Unterschied auch nicht zu sehr in die Wagschale fallen dürfte, sodann die weniger reichliche und schwerere Versporung bei unserem *Bacillus* und seine anscheinende Unfähigkeit, Granulose zu bilden. Diese beiden Merkmale, die bei unseren Untersuchungen *ceteris paribus* konstante waren, müssen bei dem Vergleiche beider Bakterienformen doch wohl berücksichtigt werden.

Das Wachstum in den Kulturen stand hinsichtlich der Ueppigkeit bei unserem *Bacillus* gleichmäßig in allen geprüften Nährmedien hinter dem beim *Bacillus* des malignen Oedems. Es nahm unter den drei genannten Arten entschieden den letzten Platz ein.

Bezüglich des Verhaltens in der Milch konnten wir durchgreifende Unterschiede zwischen unserem *Bacillus* und dem des malignen Oedems nicht finden. Sicher ist es zweifelsohne, daß unser *Bacillus* konstant etwas rascher die Milch zur Gerinnung brachte als der *Bacillus* des malignen Oedems, wie wiederholte vergleichende Untersuchungen gezeigt haben. Auch die Gasbildung war verhältnismäßig eine etwas üppigere

und vor allem konstantere als beim *Bacillus oedematis maligni*; dazu kommt noch die gleichfalls schnellere Peptonisierung des Kaseingerinnsels. In einer Mitteilung, die der eine von uns gemeinsam mit Dr. Sachs¹⁾ über den *Bacillus* des malignen Oedems verfaßte, berichteten wir entsprechend unseren zahlreichen Beobachtungen, daß wir Gasbildung und Verflüssigung des Kaseingerinnsels in der Milch niemals zu beobachten Gelegenheit hatten. Neuerdings aufgenommene Untersuchungen mit dem gleichen Stamme lehrten uns jedoch, daß zuweilen dennoch spärliche Gasbildung und langsame, unvollständige Verflüssigung des Gerinnsels erfolgte. Auf diese Möglichkeit hatten wir übrigens auch in der erwähnten zweiten Mitteilung hingewiesen. Ähnliches war auch in den Kulturen in erstarrter Hydrokelen- und Ascitesflüssigkeit zu bemerken: Inkonstanz in der Gasbildung, vor allem aber in der Peptonisierung, im allgemeinen allerdings diese stärker ausgeprägt beim *Bacillus* des malignen Oedems als bei unserem.

Wichtig aber erscheint uns die Tatsache, beim *Oedembacillus* niemals die Bildung von Indol nachweisen zu können, während bei unserem *Bacillus* dies leicht, konstant und in reichlichem Maße gelingt. Wiederholt ausgeführte Untersuchungen ergaben immer wieder den gleichen Befund.

Aus diesen Erörterungen glauben wir schließen zu können, daß unser *Bacillus* sich auch von dem des malignen Oedems unterscheiden läßt, wenngleich nicht geleugnet werden kann, daß beiden manche Eigenschaften gemeinsam sind, die ihre Gattungszusammengehörigkeit als nahestehende erscheinen lassen.

Es wäre zweifelsohne wünschenswert gewesen, den Versuch zu unternehmen, das Verhalten der beiden Bacillen gegenüber agglutinierendem Serum zu prüfen. Uns gebrach es an der nötigen Zeit, diese Versuche in der wünschenswerten Weise durchzuführen, zumal auch ein Erfolg in dieser Richtung nicht von vornherein sicher stand. Da wir unsere Studien über die anaëroben Bakterien beim Menschen aber noch nicht als abgeschlossen ansehen möchten, sondern gewillt sind, einige der schon erörterten Fragen gelegentlich neuerdings aufzunehmen, glauben wir noch Gelegenheit zu haben, auf die Agglutinationsverhältnisse dieser Bakterien zurückzukommen.

So erachten wir also den von uns isolierten *Bacillus* als nicht identisch mit dem *Bacillus oedematis maligni* (Koch). Was seine Stellung gegenüber anderen bisher bekannt gewordenen ähnlichen Bacillen anlangt, so müßten wir wiederholen, was wir schon einmal auseinandergesetzt haben, wollten wir des näheren darauf eingehen. Wir verweisen deshalb diesbezüglich auf unsere zweite Mitteilung in diesem Fachblatte²⁾. Die Aussicht, in der Frage der Identifizierung des von uns gefundenen *Bacillus* mit anderen schon beschriebenen erfolgreich abzuschließen, ist eine geringe, da wir schon seinerzeit in der erwähnten Mitteilung der Meinung Ausdruck gegeben haben, daß u. E. die vorliegenden Beschreibungen viel zu lückenhafte sind, um mit Erfolg verwertet werden zu können.

Wir haben nach den mitgeteilten Untersuchungsergebnissen auch

1) Ghon, A. u. Sachs, M., Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. II. Zur Aetiologie des Gasbrandes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV u. XXXVI. 1903 u. 1904.)

2) l. c.

	No. 1. Bacillus von Welch- Fraenkel	No. 2. Bacillus des malignen Oedems	No. 3. Der von uns isolierte Bacillus
Morphologie:	im allgemeinen formen- arm. Dick u. ziemlich kurz	sehr formenreich, schmäler und etwas länger wie No. 1	ähnlich No. 2, im all- gemeinen aber weniger formenreich
Beweglichkeit:	unbeweglich (n. Grass- berger u. Schattenfroh gibt es auch eine be- wegliche Form)	beweglich	beweglich
Geißeln:	?	zahlreiche peritriche	Geißelzöpfe
Verhalten zur Me- thode von Gram:	positiv	positiv	positiv
Sporenbildung in gewöhnlichen Nährböden:	schwer nachweisbar u. spärlich, mittelständig	leicht nachweisbar und reichlich, mittel- und polständig	weniger leicht u. reich- lich nachweisbar wie bei No. 2; mittel- und polständig
Granulose:	positiv (nicht sehr reichlich)	positiv (reichlich)	nicht nachgewiesen
Oberflächen- kolonien in Zuckeragar:	sehr leicht erhältlich, die Kolonien gleich- mäßig, groß, erhaben	leicht erhältlich, formenreich, flach	sehr schwer erhältlich, weniger formenreich, flach
Gasbildung in Agar mit Trau- ben-, Rohr- oder Milchzucker:	stürmisch	weniger stürmisch als bei No. 1, wechselnd	ähnlich No. 2, im all- gemeinen noch geringer
Verflüssigung der Gelatine:	positiv, aber ungleich- mäßig	wie No. 1	wie No. 1 und 2
Wachstum bei Zimmer- temperatur:	positiv	do.	do.
Eiweißfreie Nähr- böden:	kein Wachstum	do.	do.
Geruch:	intensiv nach Fett- säuren	wechselnd, meist nicht intensiv, manchmal urinös	ziemlich intensiv nach altem Käse
Milch:	stürmische Gasbildung mit Gerinnung ohne Peptonisierung	langsame Entwicklung u. Gerinnung mit spär- licher Gasbildung und langsamer unvollstän- diger Peptonisierung	im allgemeinen wie No. 2, nur intensiver, gleichmäßiger und rascher
Erstarrtes Serum (Hydrokelen- flüssigkeit):	Gasbildung u. Peptoni- sierung	Gasbildung und lang- same, unvollständige Peptonisierung (un- gleichmäßig)	Gasbildung u. Peptoni- sierung, diese rascher und gleichmäßiger als bei No. 2
Indol:	negativ	negativ	positiv (reichlich)
Schwefelwasser- stoff:	positiv	positiv	positiv
Milchsäure:	do.	do.	do.
Buttersäure:	do.	do.	do.
Aethylalkohol:	negativ	positiv (reichlich)	do.
Aceton:	?	negativ	negativ
Essigsäure:	?	positiv	positiv

	No. 1. Bacillus von Welch- Fraenkel	No. 2. Bacillus des malignen Oedems	No. 3. Der von uns isolierte Bacillus
Neutralrot und indigoschwefel- saurer Natrium:	Entfärbung	Entfärbung	Entfärbung
Gasanalyse (Traubenzucker- bouillon):	CO ₂ : 30,62% H: 67,55% N: geringe Mengen	H: 71,43% CO ₂ : 27,68% N: 0,89%	H: 62,34% CO ₂ : 33,33% N: 4,33%
Pathogenität:	pathogen für Meer- schweinchen, Sperlinge, Tauben, nicht für Kan- ninen. Typischer Bef- und bei subkutaner Impfung der Meer- schweinchen	pathogen für alle ge- bräuchlichen Versuchs- tiere. Die Pathogenität anhaltend. Bei subkut. Impfung der Meer- schweinchen hämor- rhagisches Oedem mit oder ohne Gasbildung	ähnlich wie No. 2, nur geringer pathogen
Toxine:	?	nachweisbar	nicht nachgewiesen

Anmerkung: Wir möchten hier hervorheben, daß der Nachweis von Butter- und Milchsäure, sowie von Aethylalkohol in Zuckerfleischbrühe- und Milchkulturen kein Beweis dafür zu sein scheint, daß die genannten Stoffe in den angegebenen Mengen auch wirklich gebildet werden. Kontrolluntersuchungen haben uns gezeigt, daß auch in nicht beimpften Nährböden, und zwar sowohl in Zuckerfleischbrühe als auch in Milch, die erwähnten Stoffe in wechselnden Mengen nachgewiesen werden können. Wir werden darauf in der nächsten Arbeit zurückkommen.

keine Anhaltspunkte dafür, unseren Bacillus den „fäulniserregenden Buttersäurebacillen“ (Grassberger und Schattenfroh) zuzuteilen.

Daß unser Bacillus als Ursache der bei der Obduktion nachgewiesenen entzündlichen Veränderung des Bauchfelles anzusehen ist, erscheint uns wohl sicher. Für diese Annahme glauben wir den Beweis in den mitgeteilten Befunden erbracht zu haben, ganz abgesehen davon, daß wir eine andere Ursache für die Peritonitis nicht auffinden konnten.

Es bleibt uns nur noch übrig, unserer Meinung über die Entstehung der Infektion Ausdruck zu geben. Drei Möglichkeiten kommen in Betracht. — Erstens muß daran gedacht werden, daß der Bacillus während der Operation von außen mit niederfallenden Partikelchen auf das Peritoneum gelangt sei. Zweitens wäre es möglich, daß der Bacillus im Genitalschlauch der Patientin gewilt habe und vom Operationsstumpf aus in die Bauchhöhle eingedrungen sei, und drittens könnte noch in Betracht gezogen werden, daß der Bacillus den Darm durchwandert habe.

Die Obduktion hatte keinen sicheren Aufschluß darüber gegeben, welche von den drei genannten Möglichkeiten vorgelegen habe.

Für die erste spräche der Umstand, daß zur Zeit der Beobachtung dieses Falles nach den uns gegebenen Mitteilungen der Klinik in einem Teile der Räume der Klinik gereinigt wurde. Daß bei solchen Gelegenheiten dann anaerobe Bakterien im Staube der Räume nachgewiesen werden können, hat P. Albrecht¹⁾ gezeigt. Es wäre also denkbar, daß gerade damals infolge der Reinigungsarbeiten auf der genannten Klinik der Bacillus aus der Luft des Operationssaales in das Peritoneum gelangt sei.

1) Albrecht, P., Ueber Infektionen mit gasbildenden Bakterien.

Die zweite Möglichkeit könnte deshalb nicht a priori von der Hand gewiesen werden, weil man zugeben muß, daß ein Uebertritt aus dem Operationsstumpfe in das Peritoneum denkbar wäre. Man müßte dann annehmen, daß der gefundene Bacillus in der Scheide vorhanden war. Die Tatsache, daß auch verschiedene anaërobe Bacillen dort vorkommen können, ist wohl ohne weiteres zuzugeben.

Und die dritte Möglichkeit ist deshalb nicht auszuschließen, weil die Patientin lange Zeit hindurch an schwerer Obstipation gelitten hat.

Nach unserer Meinung gäbe die erste der erörterten Möglichkeiten den bei der Obduktion vorgefundenen Verhältnissen gemäß die am meisten befriedigende Erklärung ab.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Deckglaspräparat vom Exsudat der Peritonitis: Bacillen in ihren gewöhnlichen Formen.

Fig. 2. Deckglaspräparat aus einer 2-proz. Peptonwasserkultur, 3 Tage alt: Bacillen und Sporen.

Fig. 3. Deckglaspräparat aus einer Kultur in Agar mit 2 Proz. Traubenzucker, 14 Tage bei 37° C.: Ungegliederte, sehr lange Fäden und Degenerationsformen.

Fig. 4. Deckglaspräparat aus einer Traubenzuckeragarkultur, 131 Tage bei 37° C: Degenerationsformen und Geißelzöpfe (Kombinationsbild aus einem Präparat).

Fig. 5. Oberflächenkolonien in Traubenzuckeragar, 4 Tage alt (Wasserstoffatmosphäre): zarte und größere grobe Kolonien.

Fig. 6. Tiefenkolonie in Traubenzuckeragar, 4 Tage alt (Wasserstoffatmosphäre).

Die Figuren 1—4 wurden aufgenommen mit Zeiss, $\frac{1}{12}$ Immersion, Komp.-Ok. 6, die Figuren 5 und 6 mit Zeiss, Obj. A, Komp.-Ok. 6.

Nachdruck verboten.

The spread of plague infection by insects.

By William Hunter, M. B., C. M. Aberdeen.

Government Bacteriologist, Hongkong.

The spread of bacterial infection, in general, by insects, has been the subject of wide spread discussion within the past few years. This is due, vainly, to the possibility which has arisen in regard to the mode of infection in plague, and the possible spread of the disease by such means.

The spread of infection by insects is by no means a new subject. It has been discussed for ages. So far as plague is concerned, history supplies us with very early records of its supposed spread by way of insects.

In the year 1498 Bishop Knud of Aarhus noted, "that the first sign of the approach of plague is a change in the weather with excessive fog and rain, and the appearance of large numbers of flies". This observation seems to have been forgotten, because, until quite recently the role played by insects in the spread of plague, or even other infectious diseases, was passed over as unimportant and undeserving of scientific investigation. During recent years, however, quite a revival of the old doctrine has taken place, and numerous contributions have been made to scientific literature in regard to this subject. The literature is so voluminous, fragmentary, and scattered, that it has only been after careful and prolonged searching, that anything like a comprehensive review of

the present state of our knowledge, has been possible. It has seemed probable to many investigators that insects do play an important part in the spread of infection. In certain diseases, there is no doubt of the fact, one has only to live in a country which is malarious, in order to satisfy one's self as to the role played by these pestiferous mosquitoes, namely the species of anopheles.

The East may be regarded as the breeding ground, in chief, of all sorts of insect life. Opportunities are afforded in the Far East for the study of such species, and in a place like Hongkong, no better chances could be offered to establish or disestablish the doctrine of the insect spread of plague.

Leaving the subject of plague for the present, it seems necessary, in order to grasp the subject under consideration, to consider certain points. Summing up the means at the disposal of insects for the transmission of an infectious virus, we arrive at the following.

- I. The factors necessary for the infection of the insect.
 - a) The disposition of germs on the surface of the insect.
 - b) The introduction of viri into the intestine of the insect.
 - c) The virulence of the virus infecting the insect.
- II. The mechanism of the infection.
 - a) In suctorial insects.
 - b) In non-suctorial insects.
- III. The relations which exist between insect species and animal species.
- IV. The relation which exists between infected clothing and insects.
- V. The infection of food, etc. by insects.

I. The factors necessary for the infection of the insect.

If an insect comes into contact with micro-organisms of an infectious nature, the latter may be deposited, either on the surface of the body of the insect, e. g. the wings, feet, etc., or in the alimentary canal of the insect.

a) The deposition of germs on the surface of the insect: It must be admitted that such a deposition is an every day occurrence. The bodies and appendages of insects are covered with bacteria of all kinds, the nature of the latter being dependent upon the surroundings. Under ordinary conditions, and in the absence of infectious diseases, the occurrence of such micro-organisms on the body surfaces of flies, bugs, etc., is of no great practical importance.

It is only when we have to deal with diseases known to be caused by pathogenic bacteria, and to which germs, insects may have access, that the question becomes one of great epidemiological importance.

A number of researches have been published dealing with the presence of pathogenic bacteria on the body surface of insects. Cholera vibrios have been found on flies by Simmonds (1), anthrax bacilli on various insects by Heim (2), and Proust and Yersin (3) have made confirmatory observations.

Flies: During the epidemics of plague in Hongkong in 1903 and 1904, I had the opportunity of examining a large number of flies. These insects were caught in the Public Mortuary, and in the Infectious Diseases Hospital during the height of each epidemic of plague, a time when both of these institutions contain a plentiful supply of plague infected

individuals. The bacteriological examination of these insects, for the presence of plague bacilli, was conducted in the following way:

The flies, on being caught, were carefully soaked in sterile normal saline, or in peptone bouillon. From these solutions, cultural and experimental methods were carried out.

Cultivation according to Petri's method was employed. Serial stroke cultures on the surface of each plate were found to yield the most satisfactory result. My experience of the difficulties attached to the technique requisite in order to obtain pure cultures of the *B. pestis*, lead me to believe that the isolation of this bacillus, even from the human body is by no means an easy matter. The *B. pestis* grows more slowly than the majority of the other micro-organisms found associated, so that by ordinary plate cultivation, the plague bacillus is liable to be overgrown, by rapidly growing micro-cocci, *B. coli*, etc. A series of streaks on the surface of an agar plate, gives, in my opinion, the most satisfactory results.

The presence of the organism being suspected from the appearance of its growth in the plate cultures, and its microscopic examination, cultivations were made upon ordinary nutrient media, and the various tests, inclusive of the stalactite test, applied. These results were usually verified by animal experiment. In other cases, animal experimentation was directly resorted to. The solutions were rubbed into the shaved skins of guinea pigs according to the method advocates by the Austrian Plague Commission. It would appear that this method affords the best results. The *B. pestis*, in a mixture of other micro-organisms can, with a considerable degree of certainty, be isolated in this way. Saprophytic bacteria, and ordinary micro-organisms present in such a solution, rarely produce pathological changes when rubbed into the shaved skin of a guinea pig. The presence of the *B. pestis*, however, in such a mixture, results, after careful cutaneous inoculation, in the production of the characteristic pathological changes of plague infection, namely, the extensive haemorrhagic infiltration of the subjacent connective tissue, the bubonic swellings, and the focal necroses in the spleen. My experiments in regard to this method of isolating the *B. pestis* in pure culture have yielded excellent results, and are in perfect accord with the observations of Fritsche (4), Martini (5), and others. Again in other cases, the flies were carefully washed in saline and then transferred to peptone bouillon, where they crushed up in order to set free any micro-organisms present in their internal organs. The emulsions obtained, were treated in exactly the same way as already described.

The following is a tabular statement of the results obtained (p. 46):

The results of these experiments with the common house fly (*Musca domestica*) are interesting from several points of view. In the Infection Diseases Hospital in Hongkong, during the height of a plague epidemic, when the wards were full of cases of plague, flies were caught, and, on bacteriological examination, found to harbour the *B. pestis*. By crushing the flies in sterile saline or bouillon, an emulsion is obtained, from which the plague bacillus is more likely to be isolated, than from the surface washings of these insects in saline or beeftea. This points to the fact, that the *B. pestis* is ingested by the flies. It is a common occurrence to find large numbers of flies attacking the exposed parts of dying plague patients. By their bites they produce a spotted appearance of the face, neck, hands, arms, legs, and feet.

No.	Insect	No. Examined	Where found	Result of examination
1	Fly	30	Plague hospital wards full of patients	75% found plague infected. [Flies crushed.]
2	do.	40	do.	45% do. [Flies crushed.]
3	do.	20	do.	5% do. [Flies washed only.]
4	do.	30	Public mortuary 15 plague bodies (monday morning)	20% do. [Flies crushed.]
5	do.	15	do. 10 plague bodies flies collected 2 hours after post mortem examinations	40% do. [Flies crushed.]
6	do.	15	Chinese dwelling house-plague infected	Negative. [Flies crushed.]
7	do.	10	do.	Negative. [Flies crushed.]

In the Public Mortuary, similar results were obtained a large number of flies were found to contain plague bacilli even before the post-mortem examinations had been performed. These obviously picked up the bacilli from the various fluids which exude from the eyes, nose, mouths, anus, etc., of those dead from plague infection. Mention is made of "Monday morning" and means that the number of bodies in the mortuary on this morning represents the total number collected for the past-forty-eight-hours.

I have no data, at present, as to how long flies may continue to harbour the *B. pestis*. These deposited on the surface of the insect must have an extremely limited existence. The *B. pestis* does not survive, dessication for any length of time.

I cannot confirm the statements of Nuttall (6), and Yersin (7), that flies die soon when infected with plague bacilli. I have never seen an increased death rate amongst the flies in the Public Mortuary during plague epidemics.

Further, it is also probable that flies may convey the *B. pestis* on their backs, so to speak, for some considerable distance. Small pieces of sugar, previously tested for the presence of the *B. pestis*, introduced into sterilised test tubes containing plague infected flies, have been found to contain plague bacilli, when tested experimentally. This would appear a most important observation from a domestic point of view, especially during plague epidemics.

Mosquitoes: These insects—both the *Culex* and *Anopheles* variety—have been examined bacteriologically for the presence of the *B. pestis*. Numbers of mosquitoes were caught inside the nets covering patients suffering from plague in the Infectious Diseases Hospital in Hongkong. These insects were submitted to the same bacteriological tests as those employed for the detection of plague bacilli in flies. About 20—30 mosquitoes of both species were examined, but, in each case, the result was negative.

Pediculi: Insects of this variety were also examined. They were obtained from the bodies of individuals suffering from plague. The result of bacteriological examination of numbers of pediculi was negative.

Bugs: These insects—probably the *Cimex lectularis*—were collected from plague infected houses, and the bedding of patients suffering from plague. They were submitted to the same bacteriological tests as the foregoing. In many instances, they were found to harbour plague

bacilli. Their significance in regard to the spread of plague will be discussed later under a separate heading (vide: mechanism of infection).

Cockroaches: — *Blatta orientalis* — may also harbour the *B. pestis*, and be the means of carrying the plague bacillus over considerable distances. Bacteriologically, I have examined a number of these disgusting insects, collected from plague infected foci, and found the *B. pestis*. Such a result must be of importance, as cockroaches are sometimes found in large numbers in store rooms and cupboards.

About the same time as I was carrying on my experiments, similar observations were being made in the Biological Laboratory of the Health Department of Brisbane (Australia) by Mr. C. J. Pound (8). This investigator brings forward strong evidence in favour of the role played by cockroaches in the transmission of plague infection. The following was noted by Mr. Pound: "In a room, specially set apart for keeping all inoculated animals, were two large stands with wide shelves. Placed on these were long lead lined trays, about two inches in depth, and containing carbolic acid solution. Standing in these trays, and surrounding by the carbolic acid solution, were various strong glass jars, containing the experimental animals. Each jar contained only one animal — a guinea pig, rat, or mouse. The jars were covered with a mosquito proof fine wire gauze lid. On one occasion, a healthy guinea pig which was being kept as a control for certain experiments, suddenly became sick, and after three days it died. A post-mortem and bacteriological examination showed that this guinea pig had died from a generalised form of plague. No lesion was found to indicate that it had been infected through the skin. A careful examination revealed the fact that in the zinc binding of the wire cover there were several very young cockroaches. These were promptly destroyed. On examination of the covers of the other adjoining jars, more young cockroaches were discovered. These cockroaches had become hidden in the zinc lining of the covers, when the jars were not in use, and standing on the shelf alone, unprotected by the tray of carbolic solution. As soon as the jar was occupied by an experimental animal, the cockroaches which had been hidden from view in the zinc lining during the day time, would, after dark, crawl down the inside of the jar, and feed on the animals food. Apparently before their presence was discovered, some of these cockroaches had fallen from a jar, containing a plague infected animal, into the carbolic solution, and then swam, either to the jar containing the healthy guinea pig, or to the side of the tray, and hid away in the cover of an empty jar. In any case it was more than probable that the food had become contaminated with the *B. pestis*. In order to ascertain whether the cockroaches had anything to do with the transmission of plague, a healthy guinea pig was placed in a sterilised jar, covered with the usual wire lid, but whose zinc lining was free from cockroaches. The jar was placed on the shelf, but not in the tray containing the carbolic acid. In the course of a few days young cockroaches made their appearance, and, as usual, lived during the day time in the zinc lining. Eventually the guinea pig sickened and died of plague. After this experience, the whole of the building, and everything such as shelves, benches, jars, etc., were, subjected to thorough and repeated disinfection, and all holes and crevices carefully closed. The result is, that no cockroaches have been seen since, and although every day during the past eight months, numbers of plague infected and healthy guinea pigs, and rats, have been kept in the same jars, and standing in

the same trays, no symptom of the disease has appeared in any animal unless specially infected".

The lesson taught us by this experiment is certainly of importance. My own experiments showed the presence of the *B. pestis* in cockroaches. We have, therefore, strong evidence in favour of the fact that cockroaches may, in certain cases, disseminate plague bacilli. As is well known, these insects are most frequently found in houses, and particularly in places where food stuffs are conserved.

b) The introduction of viri into the intestine of the insect: Just as in the case of micro-organisms on the surface of the body of insects, so also do we find bacteria of the most varied species in the alimentary canal of these animals. The majority of these micro-organisms are harmless and non-pathogenic for man. In certain cases, however, bacteria may be present in the digestive tract and excrement of insects, which are capable of setting up disease in man. By their presence in the foeces of these insects, such pathogenic micro-organisms may become widely scattered in nature, and the role played by such insects is of great importance in regard to the spread of certain diseases. The evidence is very strong that infectious material may be widely disseminated in nature through the excrement of insects. Research and experimental study have pointed to the great possibility of such an occurrence. Spillmann and Haushalter (9) have found the *B. tuberculosis*, in the foeces of flies, fed on tubercular sputum. Celli (10), in a searching investigation, showed that by feeding experiments, the *B. tuberculosis*, *vibrio cholerae*, *B. typhosus*, *B. anthracis*, and the *Staphylococcus pyogenes aureus*, could be recovered from the dejecta of artificially infected flies. Sawtchenki (11) succeeded in cultivating the *Vibrio cholerae* from the foeces of flies, fed on cholera bouillon.

My own experiments have been limited to the *B. pestis*. After numerous experiments, the *B. pestis* has been found in the alimentary canal and foeces of flies. Such plague bacilli were found to be virulent, and set up typical plague infection in artificially inoculated animals, e. g., the rat. Large numbers of the flies caught in the Public Mortuary in Hongkong, were found to harbour plague bacilli in their foeces. Of the flies caught in the Infectious Diseases Hospital, during an epidemic of plague, a much smaller number were found to contain plague bacilli in their excrement. These facts, prove how widely such insects as flies may disseminate specific and pathogenic germs, and show us that in plague infected areas, every precaution possible ought to be taken to prevent the access of flies to infected material.

Bugs and cockroaches have also been found to contain the *B. pestis* in their foeces.

So far as my results are concerned, there is no evidence to show that these insects are materially affected by the presence of the *B. pestis* in their alimentary canal. No increased death rate amongst insects has ever been observed in Hongkong during the various epidemics of plague.

These results show further, the possibility of micro-organisms finding a refuge in the body of an insect, where it may possibly multiply indefinitely, and, by way of the foeces, distribute its progeny over wide areas. We have, therefore, a means before us, whereby any particular species of pathogenic micro-organisms may become widely diffused in nature, and give rise to widespread disease. In the tropics, where insects abound, and become in themselves a veritable pest, ample

opportunity is afforded for the spread of plague by such means. Foods, articles of diet, cooking utensils, fruit, etc., are constantly attacked by such insects. Should the latter be harbouring pathogenic micro-organisms and the dejecta, etc., deposited on such articles, the conditions necessary for the spread of the infection are practically complete. In China, many of the foods consumed are cooked some time previous to their being used. Again other articles of diet, and fruits are swallowed in the uncooked condition. These are liable to the grossest contamination by micro-organisms.

c) The virulence of the virus infecting the insect: In connection with this point, it is important to bear in mind that, although the infection of the insect is natural, and the bacteria in question are living and virulent, there is a vast difference, so far as the possibility of conveyance of infection is concerned, between micro-organisms which are deposited on the surface of the body, and those which are introduced into the alimentary canal. Heim (12) has found living and virulent anthrax bacilli on the surface of the body of various insects. Proust (13), Yersin (14), and others have made similar observations. Simmond (15) found the *Vibrio cholerae* deposited on the surface of the bodies of flies. The effects produced by drying, killed these vibrios, in $1\frac{1}{2}$ hours.

In general, it is doubtful if many micro-organisms survive long exposure on the surface of an insect. The effects of drying, sunlight, etc., destroys the vitality of most non-sporing bacteria. Again the *B. pestis* is very susceptible to exposure and is rapidly killed by drying, sunlight etc. On the other hand, the virulence of the virus in the intestine of the insect, is subordinate to entirely different agencies. The reports of various investigators of this question vary. Celli and Alessi (16), have found living anthrax bacilli in the dejections of flies. They were found to be virulent on being subjected to experimental tests. Sawtchenki (17), Hofmann (18), and others, have demonstrated cholera vibrios in the intestines of various insects. What is most important is the result of the investigations of Yersin (19), Wilm (20), Abel (21), Hankin (22), Simond (23), Nuttall (24), and others. These bacteriologists have demonstrated the presence of plague bacilli in the intestines of flies, fleas, bugs, mosquitoes, ants and moths.

These results, some of which I have verified, certainly show the frequent presence of plague bacilli and other micro-organisms in the intestines of a number of insects. Given this fact, however, it is of importance to consider what are their chances of spreading the disease, the exciting agents of which they harbour in their alimentary canal.

According to Hankin (25), plague bacilli remain virulent for some considerable time in the intestines of ants. These insects would not appear to suffer from the presence of the *B. pestis*. If emulsions of these ants are made, and injected into rats, plague in its typical form is produced. Similar results have been obtained by Ogata (26), Simond (27) and others with fleas collected from rats suffering from plague.

In the intestines of flies, plague bacilli remain virulent for 48 hours or more. The *B. pestis* dies rapidly in the alimentary canal of bugs and fleas.

So far I have been unable to devote that amount of attention to this part of the subject which it merits. The conclusions drawn by different scientists in regard to this question are so varied that at present one must accept the results with reserve. So far as we know, some micro-

organisms pass through the intestines of insects uninjured, others have their virulence diminished. It has been generally stated, that, in the case of flies, the *B. pestis* may pass through the alimentary canal uninjured, and in the bug and flea, the virulence of the *B. pestis* would appear to be lowered by such a passage. The isolated observation by Cao (28), who has endeavoured to show that some non-pathogenic bacteria gain virulence on passing through the alimentary canal of certain insects, e. g. the *Periplaneta orientalis*, must be received with considerable reserve. In summing up this question of the virulence of bacteria in the alimentary canal of insects, it must be borne in mind, that different insects will react towards different bacteria, and infectious in different ways, and that the presence, in the alimentary canal, of chemical and other bacterial products, influences, in all probability the virulence of any pathogenic virus infecting the insect.

II. The mechanism of the infection.

That diseases are communicated to man through the agency of insects is a fact established beyond dispute. The investigations of the last decade have revealed to us the important role played by insects in the dissemination of certain diseases. The mosquito and its relation to malaria and filariasis and other diseases may be instanced; and year by year there is being added to our knowledge, by accumulation of facts bearing upon the insectivorous spread of disease. So far these investigations are limited to diseases which are occasioned by parasites of a certain degree of organisation — parasites which pass through a definite cycle of changes during their development, either in the body of the definitive host or the intermediate host. These changes are complicated, and show that in these parasites, we have to deal with an organism which, in its mode of development and conditions of life, is something very different from germs of the types of cocci, bacteria, or vibrios. The latter are organisms of an altogether different type from the plasmodium malariae. Convincing observations are wanting at present to prove the direct transference by an insect of any coccus, bacterium or vibrio, which is the causal agent of a definite specific infectious disease, to the tissues of man. In the case of malaria or filariasis, there exists a special mechanism through which the parasite gains the human body. Up to date, however, no such process is indicated in regard to the dissemination of pathogenic micro-organisms by insects. It would rather appear from the standpoint of our present knowledge, that the direct inoculation of the human subject with pathogenic parasites by means of an insect, is limited to a class of organisms, considerably removed, and higher in the scale of development than simple cocci, bacteria or vibrios, which are the causal agents of so many infectious diseases.

Taking up the question of the mechanism of infection at this point, we find numerous observations in literature in regard to the direct connection between insects and disease. The majority of the examples, cited in literature are isolated observations, and their importance from a modern epidemiological point of view is extremely doubtful. For instance, gnats were held responsible for the occurrence of abscesses, bugs for relapsing fever, mosquitoes for leprosy, and ants, emmets and other insects for plague. It is obvious, however, that in order to grasp the mechanism of infection fully, one must distinguish between insects which are able to make a wound, and those which are not, namely suctorial insects,

and non suctorial insects. The former, should they harbour pathogenic organisms, may become dangerous in a direct manner; the latter can only become dangerous in an indirect way.

a) Suctorial insects: Numerous species of insects suck the blood of man and animals. Each country has its own collection of such insects. Mosquitoes, fleas, bugs, gnats, ants, etc., are found all over the world, and if suctorial insects are the means of spreading infectious diseases directly by their bite, it becomes a difficult problem to sift out those which are most culpable.

Mosquitoes: I examined numerous mosquitoes, caught in the Infectious Diseases Hospital in Hongkong, during an epidemic of plague, and at a time when the wards of this hospital were practically full of cases of plague. The insects were dealt with according to the methods described earlier in this paper. In every instance I have failed to find the *B. pestis*. A number of these mosquitoes were caught under the nets of beds containing plague patients, yet, although there had sucked a considerable quantity of blood from the patient, no plague bacilli could be found.

At this point it will be well to mention, that, even although the *B. pestis* had been found in the alimentary canal of these insects, it is difficult to explain how they could convey the infection to man, in the absence of some special mechanism. Allowing the foeces of the mosquito to contain plague bacilli, then, should the insect defaecate on the skin of the individual, during the act of sucking, the subsequent scratching by the person bitten, might possibly inoculate the puncture wound. Such an infection, however, must be regarded as distinctly secondary through a wound in the skin, and not directly due to the action of the insect itself. Its occurrence must be rare. A puncture wound, such as made by a suctorial insect, becomes closed almost immediately after its infliction owing to the reactive changes which occur at once around the wound.

My absence to find the *B. pestis* in mosquitoes is in accordance with the views already expressed by the members of the Austrian and German Plague Commissions. If mosquitoes played an important role in the direct dissemination of plague infection, doctors, nurses, and other attendants in plague hospitals, where such insects abound, would have little chance of escaping infection.

Fleas: These insects have been the objects of much investigation, and particularly in regard to the role played by them in the spread of plague. As a result of this, the genus has been thoroughly worked out, and the various individual species tested for their plague transmitting powers. It is assested by Battlehner (29), that at least 60 to 80 different species of fleas exist and that each species is more or less restricted to a definite animal. That is to say, we have rat fleas, dog fleas etc. These fleas are not supposed to bite man. According to Galli-Valerio (30), the human flea is morphologically different from animal fleas, especially the rat flea. At the present time, however, much doubt exists as to the restriction of certain species of fleas to definite animals and man. Ashburton Thompson (31), in a recent report, sums up the question in regard to rat fleas as follows: "It is found to be well founded that the species of fleas, which infest rats, seem, on the one hand, not to infest man, but, on the other, to have no repugnance to him". Such a statement, in all probability applies to the other species of fleas e. g. dog fleas, cat fleas etc. and the possibility of their biting the human subject.

The human flea, however, is regarded as cosmopolitan. It prefers the blood of man, but in the absence of that, it can accommodate itself, and feed upon the blood of other animals. Again it must be remembered that there undoubtedly exists a predisposition on the part of certain individuals to fleas. Certain human beings are almost immune to fleas, e. g., fleas do not bite them; other persons are decidedly susceptible, and are attacked, and bitten when ever an opportunity presents itself. Probably the same obtains in regard to different animal species.

During the past few years, in fact ever since the rat theory of the spread of plague became prominent, many experiments have been undertaken in order to determine whether plague infection in the rat is conveyed to man by way of rat fleas. The experimental evidence, which has been obtained so far, is of a most unsatisfactory nature. In this connection it will be well to remember that the dead bodies of rats, while still warm, are infested with fleas. When the body becomes cold and stiff, these insects migrate. Therefore, so far as fleas are concerned, the cold dead bodies of rats cannot be regarded as dangerous. The experience of those engaged in combating plague epidemics justifies this conclusion. Rat-catchers, and others, who constantly handle the dead bodies of plague infected rats, do not suffer from plague with greater frequency than other people. In Hongkong where numerous Portuguese and Chinese coolies are engaged in catching rats, removing cases of human plague, and cleansing plague infected houses a case of plague amongst the sanitary staff is indeed a rare occurrence. Simond (32), who has devoted a great deal of attention to this subject, came to the conclusion that, in India, rat fleas bite man, and that rat fleas spread plague from one rat to another and also to the human subject. Loir (33) also believes that the flea is the chief means of conveying plague to man. Zirolia (34) has also made a general statement to the effect that plague, can be easily spread by fleas. Thompson (35), as the result of his experience in Sydney, concludes that the transmission of plague to rats and mice through fleas must be frequent. Positive evidence of such a conveyance of plague to man is still wanting. Again the results of the Indian Plague Commission (36) showed that these insects are of no great epidemiological importance.

The conclusions drawn by these various observers would appear to be premature. Further experiments are required, not only to show the conveyance of plague to man by fleas, but also the transmission of the disease from rat to rat by such insects. The results of Galli-Valerio (37), Nuttall (38), Kolle (39), and others show that the conclusions drawn by Simond, Loir, Zirolia, etc., go too far, and Pfeiffer (40) holds that the experiments conducted by Simond do not justify so conclusive an opinion.

Without going deeper into detail, it may be said, that the general results, obtaining by direct observation and experiment, go to show, that fleas play an unimportant role in the spread of plague. Experiments in regard to this question have also been made in Hongkong. In 1902 Simpson (41) and I endeavoured to procure the infection of healthy rats and monkeys, by plague infected fleas. These results were entirely negative. In general, the production of plague infection by the bite of plague infected fleas, must be regarded as a rarity. Fleas may leave the plague infected body-human or otherwise, harbouring plague bacilli in their bodies, and bite healthy subjects. The question is, do they infect the latter? The general experience in most countries points to a negative reply.

Bugs: The ordinary bed-bug — *Cimex lectularis* — has been held responsible for the spread of plague. The evidence upon which this conclusion is based is not of a convincing nature. Such insects may bite and suck the blood of a plague infected individual. It does not necessarily follow, however, that such bugs are able to communicate the disease to other individuals. The experimental evidence in the case of these insects is almost entirely negative. The most important results were obtained by Nuttall (42). Twenty-two bugs were allowed to suck the blood of a mouse dying of plague. These bugs were immediately placed on four healthy mice. None of the mice contracted plague. Again experiments were made along the same lines with anthrax, chicken cholera, and mouse septicaemia. Mice are extremely susceptible to these diseases. None, however, contracted the diseases after being bitten severely with infected bugs. Further details are unnecessary. The same remarks apply to these insects as already detailed under the subject of fleas.

Pediculi: A number of these insects were obtained from plague patients in the Infectious Diseases Hospital in Hongkong. They were submitted to the usual bacteriological examination. In every instance, a negative result was obtained for the *B. pestis*, Pediculi would not appear to play a great part in the spread of plague.

b) **Non-suctorial Insects:** A considerable number of details, in regard to this class of insect, has already been given. The occurrence of pathogenic bacteria on or in the bodies of flies, cockroaches, etc., has already been referred to on several occasions. The possible dissemination of the *B. pestis* by flies, cockroaches, gnats, etc., is one of great importance, and, from a prophylactic point of view, must not be forgotten.

So far, the evidence brought forward in this paper, negatives the possibility of insects accomplishing the direct spread of plague. The part played by suctorial insects in the spread of microbial diseases would not appear to have such importance as some observers would argue. Indeed, there is more evidence in favour of the view, that insects may disseminate pathogenic micro-organisms indirectly. The indirect spread of plague by insects is, however, requiring of more investigation. By such insects as flies, for instance there is no saying how far, and how extensive the dissemination of the virus may have reached. All varieties of food stuffs, fruits, clothing, household articles, and general utensils, are liable to such contamination. Such insects may obtain the specific agents of disease from a variety of sources, e. g., human secretions, and excretions, rats, or other infected articles, and subsequently transport these germs to any object upon which they may chance to alight.

III. The relations which exist between insect species and animal species.

These relations have already been discoursed, particularly under the subject of fleas. Further investigation is necessary, but the evidence already brought forward is mostly in favour of definite insect species feeding upon definite animal species. Nothing definite is known in regard to the position of the human subject and insect species. The human flea is said to be cosmopolitan. A considerable amount of variation in opinion exists as to whether animal parasitic insects freely bite man. The position taken by Ashburton Thompson would appear to be the most reasonable in this respect. Certain insect species prefer the blood of certain animal species. In the absence of the latter, however, they have

no repugnance to man, and may bite him freely. These relations existing between animal species and insect species lose much of their importance in the absence of convincing experimental proof of the conveyance of the causal agents of infectious diseases through suctorial insects.

IV. The relation which exists between infected clothing and insects.

This is important if we allow that the wounds made in the skin of man by suctorial insects are capable of being secondarily infected through scratching and infected clothing. Reliable instances of the occurrence of such a mode of infection in plague have, so far, not been obtained. The scratching of the skin, subsequent to an insect bite, may produce secondary inflammations. These, however, are caused by the presence of pyogenic cocci lying deeply in the folds and glandular ducts of the skin. In my opinion, it is scarcely possible, or, at least, it must be rare, to trace the avenue of infection to such a source.

V. The infection of food etc. by insects.

This appears to me to be the role played by insects in the dissemination of plague infection. The method is an indirect one. The question as to its occurrence has already been rented, particularly in regard to flies, cockroaches, etc. In Hongkong, and other eastern cities, where insects of all kinds become in themselves pestiferous during certain seasons of the year, including the epidemic plague season, it appears to me not improbable in the light of recent investigations, that this part, played by insects, is dangerous to public health. That infectious diseases may be spread in this way has already been proved. Flies are undoubtedly carriers of infection from place to place, and are known to be excellent distributors of all kinds of micro-organisms — vide the spread of typhoid fever. Again the experimentally proved occurrence of the infection of food by flies which had previously been in contact with cholera dejecta, is another instance of such a method of dissemination of pathogenic germs. The presence of the *B. pestis* in flies, cockroaches and other insects, coupled with the discovery of plague bacilli in rice (43), render it not unprobable that some connection exists between these two in the spread of plague. In the light of recent work, a certain amount of importance must be attached to food as a factor to be reckoned with by those actively engaged in prosecuting the methods for the suppression and prevention of plague.

On careful consideration of the various points brought forward in this paper on the spread of plague by insects, the following conclusions would appear warrantable.

- 1) That insects may harbour the *B. pestis*.
- 2) That insects, containing plague bacilli, may be the means of disseminating these germs over indefinite areas.
- 3) The part played by suctorial insects — e. g. fleas, bugs, etc., in the spread of plague, is similar, in all respects, to that of non-suctorial insects, namely — the mechanical conveyance of the infection from place to place.
- 4) The dangers attributed to the bites of suctorial insect in the spread of infectious disease, e. g. plague, would appear to be exaggerated.

5) That, in all probability, the spread of all infectious diseases, e. g. plague, typhoid fever, cholera, etc., by insects, is accomplished only indirectly.

7) That the deposition of the *B. pestis* by insects on foods clothing, household utensils, etc., is bound to occur in plague infected areas, and this factor is one of no mean epidemiological importance.

15th May 1905.

Literatur.

- 1) Simmonds, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV.
- 2) Heim, Compt. rend. 1894. No. 3.
- 3) Proust and Yersin, Bull. de l'Acad. de méd. 1894.
- 4) Fritsche, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. XVIII.
- 5) Martin, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. 1902.
- 6) Nuttall, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. 1897.
- 7) Yersin, Ann. Pasteur. T. VIII. 1894.
- 8) Pound, Health Report. Brisbane 1903.
- 9) Spillmann u. Haushalter, Baumgartens Jahresber. Bd. III. 1887.
- 10) Celli, Bull. del soc. Lancis. Fasc. I. Roma 1888.
- 11) Sawtchenki, Rev. d'Hygiène. T. XV. 1892.
- 12) Heim, Compt. rend. 1894.
- 13) Proust, Bull. de l'Acad. de méd. 1894.
- 14) Yersin, Ann. d'Hyg. 1899.
- 15) Simmond, Ann. Pasteur. T. XII. 1898.
- 16) Celli and Alessi, Bull. Lancisiana. 1888.
- 17) Sawtchenki, Rev. d'Hygiène. 1892.
- 18) Hofmann, Korrespond.-Blatt Sachsen. 1888.
- 19) Yersin, Ann. Pasteur. T. XIII. 1899.
- 20) Wilin, Hyg. Rundschau. 1897.
- 21) Abel, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXI.
- 22) Hankin, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII.
- 23) Simond, Ann. Pasteur. 1898.
- 24) Nuttall, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII.
- 25) Hankin, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII.
- 26) Ogata, Centralbl. f. Bakt. etc. 1897 u. 1900.
- 27) Simond, Ann. Pasteur. T. XII.
- 28) Cao, Ufficiale Sanitario. 1898.
- 29) Battlehner, Veröffentl. d. kais. Gesundheitsamtes. 1899. No. 49.
- 30) Galli-Valerio, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII.
- 31) Ashburton Thompson, Ann. Health Reports. Sydney 1902—03—04.
- 32) Simond, Ann. Pasteur. 1898.
- 33) Loir, Rev. Scient. 1900. No. 13.
- 34) Zirolia, Centralbl. f. Bakt. etc. 1902.
- 35) Ashburton, Thompson, Journ. of Hyg. 1901.
- 36) Indian Plague Commission. London 1901.
- 37) Galli-Valerio, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. — Journ. trop. med. 1902.
- 38) Nuttall, Hyg. Rundschau. Bd. IX. 1899.
- 39) Kolle, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1901.
- 40) Pfeiffer, Hyg. Rundschau. Bd. IX. 1899.
- 41) Simpson, Report on plague in Hongkong. 1903.
- 42) Nuttall, Centralbl. f. Bakt. etc. 1897.
- 43) Hunter, Epidemic and epizootic plague. Hongkong 1904.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die *Spirochaete pallida* Schaudinn bei Syphilis.

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

Von Privatdozenten Dr. **E. Bertarelli** und Dr. **G. Volpino**,
unter Mithilfe des
Privatdozenten Dr. **R. Bovero**, Direktor des Dispensario celtico Turin¹⁾.
Mit 2 Tafeln.

Die Mitteilungen Schaudinns und Hoffmanns über das Vorkommen besonderer Formen von Spirochäten bei primären und sekundären syphilitischen Verletzungen haben vielseitig großes Aufsehen erregt.

Die Grundzüge dieser Mitteilungen sind heute überall derart bekannt, daß ihre Wiedergabe unterlassen werden kann. Ebenso kommen wir wieder auf die Bestätigungen zurück, die von Metschnikoff, Roux und verschiedenen deutschen, französischen und englischen Autoren ausgegangen sind, und schon ein diskretes Studienmaterial ausmachen. Es kann heute die Ansicht berechtigt erscheinen, daß genannte Autoren bis jetzt verschiedene Punkte geklärt haben, und zwar: 1) daß die *Spirochaete pallida*, wenn auch nicht immer, so doch sehr häufig bei den Verletzungen der primären und sekundären Syphilis (die dem primitiven Sitze der Infektion sehr nahe und entfernt liegenden Ganglien inbegriffen) vorkommt, während sie bei den Läsionen der tertiären Syphilis zu fehlen scheint; 2) daß sie in der Mehrzahl der Fälle in den primären und sekundären Verletzungen der experimentellen Syphilis bei Affen vorgefunden zu werden vermag; 3) daß sie zuweilen auch im Blute und besonders in der Leber und der Milz der von hereditärer Syphilis betroffenen Kinder, sowie bei anderen syphilitischen Lokalisationen der vererbten Syphilis (Pemphigus) vorzukommen pflegte; 4) daß die *Spirochaete pallida* nur in den syphilitischen Verletzungen angetroffen wird, wengleich auch bei verschiedenen venerischen, aber nicht syphilitischen Läsionen, und ebenso auch in normalen Individuen und an verschiedenen Stellen (Rachen) Spirochäten vorkommen, die jedoch auf Grund verschiedener Merkmale deutlich von *Spirochaete pallida* unterschieden werden können.

Diese Unterscheidungsmerkmale sind besonders: Die Dünne der *Sp. pallida*, die Zahl der Windungen, ihre Gedrängtheit und die Kürze ihrer Strahlung, sowie schließlich die schwierige Färbung. Dieses letzte Unterscheidungszeichen ist jedoch schon auf dem Wege an Wichtigkeit einzubüßen. Denn zuerst behauptete Schaudinn, daß die *Sp. pallida* nur mit dem von ihm selbst modifizierten Giemsa'schen Färbeverfahren deutlich vor Augen treten könne, wenn sie der Färbung 24 Stunden lang ausgesetzt bleibt. Später aber haben Schaudinn selbst, sowie Metschnikoff, Fraenkel und andere Forscher dargetan, daß die Färbung der *Sp. pallida* auch in 1 Stunde nach Giemsa, in wenigen

1) Der größte Teil dieser Beobachtungen wurde unter Vorlage von Präparaten in der Sitzung der R. accademia medica von Turin vom 16. Juni 1905 mitgeteilt.

Minuten nach Marino mit karbolsaurem Fuchsin und Gentianaviolett vor sich gehen kann.

Wir haben im ganzen 42 Fälle¹⁾ primärer und sekundärer Syphilis, sowie Stücke tertiärer, syphilitischer Manifestationen und ererbter Syphilis einer genauen Prüfung unterzogen und werden nachstehend näher auf das erhaltene Ergebnis eingehen.

Diese Fälle betreffen die allerverschiedensten Formen: Initialsyphilome an den Geschlechtsstellen und Lippen, zahlreiche Papeln verschiedener Sitzorte, Gummas der Schleimhäute etc.

Unter ihnen fand sich auch ein Fall von während der Stillung von der Amme auf den Säugling übergegangener Syphilis (Initialsyphilom an der Lippe und Rachenschleimhautpapeln), sowie ein anderer seit 10 Jahren bestehender Fall von Syphilis, bei dem noch sekundäre Manifestationen zu beobachten waren.

In der ersten Zeit unserer Nachforschungen wurden auch einige Individuen untersucht, die schon eine ein- bis mehrwöchentliche Behandlung durchgemacht hatten (im ganzen 6 Fälle), später aber wurden zur Untersuchung nur Individuen herangezogen, die keinerlei Behandlung ausgesetzt worden waren.

Ohne weiter in die Einzelheiten der verschiedenen Fälle einzugehen, sei hier nur darauf hingewiesen, daß 26mal die *Sp. pallida* vorgefunden wurde, 16mal aber nicht nachgewiesen werden konnte. In die Fälle mit negativem Befund sind aber auch 6 wenigstens seit 2 Wochen in Behandlung stehende Syphilitiker inbegriffen, die somit doch wohl in einer derartigen Statistik nicht figurieren dürften.

Unter den Fällen mit negativem Befund finden sich primäre und sekundäre Formen verschiedenster Lokalisation.

Hinsichtlich der Quantität der *Sp. pallida* wird an den von anderen Forschern gemachten Beobachtungen nichts geändert. Zuweilen kann man die *Sp. pallida* auch in 6—8 Präparaten nur in sehr wenigen Exemplaren vorfinden, während andere Male reiche Mengen derselben wahrgenommen werden. Im allgemeinen ist die Anzahl der *Sp. pallida* in den primären Läsionen weniger reichlich, doch kommen immerhin auch Fälle initialen Syphiloms vor, bei denen ein großer Reichtum von *Sp. pallida* beobachtet wird.

So bot z. B. der von uns geprüfte erste Fall von Initialsyphilom eine ziemlich große Fülle Spirochäten, während es uns später nicht mehr gelang, bei primären Erscheinungen der Syphilis die typischen Formen der *Sp. pallida* in bedeutender Anzahl vorzufinden.

Außerordentlich zahlreich begegneten wir jedoch der *Sp. pallida* in 2 Fällen perianter Schleimhauttuberkeln. Im allgemeinen aber kommt ein Befund mit zahlreichen Spirochäten nur selten vor.

Während der Behandlung fällt die Anzahl der *Sp. pallida* rasch ab, woran auch die Vorsorge nichts ändert, das zu prüfende Material

1) Das Material zu unseren Nachforschungen lieferten uns zum größten Teil das Dispensario celtico (Direktor: Privatdoz. Dr. Bovero), in geringerem Maßstabe auch das Dispensario celtico (Direktor: Dr. Salsotto), sowie die Sektion für Geschlechtskrankheiten des Militärspitals. Herrn Dr. Salsotto, Herrn Stabsarzt Dr. Tommasina, die zusammen mit den Kollegen des Militärspitals Dr. Lenzi, Dr. Camerano und Dr. Bertoli ihr Möglichstes taten, um die Nachforschungen durch Lieferung stets neuen Materials in jeder Hinsicht zu unterstützen, sei an dieser Stelle unser innigster Dank abgestattet.

vom Grund der erkrankten Stelle hervorzuholen. Es kann jedoch heute noch nicht gesagt werden, ob dies einer tatsächlichen spezifischen Einwirkung der Behandlung auf die *Sp. pallida* zuzuschreiben ist oder einer einfachen mechanischen Reinigung der Verletzungen,

Sechsmal haben wir das Drüsenmaterial syphilitischer, noch nicht behandelter Individuen geprüft. Zweimal schritten wir zur Abtragung der Leistendrüsen, viermal zur Punktion und Aufsaugung des Drüsen-saftes (der Leistendrüsen). Trotz sorgfältigsten Vorgehens und genauester Prüfung gelang es uns auch nicht ein einziges Mal im Drüsen-saft Spirochäten nachzuweisen.

Auch das Blut wurde 4mal an der Stelle der Roseolaflecken aufgefangen und geprüft. Der Befund war stets negativ; ebenso negativ war die Probe des von Syphilitischen mit blasenziehenden Mitteln erhaltenen Serums geblieben.

Bei den venerischen Erkrankungen nicht syphilitischer Natur haben wir niemals *Sp. pallida* angetroffen. Im ganzen wurden 8 derartige Fälle untersucht (venerische Geschwüre, spitze Kondylome, Balanoposthitis). Zweimal fanden wir eine große Menge Spirochäten vor, die vollauf die Merkmale der Schaudinn'schen *Spirochaete refringens* trugen: Zuweilen stießen wir auch auf noch andere Abarten von Spirochäten, die keine Ähnlichkeit mit *Sp. pallida* hatten, sich aber gleichzeitig auch von der *Sp. refringens* unterschieden.

Wir untersuchten auch den Auswurf tuberkulöser Individuen, Herzkranker und mit Bronchitis behafteter Personen sowie Gesunder. Außer einigen groben Spirochätenformen sind wir dabei jedoch auch auf andere gestoßen, die eine ganz aufmerksame Beachtung verdienen und später den Gegenstand eingehender Besprechung bilden werden.

Auch einige seit geraumer Zeit aufbewahrte Gummaschnitte kamen zur Prüfung. Der Befund blieb aber sowohl mit der Giemsa'schen Methode, wie auch mit anderen Färbeverfahren negativ.

Kein besseres Ergebnis lieferten uns die Kulturen mit Drüsen-saft Syphilitischer in Menschenblut mit 50 Proz. Natroncitrat, die auf 27° bis 30° und 37° gehalten worden waren.

Da wir kein frisches Material von Früchten oder syphilitischen Kindern zur Verfügung hatten, griffen wir zu einigen in Alkohol aufbewahrten Stücken syphilitischer Früchte, die wir der Freundlichkeit der Herrn Kollegen verdanken. Zur Prüfung der Schnitte kam die Giemsa'sche Methode in Anwendung, das stark verdünnte karbolsaure Fuchsin (24 Stunden), das Polychromblau, das Methylenblau-Tropäolin (Nikiforoffsche Methode) und zuletzt eine Imprägnation in Silbernitrat, ein Verfahren, das von Volpino versucht wurde. Es wurden weiterhin verschiedene Schnitte (Milz, Leber und zuweilen auch Niere) syphilitischer Früchte erprobt, stets jedoch mit negativem Befund, mit Ausnahme eines einzigen Falles, der besonders beschrieben zu werden verdient.

Es handelte sich um eine 7 Monate alte syphilitische Frucht, von der 2 Monate vor unserer Prüfung einige Stücke aus Leber und Milz in Alkohol gehärtet worden waren.

Die Prüfung der Schnitte mit der Giemsa'schen und den anderen Färbemethoden fiel negativ aus. Allerdings glaubten wir zuweilen feine spiralförmige Fäden zwischen den einzelnen Gewebeelementen wahrnehmen zu können, doch waren die Bilder auch nicht im entferntesten beweisführend, und so mußte also der Befund auf den ersten Blick für

negativ erklärt werden. Es stand denn auch von vornherein außer Zweifel, daß die angewandten Verfahren nicht zu der Hoffnung berechtigten, die Spirochäten in den Schnitten deutlich ans Licht bringen zu können. Die wenigen Autoren, die sich mit Spirochäten beschäftigt haben, heben stets die große Schwierigkeit oder besser Unmöglichkeit hervor, Spirochäten in Schnitten hinreichend färben zu können. Um so mehr muß das also dann der Fall sein, wenn die Spirochäten sehr fein und delikat sind.

Außerdem hatten wir aber damals noch keine Kenntnis von dem ganz neuen Befund Herxheimers und Hübners¹⁾, die mit einer von ihnen vorgeschlagenen eigenen Färbemethode, d. h. mit Nilblau und Capriblau in den Schnitten eines beginnenden Syphiloms Spirochäten gesehen haben wollen, davon aber weder Zeichnungen noch Photographien geben.

Wir entschlossen uns also, die Silbernitratmethode in Anwendung zu bringen, die auch in der bakteriologischen Technik gute Dienste geleistet hat, als es sich darum handelte, die Geißeln der Keime deutlich hervortreten zu lassen. Die dabei befolgte Technik war folgende: Die sehr dünnen Schnitte (niemals über 5 μ) blieben 24–48 Stunden lang in einem 0,2–0,5-proz. Silbernitratbad. Daraufhin wurden sie ausgewaschen und in ein Bad von Gerb- und Gallussäure und essigsäurem Natron gebracht, das auch zur Färbung der Geißeln nach van Ermengen dient. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde, d. h. nachdem die Schnitte eine gelbliche Farbe angenommen haben, werden sie wieder herausgenommen und dann so lange in einem 0,2–0,5-proz. Silbernitratbade belassen, bis die Farbe der Schnitte bräunlich-gelb geworden ist. Schließlich werden sie wieder gewaschen, in absolutem Alkohol getrocknet und in Balsam eingebettet²⁾.

Auf diese Weise haben wir in der vorerwähnten Milz und der Leber der syphilitischen Frucht einen Befund erhalten, der uns ganz besonders auffallen mußte. In der Milz sah man zwischen den Elementen schraubenförmige, deutlich schwarzfarbene Fäden, die von dem gelben Grunde der Schnitte deutlich abstachen. Bald waren sie kurz, bald lang (10–14 μ) und hatten gedrängte, deutliche und gleichmäßige Windungen. Zuweilen waren diese Formen vereinzelt, zuweilen aber von derartiger Größe, daß es den Anschein erweckte, als ob sie gegenseitig verschlungen wären. Sie finden sich in allen Schichten und Richtungen des Schnittes vor. An einigen Stellen sind sie in geringer Anzahl vertreten oder fehlen fast ganz, an anderen dagegen bilden sie sozusagen wirkliche Anhäufungen. Ihre Form deckt sich ziemlich mit der einer feinen Spirochäte. Die Enden sieht man nicht immer spitz, sehr oft müssen sie auch in die Schnittfläche gefallen sein, wodurch dann die Spirochäte wie unterbrochen aussieht. Zuweilen auch laufen die Enden oder besser gesagt eines der Enden mit einer leichten Schwellung aus, was dann vorzüglich an die Schwellung der Spirochäte in den Leukocyten bei Rückfallfieber erinnert, wie dies von Sudakewitsch³⁾ beobachtet worden ist. In der Leber sind sie in noch größerer Anzahl vorhanden und bieten eine

1) Herxheimer und Hübner, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 26.

2) Wir halten es hier für nötig, darauf aufmerksam zu machen, daß die Konzentration der angegebenen Silbernitratlösungen und die Dauer des Bades zweckmäßig erhöht werden kann, wenn man anstatt innerer Organe Haut- oder Schleimhautstücke zu prüfen hat. Eine gute Färbung erhält man ebenfalls, wenn man das Silbernitrat auf die Organstücke anstatt auf die Schnitte einwirken läßt.

3) Sudakewitsch, Annales Pasteur. 1891. Fasc. 25.

starken Schwankungen unterworfenen Form dar. Bald sind sie gerade, bald gekrümmt, mit verschiedenzähligen feinen Windungen, immer aber deutlich sichtbar und auch hier ganz verschieden gerichtet. Wir bemerken in dieser Hinsicht, daß die von uns untersuchte Leber Verletzungen offenbar syphilitischer Natur darbot, und daß die Schnitte an der Stelle der Gewebsneubildung vorgenommen wurden.

Angesichts dieser Erscheinungen haben wir uns gefragt, ob diese Formen wirklich Spirochäten darstellen. Um nun den einfachsten aller Zweifel zu heben, daß es sich hier nämlich um elastische Fasern oder um ein Bindegewebsstroma oder um Fibrillen der Nervenendigungen handelt, haben wir die Versuche mit normaler und pathologischer Milz von Erwachsenen, Kindern und Fröchten wiederholt und dabei sowohl zu denselben Färbverfahren, wie auch zu den für die elastischen Fasern passenden gegriffen (Weigert). Es ergab sich uns jedoch, daß die von uns beobachteten und photographierten Formen nichts mit elastischen Fasern oder Fibrillen des Stromas zu tun hatten.

Hierin stimmten auch unsere Lehrer mit uns überein, die die Präparate prüften.

Auf einigen Ausstrichpräparaten syphilitischer Erkrankungen haben wir auch die Reaktion mit Silbernitrat erprobt, womit es uns, wenn auch viel weniger gut als bei den Schnitten, gelang, die Spirochäten in den Ausstrichpräparaten zu färben.

Ebendeshalb glauben wir, daß die von uns gesehenen Formen für nichts anderes als Spirochäten erklärt werden können. Auf diese Weise und mit Hilfe der angegebenen Methode wäre es somit ermöglicht, auch in den Schnitten das Vorhandensein der Spirochäten festzustellen.

Die anderen Färbungen (wir beabsichtigen nicht, hier auf sämtliche Versuche zurückzukommen) haben keine Spirochäten zu Tage gefördert. Doch scheint man mit dem Giemsa'schen Verfahren, wenn man aufmerksam beobachtet, wirklich hier und da Formen zu erblicken, die für Spirochäten gelten können. Die gleichmäßige Färbung des Gewebes aber nimmt dieser Probe jeden Wert, ist in keiner Hinsicht beweisführend und könnte Veranlassung zu Trugschlüssen geben.

Mit dem Silbernitrat dagegen sind die Bilder deutlich und so klar, daß man sogar die einzelnen Windungen der Spirochäten zu zählen vermag.

Es war nun jedenfalls empfehlenswert, auch zur Kontrolle Schnitte primärer und sekundärer Verletzungen zu prüfen, die sicherlich reich an Spirochäten sind, was wir auch getan haben würden, wenn uns nicht bis heute die Gelegenheit gefehlt hätte. Doch besitzen wir einige mit Syphilis infizierte Makakos, die es uns leicht ermöglichen werden, in den inneren Organen mit besagter Methode nach Spirochäten zu suchen. Mit derselben Methode waren wir in der Lage, bei einem spitzen Kondylom grobe Spirochäten in den oberen Schichten des Gewebes hervortreten zu lassen, womit zweifellos nachgewiesen ist, daß diese Methode sehr gut zur Färbung der Spirochäten in den Schnitten verwendet werden kann. Für den Augenblick halten wir daran fest, daß die beobachteten Formen keine normalen Teile des Gewebes darstellen können und angesichts derselben keine andere Auslegung gefunden werden kann als diejenige, die sie für Spirochäten erklärt.

Auf ihre Beziehungen zum Gewebe werden wir später zurückkommen, wenn das den Affen entnommene Material in dieser Richtung eine andere sichere Tatsache zu Tage fördert.

Für den Augenblick wollen wir nur hervorheben, daß die Imprägnation in Silbernitrat bei den Schnitten von Leber und Milz syphilitischer Früchte zuweilen Formen hervortreten läßt, die nach unserer Meinung nicht nur an die Spirochäten erinnern, sondern für nichts anderes als Spirochäten gehalten werden können.

Es liegt durchaus nicht in unserer Absicht, ein Urteil über die ätiologische Bedeutung der *Spirochaete pallida* abzugeben. Lassen wir den Umstand ganz beiseite, daß einige negative Befunde sich als eine Folge stattgehabter Behandlung erklären lassen, so kann doch auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen sein, daß das Nichtvorhandensein von Spirochäten mit einer unvollständigen Prüfung in Beziehung stehe. Diese sich geltend machende Schwierigkeit im Auffinden der Spirochäten mag nun wohl den praktischen Wert des Aufsuchens der *Spirochaete pallida* zum Zwecke der Diagnostik in Zweifel stellen, auch für den Fall, daß sie wirklich spezifisch ist. Es kann jedoch ein negativer Befund niemals als genügender Gegenbeweis gegen die Spezifität der *Sp. pallida* ins Feld geführt werden.

Dagegen wäre es unleugbar sehr sonderbar, daß, wenn die *Sp. pallida* nicht spezifisch wäre, man sie nur in syphilitischen Affektionen vorfinden könnte, und noch viel sonderbarer wäre es, wenn man dieselbe nur in den inneren Organen von mit hereditärer Syphilis behafteten Individuen vorfinden sollte.

Der negative Befund der Drüsen (es sei hier darauf hingewiesen, daß in 2 Fällen die primären und sekundären Verletzungen der das Drüsenmaterial liefernden Individuen eine bemerkenswerte Anzahl von *Spirochaete pallida* vorwiesen) besagt also, daß entweder das Vorhandensein der *Spirochaete pallida* in den Ganglien selten ist oder nur eine kurze Zeit lang dauert. Außerdem erinnern wir daran, daß der Drüsen-saft wenigstens der Leberdrüsen Syphilitischer nicht immer steril ist. Zuweilen (und das haben wir zweifellos in einem Falle wahrgenommen) kann der Drüsen-saft einige Keime enthalten, auch wenn alle aseptischen Vorsichtsmaßregeln getroffen worden, und filtrierte oder gekochte Farblösungen, sowie äußerst wohlgeereinigte Gläser zur Verwendung gekommen sind.

Wir tun dieser, wenngleich ausnahmsweisen Tatsache Erwähnung, weil sie bei Abgabe eines Urteils über die Gegenwart von Keimen in nicht ulcerierten Ganglien während der syphilitischen Drüsenerkrankungen nicht außer acht gelassen werden darf.

Wir verweisen nun noch auf den anderen Umstand, daß wir nämlich bei Prüfung der mit syphilitischem und nicht syphilitischem Material hergestellten Präparaten mehr als einmal auf Spirochätenformen gestoßen sind, die bezüglich ihrer Natur einen Zweifel ließen. Die Charakteristik, die Schaudinn in Bezug auf *Spirochaete pallida* abgibt, scheint auf den ersten Blick sehr absolut, und niemandem wird es einfallen, an der Genauigkeit der Beobachtungen eines solchen Forschers auf einem derartigen Gebiete zu zweifeln.

Wie bereits erwähnt, lassen sich diese charakteristischen Daten in 2 Gruppen einteilen, in die morphologischen und die die Färbetechnik betreffenden. Was nun die Färbbarkeit anbelangt, so ist das die *Sp. pallida* von anderen unterscheidende Kennzeichen nicht absolut. Unseren ersten derartigen Beobachtungen lag die Romanowskysche Methode zu Grunde. Damit werden in 18—24 die *Sp. pallida*, wenn auch nicht

so gründlich wie mit Giemsa, immerhin gut gefärbt. Eine Gefahr, sie zu verwechseln, liegt auch nicht vor, wenn man auch nur einen Augenblick die von Schaudinn in den „Arbeiten des kaiserl. Gesundheitsamtes“ und der Berl. klin. Wochenschr. gegebenen Mikrophotographien beobachtet und sich an die Beobachtung solcher Präparate gewöhnt hat.

Uebrigens vermag man auch mit der von Schaudinn modifizierten Giemsa'schen Methode *Sp. pallida* gut zu färben.

Dasselbe kann von andern Farben gesagt werden. So färben karbolsaures Fuchsin, Gentianaviolett in kurzer Zeit, das borsaure Methylenblau in einer Stunde die *Sp. pallida* genügend gut, wenn sie auch nicht Präparate zustande kommen lassen, die mit den nach Giemsa¹⁾ kolorierten zu vergleichen wären.

Was nun die Formen anbetrifft, muß eingestanden werden, daß die von Schaudinn gegebenen Merkmale hie und da zu wünschen übrig lassen. Das tritt besonders bei den mit syphilitischem Material hergestellten Präparaten zu Tage. In diesen Präparaten kann man zuweilen Spirochäten sehen, die das typische Aussehen der *Sp. pallida* besitzen oder das der *Sp. refringens*, gleich daneben aber auch andere Formen, die in ihrer Eigentümlichkeit der *Sp. pallida* nicht an die Seite gestellt werden, ebensowenig aber ohne weiteres für *Sp. refringens* erklärt werden können. Zuweilen aber wird die Gefahr einer Verwechslung sehr groß. Zweifellos kann bei genauer Beobachtung eine Verwechslung zwischen *Sp. pallida* und anderen vermieden werden, nicht immer aber läßt sich der Irrtum vermeiden, Formen für *Sp. pallida* zu nehmen, die es nicht sind.

Wir weisen an dieser Stelle darauf hin, daß auch bei der Prüfung von Materialien, die nichts mit dem Saft von venerischen Verletzungen zu tun haben, Formen von Spirochäten zur Beobachtung gelangen, die einen verwirren können. So fanden sich im Rachen verschiedene Spirochätenformen. Einige (*Sp. buccalis*?) sind grob und haben wenig gedrängt, schwach deutliche, reichlich gewellte, spärliche (4—6) Windungen. Andere wiederum sind dünner und haben feinere, engere und zuweilen zahlreiche Windungen. Endlich werden dann auch einige Male andere Formen beobachtet, die wirklich stark an *Sp. pallida* herantreten, die vielleicht ein wohlgeübtes Auge auf Grund ihrer Form zu unterscheiden vermögen wird. So haben wir im Auswurf eines Herzkranken und später in dem eines an Bronchitis erkrankten, nicht syphilitischen Individuums einige seltene Spirochäten wahrgenommen, die eine Verwechslung hervorzubringen imstande sind. Die Windungen sind wohl ein wenig weiter als bei *Sp. pallida* und die Spirochäte selbst etwas dicker. Vergleicht man aber die Bilder unserer Tafeln mit einigen Schaudinn'schen Bildern (man vergleiche mit einer der Formen der 2. Mikrophotographie in den Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamt) so entstehen erwähnte Zweifel und die Gefahr einer Verwechslung ganz von selbst,

Ein Unterschied kann auch in der leichten Färbbarkeit dieser Formen erkenntlich sein, und darauf möchten wir ganz besonders die Aufmerksamkeit der Studierenden richten. Die seltenen von uns im Auswurf wahrgenommenen Spirochätenformen, die der *Sp. pallida* auffallend gleichen, unterscheiden sich von ihr doch durch eine leichtere Färbbarkeit. Zur

1) In den letzten Tagen haben Giemsa (Deutsche med. Wochenschr., No 26), Proca und Vasilescu (Soc. de Biologie, 24. Juni 1905) andere rasche Färbemethoden für *Spirochaeta pallida* vorgeschlagen.

Unterscheidung dient in dieser Hinsicht das Methylenblau in Wasser sehr gut. *Sp. pallida* nimmt in einer solchen kalten Lösung keine Farbe an, oder doch nur eine kaum wahrnehmbare Quantität, und dies selbst nach einer Stunde; dagegen färben sich die Spirochätenformen (auch wenn sie in ihrer Form der *Sp. pallida* ähneln) des Sputums immer mehr oder weniger stark, stets aber derart, daß der Färbevorgang auch schon nach $\frac{1}{4}$ Stunde deutlich sichtbar wird.

Eine Unterscheidung zwischen *Sp. pallida* und ähnlichen Formen ist somit auch auf diesem Wege gegeben.

Alles dies ist jedoch ein Beweis dafür, daß unsere Kenntnisse über die Systematik der Spirochäten noch in den ersten Stadien stehen. Um sich davon zu überzeugen, genügt es, zu beobachten, daß die in dem Maule sich vorfindenden Spirochäten von einigen Forschern en bloc *Sp. buccalis* getauft wurden. Es kann nun nicht schwer fallen, wenigstens 3 Arten Spirochäten zu unterscheiden, und dies auf Grund ihrer Größe, Form, der Form der Windungen und teilweise auch auf Grund ihrer Färbbarkeit.

Dasselbe kann von den so leicht bei venerischen, nicht syphilitischen Erkrankungen (spitze Kondylome, Balanoposthitis etc.) vorkommenden Spirochäten gesagt werden. Da können zum mindestens 2 Formen abgeteilt werden. Die einen besitzen die von Schaudinn für *Sp. refringens* abgegebenen Merkmale, die anderen sind gerade oder einmal in ihrer Maximalachse gekrümmt und ähneln im Profil (es sei mir hier der uneigentliche und banale Ausdruck gestattet) winzig kleinen Aalen.

Stellen nun diese beiden Formen eine einzige Art dar oder verschiedene Typen von Lebewesen?

Zur Veranschaulichung des Gesagten haben wir unserer Arbeit eine Reihe Mikrophotographien beigelegt, die einen Beweis dafür ablegen, daß eine nur auf Grund der morphologischen Kennzeichen ausgeführte Systematik der verschiedenen Spirochäten schwerfällt.

Nur dann, wenn weitere biologische und morphologische Eigentümlichkeiten dieser Gruppe von Lebewesen bekannt sind, werden eventuelle Fehler in der systematischen Diagnostik vermieden werden können.

Ohne nun irgendwie die Spezifität der *Sp. pallida* in Abrede stellen zu wollen, halten wir es doch für nützlich, die Aufmerksamkeit der Forscher auf unsere Ausführungen gelenkt zu haben und sind der Ansicht, daß ohne weitere Charakteristik die genaue und sichere Erkennung der *S. pallida* zuweilen auf Schwierigkeiten stoßen muß.

Unsere vorstehenden Ausführungen zusammenfassend, ist es uns also in 42 Fällen primärer und sekundärer syphilitischer Läsionen 26mal gelungen, die *Sp. pallida* vorzufinden. Ueberdies vermochten wir in den Schnitten der Leber und Milz einer syphilitischen Frucht Spirochätenformen nachzuweisen, die der Anzahl und der Kleinheit der Windungen wegen aller Wahrscheinlichkeit nach für *Sp. pallida* angesehen werden können. Dagegen haben wir niemals *Sp. pallida* in den Ganglien und in dem Blute der Roseolaflecken Syphilitischer beobachtet.

In nicht syphilitischen Stücken sind wir niemals auf Spirochäten gestoßen, die der *Sp. pallida* ähnlich gewesen wären. Doch haben wir in seltenen Fällen im Speichel zusammen mit anderen leicht von *Sp. pallida* unterscheidbaren Spirochätenformen auch besondere Formen vorgefunden, die sehr stark an *Sp. pallida* herantreten, immerhin aber noch durch leichtere Färbbarkeit und Formeneinzelheiten von ihr unterschieden

werden können. Wenn also auch einerseits die *Sp. pallida* nur in syphilitischen Läsionen vorgefunden wird, so ist es andererseits ebenso wahr, daß bei Klassifizierung und Diagnostik der Spirochätenformen mit großer Vorsicht vorgegangen werden muß. Unsere Untersuchungen besagen dann überdies vor allem, daß die absolute Notwendigkeit vorliegt, andere Unterscheidungsmerkmale für die verschiedenen Spirochätenarten ausfindig zu machen (zumal da diese Art von Lebewesen noch zu wenig bekannt ist), damit eventuelle Verwechslungen besonders bei denen unmöglich werden, die nicht in der Lage sind, sich in dieser Art von Untersuchungen lange zu üben.

Erklärung der Tafeln.

Tafel I.

Die Abbildungen sind mittelst Mikrophotographie erhalten worden und stellen verschiedene Punkte von Ausstrichpräparaten dar, Färbung nach Giemsa.

Vergrößerung: Ocul. comp. 12. Objekt. 2 mm apochrom. Zeiss.

Die so erhaltenen Photographien wurden sodann vergrößert bis ca. 2200 Diameter.

Fig. 1. Spirochäte der Mundhöhle.

Fig. 2. Spirochäten verschiedener Form der Mundhöhle.

Fig. 3. Spirochäten im Sekret der gewöhnlichen Balanitis.

Fig. 4, 5, 6. *Spirochaetae pallidae* im Sekret einer Schleimhautpappe des Anus.

Fig. 7, 8, 9. Spirochäten im Sputum einer herzkranken, nicht syphilisverdächtigen Frau.

Fig. 10, 11, 12. Spirochäten im Sputum eines an Bronchitis erkrankten, nicht syphilisverdächtigen Mannes.

Tafel II.

Die Abbildungen sind eine mikrophotographische Wiedergabe von Schnittpräparaten aus Leber und Milz einer syphilitischen 7 Monate alten Frucht. Färbung mit Silbernitrat.

Vergrößerung: Fig. 1, 2, 4, 5 ca. 2000 Diameter, Fig. 3 ca. 1000 Diameter.

Fig. 1, 3, 5. Leber. Fig. 2, 4. Milz.

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorhandensein der *Spirochaete pallida* im Blute und in den sekundären Erscheinungen der Syphiliskranken.

[Dermosyphilopathische Klinik der kgl. Universität zu Siena
(Direktor: Prof. Dr. Barduzzi).]

Vorläufige Mitteilung.

Von

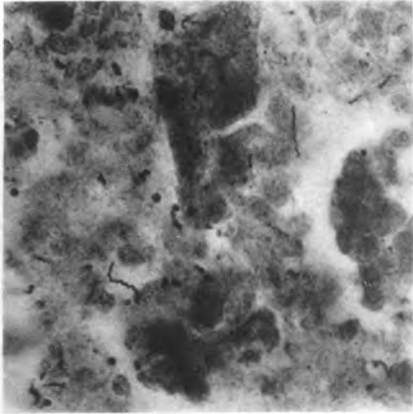
Dr. Ivo Bandi,
Mitdirektor des serotherapeut. toskan.
Institutes und Privatdoz. der Hygiene,

und

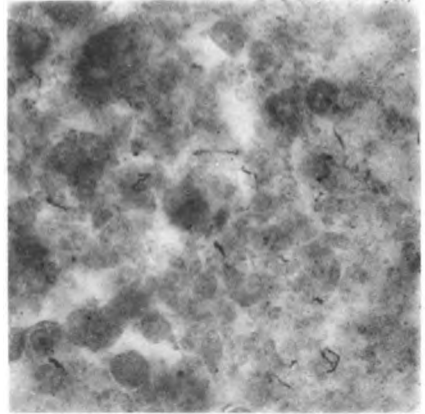
Dr. Francesco Simonelli,
Assistenten an der Klinik und Privat-
dozenten der Dermosyphilopathie.

In einer ersten, im Dezember 1903 veröffentlichten Schrift teilten Metchnikoff und Roux (1) nach gewissenhaften Forschungen mit, daß der Schimpanse für das Syphilisgift empfänglich ist, welches bei dieser Art anthropoider Affen ganz ähnliche primäre und sekundäre Erscheinungen hervorbringt wie bei dem Menschen. Indem die nämlichen Autoren (2) in ihren Versuchen fortfuhren, trugen sie kein Bedenken, die Möglichkeit einer Abschwächung des syphilitischen Giftes beim Uebergange desselben in die Schmalnasenaffen (*Simiae catarrhinae*) der unteren

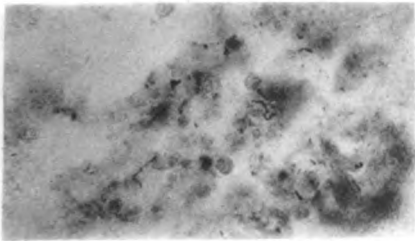
Bertarelli u. Volpino, Untersuchungen ü d. *Spirochaete pallida* Schaudinn b. d. Syphilis.



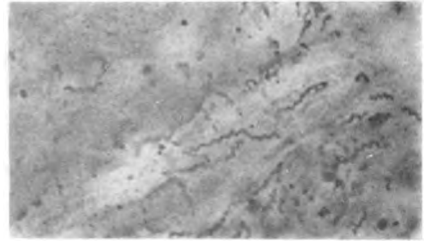
1



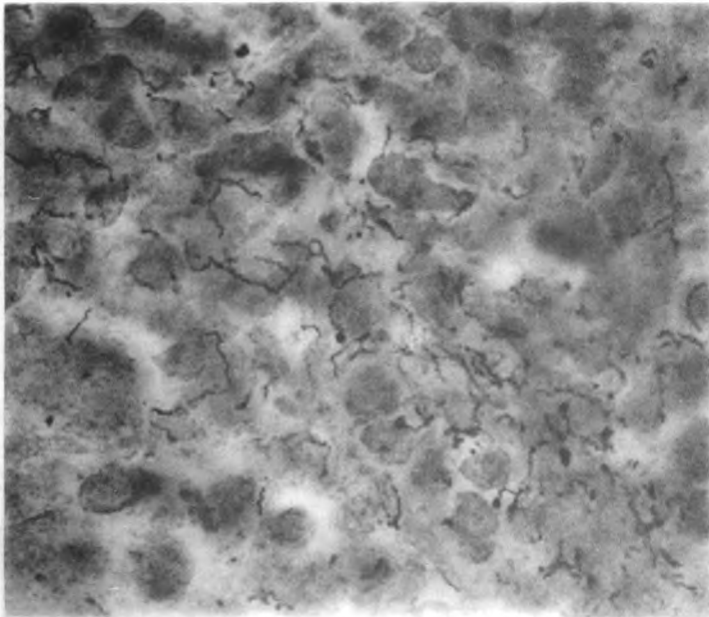
2



3

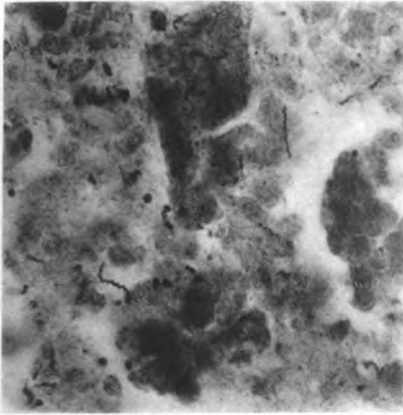


5

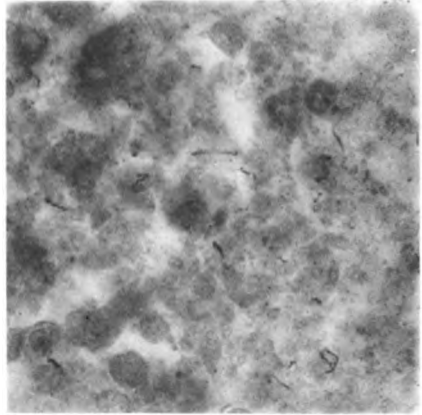


4

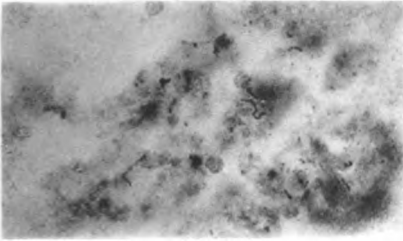
Bertarelli u. Volpino, Untersuchungen ü d. Spirochaete pallida Schaudinn b. d. Syphilis.



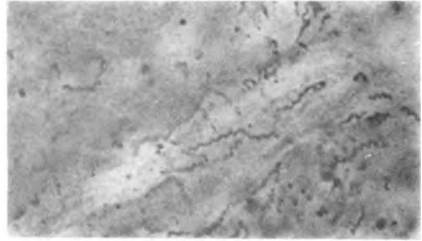
1



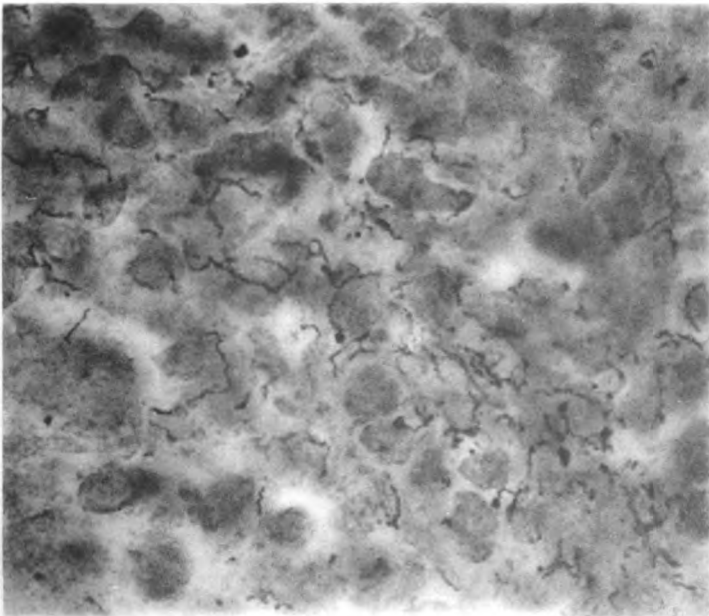
2



3



5



4

Stufen, und also auch eine künstliche Immunisierung vermittelt des so abgeschwächten Virus anzunehmen.

Obwohl kurze Zeit darauf Lassar (3), Zabolotny (4), Salmon (5), Neisser (6) und andere fast zu den gleichen Schlüssen kamen, war dessen ungeachtet von den verschiedenen Autoren nichts wirklich Gewisses vorgebracht worden, um die Hoffnung einer nicht entfernten Lösung des dunklen ätiologischen Problems der Lustseuche hegen zu können. In den letzten Monaten, nachdem Siegel (7) die Entdeckung eines besonderen Urtieres (Protozoen) derluetischen Infektion angekündigt hatte, teilten Schaudinn und Hoffmann mit (8), indem sie die Forschungen dieses Autors kontrollierten, in einigen primären und sekundären syphilitischen Läsionen einen charakteristischen, zu den Spirochäten gehörenden Keim vorgefunden zu haben. Schaudinn und Hoffmann (9, 10) setzten ihre Studien fort und fügten ihren Beobachtungen neue Beiträge zu und, auf genauere Einzelheiten eingehend, beschrieben sie den von ihnen entdeckten Mikroorganismus, welchen sie *Spirochaete pallida* nannten. Dieser Keim hat die Form einer dünnen Spirale, nach Art eines Korkziehers, und ist so dünn, daß, um ihn zu betrachten, die ausgezeichnetsten Objektive erforderlich sind. In den frischen Präparaten bewegt er sich sehr schnell, indem er sich um seine Längsachse dreht und Fortrückungs- und Biegebewegungen ausführt, ähnlich denen, die bei einer Schlange zu beobachten sind; manchmal kann man auch ohne Ortsveränderung längs der ganzen Spirale Wellenbewegungen wahrnehmen.

Die Länge der *Spirochaete pallida* beträgt 4—14 μ (durchschnittlich 7 μ), die Breite 0,3—0,5 μ ; die Enden sind zugespitzt. Diese Spirochäte lebt ziemlich gut in der physiologischen Chlornatriumlösung, wo sie bis zu 6 Stunden beweglich erhalten werden kann. In den konzentrierten Glycerinlösungen stellt sie sich als polymorphisch dar. Einige Elemente werden nach 5—10 Minuten unbeweglich und bleiben starr, nach 1—2 Stunden verlieren sie die Spiralforn; andere nehmen während der Beobachtung spindelartige Form an. Aehnliche Formen kann man mit den typischen Formen der Spirochäte vermischt vorfinden.

Die Spirochäte von Schaudinn und Hoffmann hat die Eigenschaft, sich schwer zu färben, und nur mit der Original- oder in der blauen Farbe verstärkten Methode von Giemsa (11) erhält man die besten Resultate, obwohl in der Praxis auch die Methode mit Azurblau und diejenige mit (12) Marinoblaue verwendet worden sind.

Ob schon Schaudinn und Hoffmann sich nicht entschieden über die spezifische Bedeutung der beobachteten Spirochäte aussprachen, erweckten dessenungeachtet ihre Mitteilungen in der wissenschaftlichen Welt das größte Interesse und eine fieberhafte Tätigkeit entspann sich um den Gegenstand, so daß in einer verhältnismäßig kurzen Zeit die betreffende Literatur sich mit zahlreichen und interessanten Kontrollierungsstudien bereicherte.

Metchnikoff und Roux (13) wiesen die *Spirochaete pallida* nicht nur in den syphilitischen Erkrankungen des Menschen nach, sondern auch in den pathologischen Erzeugnissen ihrer syphilitischen Affen; Buschke und Fischer (14) fanden sie in den Leber- und Milzausstrichpräparaten eines an angeborener Syphilis (Syphilis hereditaria) gestorbenen Kindes vor; Jacquet und Sevin (15) suchten sie vergebens

bei einer großen Zahl von tertiären Affektionen, während sie sie fast stets den sekundären Läsionen entsprechend auffanden.

Levaditi (16) beobachtete bei einem 8 Tage alten Kinde vorgefundenen syphilitischen Pemphigusfalle, daß die Flüssigkeit der Blasen und im besonderen die Abschabungen die Spirochäten enthielten, welche mit denen von Schaudinn und Hoffmann beschriebenen identisch waren. Diese Keime konnten nach der Meinung des Autors nicht von einer sekundären Infektion herrühren, denn sie waren in den noch nicht geöffneten Blasen und in den im Initialstadium sich befindenden Papeln vorhanden. Levaditi wies außerdem in den Abschabungen der pemphigoidischen Läsionen die Agglutininierung der Spirochäten nach. Bei einem anderen hereditärsyphilitischen, nach 2 Monaten gestorbenem Kinde fand derselbe Autor die *Spirochaete pallida* in der Milz, in den Lungen und in der Leber vor, und aus seinen Beobachtungen zog er den Schluß, daß die angeborene Syphilis eine Spirillose der Neugeborenen ist.

Salmon (17) nahm das Vorhandensein zahlreicher Spirochäten fast in Reinkultur in der Abschabung einer Pemphigusblase eines Hereditärsyphilitischen wahr, während er sie im Nasenschleime und im Blute nicht finden konnte.

Kraus (18), Frosch, Wechselmann u. a. erklärten in der „Berliner medizinischen Gesellschaft“, daß sie auch die Entdeckung von Schaudinn kontrolliert und bei den Syphilisfällen die *Spirochaete pallida* vorgefunden hätten.

Die Einwendungen, die bis heute gegen den Befund von Schaudinn und Hoffmann gemacht worden sind, sind nicht derart, um ersten Verdacht hervorzurufen, obwohl Thesing (19) den Zweifel ausgedrückt hat, daß die beobachteten Keime vom angewandten reagierenden, färbenden Mittel herrühren könnten. Dennoch haben wir es mit Rücksicht auf die Wichtigkeit der bis heute ausgeführten Beobachtungen, auf Grund derer man mit Sicherheit eine nicht entfernte Lösung der schwierigen Aufgabe der Aetiologie der Syphilis hoffen kann, für nicht unnütz erachtet, über diesen Gegenstand unseren Beitrag zu liefern, und zu diesem Zwecke haben wir einige Forschungen angefangen, um festzustellen, ob es mit den angeratenen Forschungsmitteln und Färbungsmethoden wirklich gelingt, in allen syphilitischen Affektionen den von Schaudinn und Hoffmann beschriebenen Keim nachzuweisen.

Der bis heute in unsere Beobachtungen gekommenen Individuen waren fünf an der Zahl, alle im zweiten Stadium, und keines von ihnen hatte die spezifische Kur unternommen. Mit dem von diesen Fällen entnommenen Materiale haben wir sowohl frische als auch nach der Methode von Giemsa (20) gefärbte Präparate gemacht.

1. Fall. Sekundäre Syphilis. Perianale hypertrophische Papeln. Syphilitische Alopecie. Knochenschmerzen (Dolores osteocopi). Ganglionische Plejaden.

Aus dem vermittelst Schabung mit dem Volkmannschen Löffel aus einer großen perianalen Papeln gewonnenen Materiale wurden frische Präparate hergestellt, während andere nach der Methode von Giemsa 12 Stunden hindurch gefärbt wurden.

Die mikroskopische Beobachtung der frischen Präparate fällt, was das Vorhandensein der Spirochäten betrifft, negativ aus, auch kann man sie nicht einmal in den gefärbten Präparaten nachweisen, obwohl die histologischen Elemente gut unterschieden sind.

2. Fall. Sekundäre Syphilis. Ausschlag (Roseola syphilitica). Voluminöse ganglionische Plejaden in der Leisten- und Nackengegend.

Die Untersuchung des Saftes eines lymphatischen Ganglion der rechten Leistengegend wurde unter Anwendung der gewöhnlich für die Diagnose der Beulenpest adoptierten Methode, d. h. indem man eine auf einer Spritze vollkommen luftdicht aufgesteckte Kanülennadel ganz in den Kern der lymphatischen Drüse, der Längsachse derselben folgend, einsenkt und sodann ruckweise nach und nach die Nadel wieder herauszieht, währenddem man gleichzeitig mit der Spritze ansaugt, ausgeführt.

Auf diese Weise haben wir einige Tropfen von Drüsensaft erlangt, in welchen es uns sowohl im frischen Zustande, als auch mit der Färbungsmethode von Giemsa gelungen ist, einen, dem von Schaudinn und Hoffmann beschriebenen identischen Mikroorganismus zu beobachten.

Auf demselben Individuum haben wir die Exstirpation einer voluminösen lymphatischen Drüse der linken Leistengegend ausgeführt, welche uns dazu gedient hat, mittelst Schabung des inneren Kernes verschiedene Strichpräparate zu bereiten, die, mit der gewöhnlichen Methode gefärbt, uns ein für den Nachweis der *Spirochaete pallida* positives Ergebnis geliefert haben.

3. Fall. Sekundäre Syphilis. Ausschlag (Roseola syphilitica). Ganglionische Plejaden der Leisten- und Nackengegend.

Das Ergebnis der Untersuchung des Blutes sowohl in frischen als mit der Methode von Giemsa 24 Stunden lang gefärbten Präparaten war beharrlich negativ.

4. Fall. Sekundäre Syphilis. Ausschlag (Roseola syphilitica). Arthralgien. Ganglionische Plejaden in der Leisten- und Nackengegend. Pharyngitis.

Bei diesem Falle haben wir die Untersuchung des Blutes vorgenommen, welches aber aus einer erythematischen Fleckbeule des Rumpfes entnommen wurde, nachdem man die mit einer Lanzette zu verwundende Stelle sorgfältig desinfiziert hatte. In den Einschnitt wurde sodann ein sterilisiertes dünnes Glasröhrchen eingesenkt, in welchem, dank der Kapillarität, das Blut gestiegen ist. Im so gewonnenen Blute haben wir die gewöhnlichen Untersuchungen ausgeführt, und es gelang uns wohl zweimal, die Spirochäte von Schaudinn und Hoffmann nachzuweisen, einmal in einem frischen Präparate, das andere Mal in einem nach der gewöhnlichen Methode 24 Stunden lang gefärbten.

5. Fall. Sekundäre Syphilis. Korrosive Papeln der Mundschleimhaut. Hypertrophische perianale Papeln — ebensolche auf den großen Schamlippen. Ganglionische Plejaden.

In den Abschabseln des Grundes der korrosiven Papeln und im Abschabsel der hypertrophischen Papeln, sowohl in den frischen als in den gefärbten Präparaten, haben wir die *Spirochaete pallida* zweimal isoliert, und zweimal, zu 8—10 Elementen gruppiert, beobachten können.

Im wesentlichen können wir also sagen, daß es uns unter 5 Fällen sekundärer Syphilis gelungen ist, dreimal die von Schaudinn und Hoffmann beschriebene Spirochäte, sowohl in den frischen als auch in den nach der Methode von Giemsa 24 Stunden lang gefärbten Präparaten zu beobachten. Diese Spirochäte stellt sich gewöhnlich als ein sehr dünnes Fadengebilde mit geschlossenen Spiralen dar, welches an den Enden zugespitzt ist, und eine schlangenartig-wellige, äußerst rapide Bewegung besitzt, welche an die der *Spirochaete Obermaieri* erinnert. Manchmal trifft man hingegen auf starre spindel-, oder auf fadenförmige, nach

Art eines *S* gebogene Elemente. Sie färbt sich überaus schwer, so daß sie in den nach der Methode von Giemsa gefärbten Präparaten 12 Stunden lang ungefärbt bleibt, und nur, wenn man die Färbung auf 24 Stunden ausdehnt, nimmt sie eine sehr schwache blaßblaue Färbung an. Im Verlaufe unserer Untersuchungen haben wir auf zwei mit vom Grunde von Korrosivpapeln abgeschabtem Material zubereiteten Präparaten und auch auf dem mit von hypertrophischen Papeln herrührenden Material wirkliche Konglomerate von Spirochäten beobachtet, eine Tatsache, die letzthin schon von Levaditi (21) bemerkt und von diesem Autor als ein Agglutinationsphänomen ausgelegt wurde.

Die Umstände, unter welchen wir diese Gruppierungen gefunden haben, lassen uns unter der Annahme, daß die *Spirochaete pallida* in Wirklichkeit das spezifische Agens der Syphilis sei, an einen wahrhaftigen Zellenparasitismus denken, weil man diese Keimgruppierungen beständig in der Dicke des Zellenprotoplasmas des Grundes der Papeln wahrgenommen hat, eine Auslegung, die nach unserer Meinung mit dem Wesen der syphilitischen Erscheinungen, denen das der Untersuchung unterworfen Material entnommen worden war, in Beziehung zu stehen scheint.

Eine Tatsache, die in Erwägung gezogen zu werden verdient, ist die, daß wir die Spirochäte von Schaudinn und Hoffmann in dem aus einer erythematischen Hautläsion entnommenen Blute und unter solchen Umständen vorgefunden haben, daß man die Möglichkeit eines zufälligen Hineingelagens von außen entschieden ausschließen muß. Vielmehr gibt unsere Bemerkung die logische Vermutung zu, daß die *Spirochaete pallida* auch im umlaufenden Blute der Syphilitischen im sekundären Stadium vorhanden sein muß.

Siena, am 7. Juli 1905.

Literatur.

- 1) Metchnikoff et Roux, Annales de l'Institut Pasteur. 1903. Décembre.
- 2) —, ibidem. 1904. Janvier.
- 3) Lassar, Berl. klin. Wochenschr. 1903 28. Dezember u. 1904.
- 4) Zabolotny, Arch. sciences biolog. T. XI.
- 5) Salmon, C. R. Soc. de biolog. T. LVI.
- 6) Neisser, Deutsche med. Wochenschr. 1904.
- 7) Siegel, Abhandlungen der K. preuß. Akad. der Wissensch. 1905.
- 8) Schaudinn und Hoffmann, Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXII. 1905. Heft 2. p. 527—534.
- 9) —, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 18. p. 711—714.
- 10) —, Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 22 u. 23.
- 11) Giemsa, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. p. 307.
- 12) La Syphilis. T. III. No. 7. p. 521—522.
- 13) Metchnikoff et Roux, Recherches microbiologiques sur la syphilis. (Académie de méd. de Paris, séance du 16 mai 1905.)
- 14) Buschke und Fischer, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 20.
- 15) Jaquet et Sevin, Presse médicale. 1905. 24 mai. in Soc. méd. des hôp. 19 mai.
- 16) Levaditi, Soc. de biolog. de Paris, séance du 20 mai 1905.
- 17) Salmon, ibid.
- 18) Kraus, Semaine médicale. 1905. p. 247.
- 19) Thesing, ibid.
- 20) Giemsa, a. a. O.
- 21) Levaditi, a. a. O.

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.

(Schluß.)

Fall 6. Julius R., 4 Jahre. Krankheitsbeginn am 21. VIII. Spitalaufnahme am 25. VIII.

Anamnese: Erkrankte plötzlich ohne Leibschmerzen mit heftigem StuhlDrang und häufigen Diarrhöen, im Stuhl wurde von der Mutter, die gleich danach infiziert wurde (s. Fall 5), sofort Blut und Schleim beobachtet. Etwa 10—15 Entleerungen pro die.

Status praesens: Kräftig gebauter Junge, gesunde Gesichtsfarbe, guter Ernährungszustand. Keine Kinderkrankheiten bisher durchgemacht. Inneren Organe vollkommen gesund. Abdomen auf stärkeren Druck wenig schmerzhaft. Milz nicht zu fühlen. Stühle typisch dysenterisch; im Präparat wenige plumpe Stäbchen. Temperatur $37,7^{\circ}$, Puls ca. 130.

Seruminjektion am 26. VIII. (10 ccm Serum subkutan).

26. VIII. 8 Entleerungen, noch typisch dysenterischer Natur. Relativ gutes Allgemeinbefinden.

27. VIII. 6 Entleerungen, noch blut- und schleimhaltig. Temperatur ist am Abend auf $38,9^{\circ}$ C, Puls auf ca. 140 Schläge gestiegen. Befinden unverändert.

28. VIII. 2 Entleerungen, wenig Schleim und Blut, von halbfester Konsistenz.

Von da ab normale Stuhlentleerungen. Blut am 31. VIII. gänzlich verschwunden. Am Tage nach der Seruminjektion, am 27. VIII., tritt ein Exanthem auf der Brust (Injektionsstelle) auf, das zuerst aus feinen, diffusen, rötlichen Flecken besteht. Es verbreitete sich schnell innerhalb 24 Stunden auf Gesicht, rechtes Bein und rechten Arm; Gesicht erscheint etwas gedunsen, stark gerötet (am 29. VIII.). Am Abend des 28. VIII. nimmt es großfleckige Form an, verschwindet jedoch am 2. Tage nach der Entstehung bis auf geringe Spuren an den Streckseiten der Unterarme. Subjektive Beschwerden dabei nicht im geringsten vorhanden. Im Urin leichte Eiweißtrübung, Diazo stark positiv.

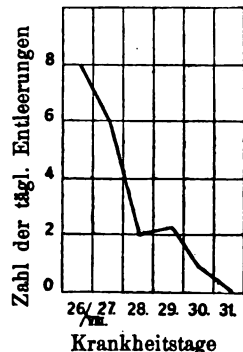
30. VIII. Temperatur noch $38,7^{\circ}$ C. Sinkt von jetzt ab lytisch, bis am 6. IX. wieder normale Temperatur beobachtet wird. Eiweißausscheidung am 1. IX. verschwunden, Diazo ganz schwach positiv.

10. IX. geheilt entlassen.

Fall 7. Klara Sch., 17 Jahre, Dienstmädchen. Krankheitsbeginn am 19. VIII. Aufnahme ins Krankenhaus am 26. VIII.

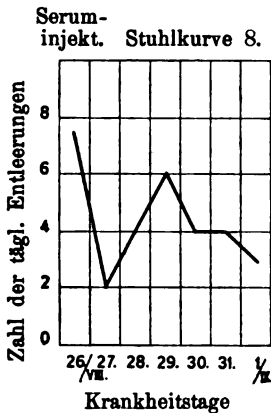
Anamnese: Erkrankte plötzlich mit Leibschmerzen, allgemeiner

Serum-
injekt. Stuhlkurve 7.



Mattigkeit, Appetitlosigkeit, großem Durstgefühl. Am 20. VIII. ca. 15 bis 20 Stühle pro die, Blut und Schleim in denselben beobachtet. Leibschmerzen treten periodisch auf, so daß Patientin sich im Bett vor Schmerzen krümmt.

Status praesens: Mittelkräftiges Mädchen, ziemlich guter Ernährungszustand, blasse Gesichtsfarbe. Zunge geringgradig belegt. Abdomen im linken Hypochondrium leicht auf Druck schmerzhaft. Stuhl aus Blut und Schleim bestehend; in den eiterigen Partien Ruhrbacillen mikroskopisch und kulturell nachgewiesen. Temp. 36,5° C, Puls ca. 135. Hyperleukocytose (13600 L.). Widal am 13. Krankheitstage in einer Verdünnung von 1:700 positiv.



Seruminjektion am 27. VIII. (10 ccm Serum).
26. VIII. 7 Entleerungen. Dysenterischer Stuhl.

27. VIII. 2 Entleerungen.

28. VIII. 4 Entleerungen.

29. VIII. 6 Entleerungen.

30. VIII. 4 Entleerungen.

31. VIII. 4 Entleerungen. Fester Stuhl, ohne

Blut. Wenig Schleim. Zunge noch wenig belegt. Gutes Befinden. Von jetzt ab normaler Stuhl.

10. IX. Geheilt entlassen.

Außer diesen 7 Fällen, in denen die Seruminjektion von zweifellos günstigem Einfluß auf die Erkrankung war, will ich 3 Fälle anführen, in denen dieselbe sich nicht so gut wirksam erwies, resp. in einem Falle ganz ausblieb. Es handelte sich in allen 3 Fällen um schwere Ruhrerkrankungen.

Zuletzt erwähne ich zum Vergleich einen mittelschweren Ruhrfall, der nur medikamentös beeinflusst wurde.

In einem weiteren Falle, in dem es sich um die durch Kontaktinfektion erfolgte Erkrankung eines 62 Jahre alten Pfründners handelte, trat nach der prophylaktischen Seruminjektion, die etwa 2¹/₂ Wochen vor dem Krankheitsbeginn gemacht wurde, am 8. Tage ein stark juckendes, handbreites Erythem von gleichmäßiger Rötung auf mit geringer Temperatursteigerung, das nach etwa 2 Tagen verschwand. Während der Erkrankung schien eine neue Seruminjektion erforderlich, die in einer Quantität von 10 ccm subkutan gemacht wurde. Am folgenden Tage trat dann ein kolossales Erythem, von der Injektionsstelle ausgehend, auf, breitete sich rund um den ganzen Oberarm und die Schulter aus, die Haut darüber fühlte sich sehr warm an. Die Temperatur am Morgen nach der Seruminjektion betrug 39,7° C, Puls ca. 110.

Es traten heftige Schmerzen bei Bewegungen des Armes und auf Druck auf. Außerdem war Spannungsgefühl, leichte Anschwellung zu konstatieren. Nach 3 Tagen war wieder normale Temperatur und Abblassung der Rötung. Abnahme der Schwellung eingetreten.

Auch bei mir selbst konstatierte ich nach einer subkutanen Injektion von 20 ccm Kruseschen Serums am 4. Tage eine mäßige, diffuse Rötung, die von der Injektionsstelle sich ausbreitete und mit geringem Juckgefühl, ohne Temperatursteigerung, verbunden war. Nach 48 Stunden war die Rötung fast verschwunden.

In dem vorhin angeführten Fall einer Reinjektion des Heilserums

erkennen wir unschwer das typische Bild einer „Serumkrankheit“. Hierunter verstehen wir bekanntlich die meist nach 7–12 Tagen auf die Injektion artfremden Serums bei einzelnen Individuen auftretenden lokalen Symptome an der Injektionsstelle, wie Rötung, Schwellung, Hitze- und Spannungsgefühl, denen sich bei stärkerer Affektion des Organismus noch Allgemeinerscheinungen wie Fieber, Kopfschmerzen, Mattigkeit, Drüenschwellungen zugesellen können. Die zweite Injektion erfolgte in diesem Falle $3\frac{1}{2}$ Wochen nach der ersten Einspritzung; die Symptome nach der ersten Injektion waren bereits abgeklungen. In diesem Falle trat also auf die Reinjektion von Kruseschem Heilserum ein heftiger, fieberhafter Allgemeinzustand mit sehr unangenehmen Lokalsymptomen auf, wie wir ähnliche Erscheinungen nach Reinjektionen bei Diphtheriekranken zuweilen beobachten.

Fall 8. Frieda J., 9 Jahre. Krankheitsbeginn am 9. VIII. Aufnahme ins Spital am 11. VIII.

Anamnese: Plötzlich auftretende Leibschmerzen mit häufigen Durchfällen. Erst am 2. Krankheitstage Blut in den schleimigen Entleerungen bemerkt. In 24 Stunden etwa 30–40 Stühle. Intensivster Stuhlzwang, Kollern im Leib. Uebelkeit, kein Erbrechen. Schmerzen im Anus. Appetitlosigkeit.

Status praesens: Guter Ernährungszustand, blasse Gesichtsfarbe. Organe intakt. Urin ohne Besonderheiten. Zunge belegt. Abdomen eingezogen, auf Druck diffus schmerzhaft, besonders im linken Hypochondrium. Keine Resistenzen fühlbar, keine abnormen Schallverhältnisse. Temp. $36,2^{\circ}$ C; Puls etwa 140. Stuhl dysenterisch; enthält Ruhrbacillen. Mäßige Hyperleukocytose. Widal am 4. Krankheitsstage in einer Verdünnung von 1:100 positiv.

Seruminjektion am 11. VIII. (20 ccm).

12. VIII. 25 Entleerungen; typisch dysenterischer Natur. Befinden sehr schlecht. Kampfer 2-stündlich, 2 l Kochsalz infundiert.

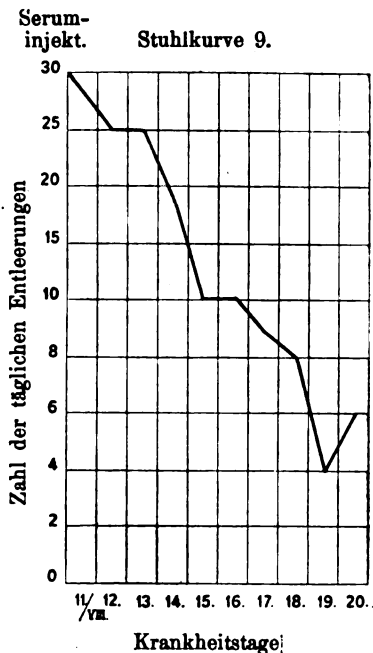
13. VIII. 25mal Stuhlgang innerhalb 24 Stunden. Temperatur auf $38,1^{\circ}$ C gestiegen. Stuhl schon fäkulent riechend, aber rötlich, flüssig. Es besteht Incontinentia alvi. Beschwerden etwas geringer.

14. VIII. 18 Entleerungen. Schon festerer Stuhl unter den flüssigen Entleerungen. Noch viel Schleim, weniger Blut, Zunge noch stark belegt, Abdomen noch stark schmerzhaft.

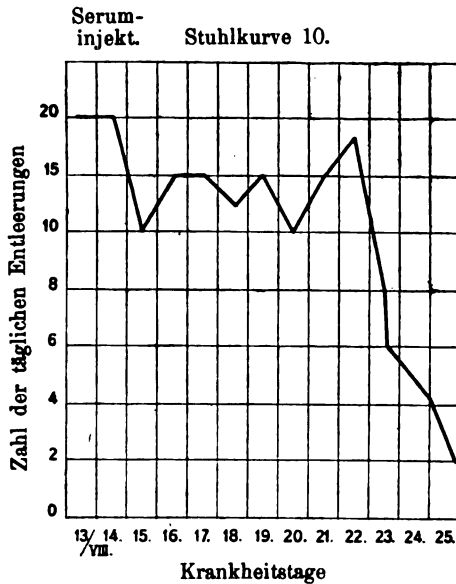
15. VIII. 10 Entleerungen. Drang geringer. Keine Leibschmerzen. Noch Blut und Schleim.

Bis zum 27. VIII. noch täglich 7 bis 5 Stühle. Kein stärkerer Stuhlzwang mehr. Am 27. VIII. kein Blut mehr bemerkt. Befinden hat sich inzwischen immer mehr gehoben. Am 9. IX. Schleim aus den Stühlen verschwunden.

10. IX. Geheilt entlassen.



Fall 9. Frau R., Tagelöhnerin, 42 Jahre. Krankheitsbeginn am 8. VIII. Aufnahme ins Krankenhaus am 13. VIII.



Anamnese: Plötzlich mit heftigen Leibschmerzen erkrankt. Nach 12—18 Stunden starker Stuhldrang. Täglich 10—20 Stühle, Blut und viel Schleim enthaltend, spärliche Mengen. Leibschmerzen besonders in linker Seite lokalisiert. Am 3. Tage will Patientin etwa 50mal Stuhl gehabt haben. Kein Appetit, starkes Durstgefühl. Am 2. Krankheitstage Erbrechen. Sehr großes Schwächegefühl. Patientin ist im 6. Monat schwanger.

Status praesens: 13. VIII. Kräftiger Knochenbau, relativ guter Ernährungszustand.

Inneren Organe gesund. Abdomen diffus schmerzhaft. Zunge weißlich belegt. Stuhl enthält nur schleimigen Eiter, viel Blut (geplatzte Varicen?). Mäßige Hypoleukocytose. Im Stuhl werden Ruhrbacillen mikroskopisch erkannt. Im Urin Albumen; Diazo schwach positiv. Widal am 5. Krankheitstage in der Verdünnung 1:32 negativ; am 10. Krankheitstage 1:400 positiv. Temp. 37,2°; Puls etwa 96.

Seruminjektion am 13. VIII. (20 ccm).

13. VIII. 20 Entleerungen.

14. VIII. do.

Vom 15.—26. VIII. 10—5 Entleerungen pro die.

Am 26. VIII. Zum erstenmal kein Blut mehr im Stuhl. Am 18. VIII. keine Leibschmerzen, kein Stuhldrang mehr. Hungergefühl macht sich stärker bemerkbar. Das Schwächegefühl hielt bis zur Entlassung aus dem Spital an.

7. IX. Geheilt entlassen.

Fall 10. Gustav S., 4. Jahre. Krankheitsbeginn am 22. VII. Aufnahme ins Spital am 25. VII.

Anamnese: Erkrankte mit heftigen Leibschmerzen, profusen Durchfällen, im Stuhl Schleim und Blut. Kein Appetit, heftiger Durst. Soll früher nie an Darmkatarrhen gelitten haben und vor dieser Erkrankung nichts Verdächtiges genossen haben.

Status praesens: 25. VII. Graciler Knochenbau, heruntergekommener Ernährungszustand, blasse Hautfarbe. Inneren Organe gesund. Urin frei. Zunge stark weißlich belegt. Abdomen, besonders im linken Hypochondrium sehr druckempfindlich. Leib etwas aufgetrieben, Nabel verstrichen. Keine Schalldifferenzen, keine roten Flecke. Im Stuhl Dysenteriebacillen.

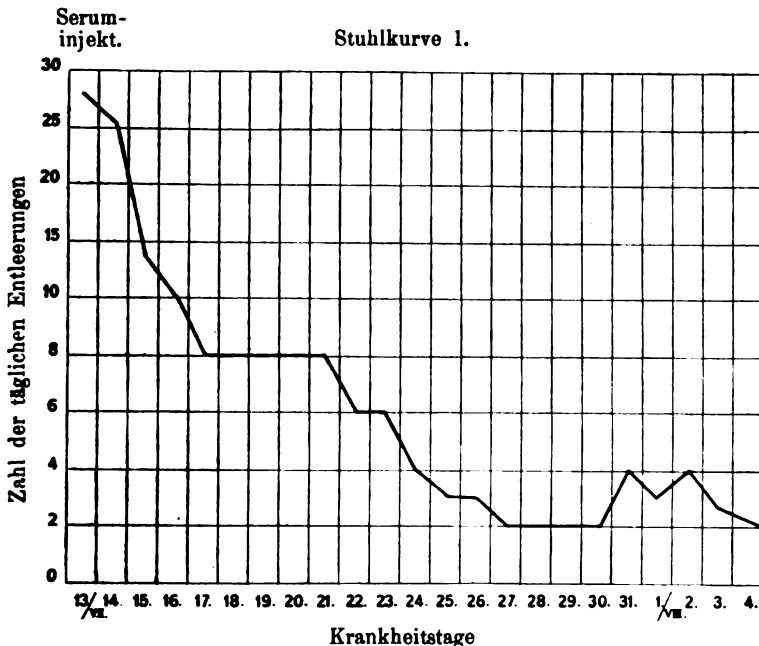
Seruminjektion am 28. VII. (10 ccm).

Nach der Injektion tritt 3 Tage lang kein Blut im Stuhl auf; jedoch herrschen noch schleimige Entleerungen, etwa 10 in 24 Stunden, vor. Direkt nach der Einspritzung Temperaturabfall von $37,7^{\circ}$ vor der Injektion (am 2. Tage vorher sogar $38,3^{\circ}$ C) auf $36,2^{\circ}$ C. Am 4. Tage nach der Injektion erscheint wieder Blut in den Entleerungen. Erst 14 Tage nach der Injektion tritt Besserung ein; nur 1—2mal Stuhl pro die; Blut und Schleim verschwindet; Zungenbelag beseitigt, stärkeres Hungergefühl stellte sich ein; die vorher äußerst quälenden Tenesmen lassen nach. 6 Tage nach der Einspritzung stark juckendes, diffuses Exanthem, das innerhalb 48 Stunden vollständig abgeblaßt ist.

23. VIII. Geheilt entlassen.

Fall 11. Luise St., 16 Jahre, Dienstmädchen. Krankheitsbeginn am 7. VII. 1905; Aufnahme ins Spital am 13. VII.

Anamnese: Erkrankte plötzlich mit intensiven Kopfschmerzen, Leibschneiden. Einige Stunden danach heftige Durchfälle, etwa 30—40 am Tage. Die Leibschmerzen hörten direkt nach der Defäkation auf, traten nur vor und während derselben auf. Schmerzen am Anus, Schleimhaut etwas prolabierte. Geringer Brechreiz, kein Appetit, heftiges Durstgefühl. Ist nicht mit Ruhrkranken in Kontakt gekommen.



Status praesens: Mittelkräftiger Bau, guter Ernährungszustand. Organe gesund. Urin frei. Zunge weißlich belegt. Abdomen in linken Partien schmerzempfindlich, nur wenig aufgetrieben. Temp. 37,1; Puls etwa 85. Im Stuhl Dysenteriebacillen. Widal am 10. Krankheitstage in einer Verdünnung von 1:330 positiv.

Therapie: Schleimsuppen, Eichelkakao, Knorr'sche Suppen. Kalomel 0,05 3mal. Flanellbinde.

Bis zum 24. VII. täglich 8—10 Entleerungen. Stets Blut den Schleimportionen beigemischt. Heftigster Stuhl drang. Quälende Leibscherzen. Völlige Appetit- und Schlaflosigkeit. Vom 25.—31. VII. tritt allmähliche Besserung ein; täglich 1—2 Entleerungen. Blut verschwindet aus den Faeces, die anfangen, geformt zu werden; Allgemeinbefinden besser.

Am 1. VIII. Rückfall. Blut tritt wieder auf; ca. 4—5 Stühle täglich, von neuem Leibscherzen.

Am 13. VIII. wird Patientin als gebessert entlassen.

Wir erhalten aus den hier angeführten Krankengeschichten ein klinisches Bild der bacillären Dysenterie, das fast in seinen Einzelheiten in jedem Fall stereotyp wiederkehrt.

Es muß zunächst jedoch hervorgehoben werden, daß in dem letzten Jahre, in dem sich mir die Gelegenheit bot, die Ruhr im Stadtkreis Barmen zu studieren, die Erkrankungen weit leichter verliefen, daß die leichteren und mittelschweren Fälle im Uebergewicht vorhanden waren und daß die Mortalitätsziffer sehr weit zurückgegangen war. Nur ein Todesfall, bei einem an schwerer Nephritis leidenden, dekrepiden Individuum, das zuletzt noch Ruhr erworben hatte, fiel unter den im Spital behandelten Ruhrkranken vor.

Das klinische Bild der Ruhr charakterisierte sich im wesentlichen in den Zügen: Die Krankheit befällt die Individuen meist plötzlich; nach kurzen Initialerscheinungen, die häufig nur 1 bis höchstens 2 Tage, bisweilen nur einige Stunden währen und die sich aus leichten Kopfschmerzen, Uebelkeit, Brechneigung, seltener Erbrechen, Mattigkeitsgefühl zusammensetzten, treten plötzlich heftige Leibscherzen auf, denen fast unmittelbar die heftigsten Diarrhöen folgen, die die Patienten unter Umständen durch ihre Frequenz zur Verzweiflung bringen können. Durchschnittlich beobachtete ich 20—30 Entleerungen pro die. Verbunden mit den Entleerungen ist ein äußerst quälender Stuhl drang, unter heftigsten Tenesmen erfolgt die Entleerung von wenig Schleim, der von Blutpünktchen und Blutstreifen durchsetzt ist. Die schleimig-eiterigen Partikelchen dieser Entleerungen enthalten gewöhnlich die Ruhrbacillen, plumpe, dicke Stäbchen, fast in Reinkultur.

Weitere Beschwerden sind intensiver Durst, gänzlicher Appetitmangel und starkes Schwächegefühl. Höhere Temperaturen beobachtete ich nur in äußerst seltenen Fällen; eher schien die relativ hohe Pulsfrequenz (100—120 Schläge in 1 Minute bei Erwachsenen, in vielen Fällen im Kontrast zu der relativ niedrigen Temperatur zu stehen (etwa durchschnittlich 36,2—36,5° C).

Shiga führte dagegen bei seinen Fällen japanischer Dysenterie höhere Temperaturkurven an, die durch die Seruminjektionen erfolgreich bekämpft werden konnten.

Außer den typischen Entleerungen ließen sich nur wenig objektive Symptome noch nachweisen: Meist ein stärkerer, grauweißlicher Zungenbelag, der bei kleinen Kindern oft bis zur Soorentwicklung führte, eine

stärkere Druckempfindlichkeit des Abdomens, die häufig besonders im linken Hypochondrium stark ausgeprägt war, seltener Auftreibung des Leibes. Eiweiß im Urin wurde nur in den allerseltensten Fällen gefunden. Meist kamen die Patienten bereits stärker abgemagert ins Spital, bisweilen mit tief eingesunkenem Abdomen, krampfhaft kontrahierten Bauchmuskeln und sehr anämischer Gesichtsfarbe.

Von Komplikationen wurden häufiger Conjunctividen, Gelenk- und Sehnenscheidenentzündungen, seltener akute Herzdilatationen, Oedeme ohne Eiweiß, Pleuritiden, beobachtet.

Bei einzelnen, schwerer erkrankten Personen blieb ein starkes Schwächegefühl noch wochenlang zurück.

Rein medikamentös wurde nur eine recht kleine Anzahl von Fällen behandelt; einen wesentlichen Nutzen dieser diätetisch-medikamentösen Maßnahmen, die sich auf Regelung der Kost, flüssige Diät, Calomel-, später Wismutgaben, beschränkten, habe ich nicht erkennen können.

Günstigere Erfolge wurden dagegen mit der spezifischen Behandlung durch Krusesches Heilserum erzielt. Von 17 Patienten, die injiziert wurden, trat in 12 Fällen eine direkte, günstige Beeinflussung des Erkrankungsprozesses auf, in 3 Fällen war der Effekt weniger deutlich zu konstatieren, und nur 2 Fälle ergaben ein relativ ungünstiges Resultat.

Nach der Seruminjektion pflegte im allgemeinen die Zahl der Entleerungen rapid zu sinken, damit trat große Euphorie ein, der Appetit besserte sich zusehends, die Tenesmen verschwanden. Häufig verschwand auch das Blut aus den ersten Stühlen gleich nach der Einspritzung, während die Schleimabsonderungen meist noch tage- bis wochenlang anhielten.

Der Verlauf der Erkrankung wurde ferner wesentlich im Vergleich zu der Heilungsdauer der medikamentös behandelten Individuen abgekürzt.

Fast in der Hälfte der Fälle trat an der Injektionsstelle ein meist handteller großes Exanthem auf; über stärkere Beschwerden als mäßiger Juckreiz wurde von den Befallenen nicht geklagt.

In der Kruseschen Veröffentlichung vom Jahre 1903 über die Blutserumtherapie bei der Dysenterie, erwähnt Kruse etwa 100 Kranke, die bisher mit seinem Serum behandelt wurden. Nach dieser Statistik starben 8 Proz. der behandelten Individuen, während 10—11 Proz. Mortalität sonst die regelmäßige Sterblichkeitsziffer in den von Kruse zitierten Ruhrepidemien war. Von diesen 8 Proz. waren jedoch 2 Personen, die bereits kollabiert ins Spital eingeliefert wurden, und ein Fall, der mit schwerer Phthise kompliziert war, auszuschließen. Wurden die der Privatpraxis zugehörenden Fälle ausgeschieden, so bleiben etwa 80 Kranke, die in Krankenhäusern injiziert wurden. Von diesen starben nur 4, also 5 Proz. 19 von diesen Erkrankten standen im Alter von unter 10 Jahren, und von diesen starb nur einer. Während die Ruhsterblichkeit in diesem Alter sonst etwa 15—20 Proz. betrug, wäre sie nach diesen Beobachtungen auf 5 Proz. herabgesetzt, ein günstiger Einfluß war also unverkennbar.

Kruse legte ebenfalls das Hauptgewicht der Beobachtung auf die Stuhlkurven nach erfolgter Einspritzung, da auch in den von ihm zitierten Fällen Temperatursteigerungen selten zu Gesicht kamen.

Abortive Ruhrfälle nach Seruminjektionen kamen häufiger vor; bisweilen pflegten jedoch in mittelschweren Fällen noch kleinere Erhebungen

in den Stuhlkurven aufzutreten oder die Kurven selbst langsamer abzufallen. Bei den medikamentös behandelten Fällen war jedenfalls nur ein recht langsames Abfallen der Zahl der Entleerungen zu konstatieren. Aus den Kruseschen Beobachtungen ging weiter hervor, daß der unverkennbare, günstige Einfluß der Seruminjektionen sich in der Milderung der allgemeinen Symptome, der Abnahme der Zahl der Stühle, dem Verschwinden des Blutes, in der Abkürzung der Dauer der Erkrankung und der Rekonvaleszenz deutlich aussprach.

Kruse legt, was wir vollauf bestätigen, auf eine frühzeitige Einspritzung das Hauptgewicht; je frischer die Fälle zur Behandlung kommen, desto bessere Erfolge sind zu konstatieren. Leider werden jedoch häufiger protrahierte Fälle in die Spitäler eingeliefert, da die Kranken einmal während der ersten Tage dieses „Darmkatarrhs“ zu sorglos sind, andererseits die Krankenhausbehandlung scheuen.

Eine prophylaktische Anwendung des Serums scheint mir nach meinen Beobachtungen weniger angebracht. Das in den Gewebsflüssigkeiten kreisende, passiv übertragene bakterizide Serum verschwindet im allgemeinen rasch nach der Injektion, nach meinen Erfahrungen kann trotz der Seruminjektionen nach 2—4 Wochen eine Infektion mit Ruhrbacillen eintreten.

Fassen wir unsere Resultate zusammen: Die Injektion von lebenden und abgetöteten Dysenteriebakterien vermag eine stärkere Produktion von spezifischen Schutzstoffen hervorzubringen, und zwar scheinen nach meinen Versuchen im allgemeinen keine erheblicheren Differenzen zwischen der Einverleibung lebender und abgetöteter Kulturen in Bezug auf ihre immunitätsauslösende Kraft im Organismus zu bestehen, nur daß bei Verwendung abgetöteten Kulturmaterials höhere Dosen angezeigt wären.

Die Reaktion auf die Injektion lebender wie abgetöteter Bouillonkulturen oder Agarauflschwemmungen in mittelgroßen Dosen ist eine relativ starke; sie tritt nach direkter Einführung des bacillenhaltigen Materials ins Blut fast sofort, bei subkutaner Einverleibung frühestens nach 2—5 Stunden auf. Von örtlichen Symptomen konnten außer seltenen Nekrotisierungen und Eiterungen an der Injektionsstelle keine weiteren Beobachtungen verzeichnet werden; der Eiter erwies sich in allen Fällen als steril. Die Temperatursteigerungen resp. Temperatursenkungen bei Messungen in kürzester Frist nach den Einspritzungen waren nach größeren Dosen meist sehr stark, bei mittleren oder kleineren Dosen traten nur unerhebliche Schwankungen auf. Die Leukocytenzahlwerte äußerten sich zunächst in einer starken Hypoleukocytose in den ersten Stunden nach der Einverleibung der Kulturen, auf die Herabsetzung der Leukocytenzahlen folgte eine enorme Hyperleukocytose, bis im Verlauf von 2—5 Tagen sich die Rückkehr zur Norm allmählich wieder einstellte.

Bei wiederholten Injektionen traten Aenderungen in den Leukocytenwerten weniger in Erscheinung, nur kurzdauernde Schwankungen wurden konstatiert, offenbar hatten die bereits sezernierten Schutzstoffe die Funktion der Leukocyten übernommen.

Das Körpergewicht der Tiere erfuhr nach Einverleibung größerer Dosen eine stärkere Abnahme (durchschnittlich um 150—300 g), bei kleinen Dosen wurden lediglich, soweit überhaupt eine Abschätzung bei regelmäßigen Fütterungen möglich war, geringe Schwankungen konstatiert.

Bei weitem bedeutsamer erschien die Prüfung der Blutproben auf

agglutinierende und bakteriolytische Eigenschaften. Die höchsten Agglutinationswerte (bis zur Verdünnung 1:1000) wurden bei Kaninchen nach Injektionen kleiner bis mittelstarker Dosen ($\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{20}$ Oese) erreicht, der bakterizide Titre war relativ gering ausgeprägt; mit einer durchschnittlichen Verdünnung des Immunserrums von 1:50 bis 1:100 gelang es, Meerschweinchen von 250 g Gewicht vor dem Exitus bei gleichzeitiger subkutaner Infektion mit $\frac{1}{4}$ Oese zu retten. Die Virulenz schien für die immunitätsauslösende Kraft eine mehr untergeordnete Rolle zu spielen. Die Kulturmenge war ebenso nur von geringem Einfluß auf die Auslösung von Antikörpern; doch pflegten ganz allgemein größere Mengen häufiger auch höhere Schutzwerte hervorzubringen.

Die Neisser-Shiga'sche Methode der Impfung ergab bezüglich der Allgemeinreaktion keine genauer differenzierbaren Modifikationen; der Agglutinationswert des Serums der Tiere, die mit den freien Rezeptoren der Dysenteriebacillen behandelt waren, war im Durchschnitt geringer wie bei der Behandlung mit intakten Bakterienleibern (Maximalwert 1:200), der bakterizide Titre schwankte in einer Verdünnung von 1:50 bis 1:100. Die mit Löfflerschem Impfpulver behandelten Tiere ergaben ungefähr gleich gute Resultate; Agglutinationswerte von 1:100 bis höchstens 1:200, bakterizide Schutzwerte in einer Verdünnung von 1:100 waren ebenfalls zu beobachten.

Endlich ergaben die mit nach Wassermanns Methode hergestelltem Impfpulver behandelten Tiere ähnliche Schutzwerte und ein um ein geringes gesteigertes Agglutinationsvermögen.

Letzteres betrug im Maximum 1:400 bis 1:500; der bakterizide Titre variierte zwischen 1:50 bis höchstens 1:200. Die Zahl der mit diesen beiden in jüngster Zeit hergestellten Impfpulvern behandelten Tiere ist jedoch noch eine zu geringe, um abschließende Urteile zuzulassen; jedenfalls scheint das Wassermannsche Impfpulver die besten Resultate vorerst zu ergeben.

Die Erfolge mit Impfungen bei Menschen, welche mit solchen gut dosierbaren und haltbaren Impfpulvern bei aktiven Immunisierungen gegen Typhus angestellt wurden, berechtigen zu der Hoffnung, hiermit Impfungen an Menschen gegen die bacilläre Dysenterie anzustellen.

Die spärlichen Mitteilungen über Impffexperimente am Menschen mit Ruhrkulturen, die von Kruse mittelst Bouillonkulturen, von Shiga mittelst Agarauflschwemmungen versucht wurden, ergaben, daß solche Impfungen für den Menschen vorläufig nicht weiter in Betracht zu ziehen sind.

Die von den Impfungen selbst geschilderten lokalen wie allgemeinen Reaktionserscheinungen sind zu schwerer Natur, als daß eine Wiederholung solcher Impfungen sich unschwer ermöglichen ließe. Hier erscheinen Versuche mit den scheinbar leichter resorbierbaren Impfpulvern am Platze, über die ich noch zu berichten hoffe.

Die Reaktionserscheinungen nach den aktiven Immunisierungen überhaupt ganz auszuschalten, erscheint vor der Hand nicht möglich; eine Herabsetzung der lokalen wie allgemeinen Symptome ist jedoch nach den Versuchen, die in letzter Zeit mit verschiedenen Methoden der Typhusimmunisierungen ausprobiert wurden, möglich. Schon im Interesse der Gewinnung eines möglichst maximalen Schutzwertes scheint die Intensität der Reaktion eine gewisse Rolle zu spielen, indem auf stärkere Reaktionserscheinungen öfter auch ein höherer Schutzgrad sich einzustellen pflegt.

Aktive Immunisierungen würden ganz besonders in den Fällen in Frage kommen, wo hygienische oder prophylaktische Maßnahmen versagen müssen, vornehmlich in Kriegszeiten. Auch würden Impfungen der Aerzte und des Wärterpersonals in durch Ruhr verseuchten Gegenden angebracht sein. Bei ausgedehnteren Epidemien endlich können aktive Immunisierungen zweifellos großen Nutzen bringen. So hat Shiga in den Jahren 1898—1900 etwa 10 000 Japaner in den Gegenden, in denen die Ruhr in Japan besonders heftig grassierte, aktiv immunisiert und will bei seinen Impfungen eine recht beträchtliche Herabsetzung der Mortalitätsziffer, die in manchen Gegenden von 40—30 Proz. auf 0 Proz. zurückging, gefunden haben. Shiga injizierte zunächst hochwertiges Immunerum gleichzeitig mit vorsichtig abgetöteten, zerriebenen Agarkulturen (etwa $\frac{1}{2}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur), nach 3 bis 4 Tagen etwa die doppelte Dosis der ebenso zubereiteten Kultur ohne Serumzusatz. Nach etwa 20 Tagen konstatierte er im Blutserum zweier so behandelten Individuen noch deutlich vorhandene Schutzstoffe, die nach 30 Tagen noch andeutungsweise nachweisbar waren. Jedoch kam er zu dem Endresultat, daß der Impfschutz mit Hinsicht auf die Morbidität kein besonders ausgesprochener war, da auch geimpfte Individuen noch nachträglich mit Ruhr häufiger infiziert wurden. Es scheint nach diesen Ergebnissen, daß der Impfschutz bei Verwendung der Simultanmethode nur für wenige Wochen dauernd ist, so daß Shiga sich mit der therapeutischen wie prophylaktischen Anwendung der passiven Immunisierung begnügen zu können glaubt.

Die Erfolge, die ich mittelst passiver Immunisierungen mit dem Kruseschen bakteriziden Serum bei Ruhrkranken erzielte, entsprechen den Erwartungen, die nach den spärlichen bisherigen Versuchen ausgesprochen wurden. Eine Anwendung dieses spezifischen Heilmittels bei bacillären Ruhrepidemien kann nach meinen Resultaten nur beantwortet werden.

Literatur.

- 1) Shiga, Ueber den Dysenteriebacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1898. No. 22/24.)
- 2) Kruse, Weitere Untersuchungen über die Ruhr und die Ruhrbacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 23/24.)
- 3) Shiga, Ueber Versuche zur Schutzimpfung gegen Ruhr. (Deutsche med. Wochenschrift. 1903. No. 18.)
- 4) Zeitlin, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1905. No. 1/3.
- 5) Rosenthal, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1905. No. 1/3.
- 6) P. Th. Müller, Ueber den bakteriologischen Befund bei einer Dysenterieepidemie in Süddeiemark. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902. Heft 12.)
- 7) Dombrowski, Zur Biologie der Ruhrbacillen. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVII. Heft 3.)
- 8) Dörr, Beitrag zum Studium des Dysenteriebacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. Heft 5.)
- 9) Martini u. Lentz, Die Differenzierung der Ruhrbacillen mittelst der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLI. 1902. Heft 2.)
- 10) Neisser u. Shiga, Ueber freie Rezeptoren von Typhus- und Dysenteriebacillen und über das Dysenterietoxin. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.)
- 11) Conradi, Ueber lösliche, durch aseptische Autolyse erhaltene Giftstoffe von Ruhr- und Typhusbacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 2.)
- 12) Wassermann, Experimentelle Beiträge zur Frage der aktiven Immunisierung des Menschen. Festschrift für Rob. Koch. Jena (Fischer) 1903.
- 13) Löffler, Ueber ein neues Verfahren zur Gewinnung von Antikörpern. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 52.)
- 14) Besredka, L'immunisation active contre la peste, le choléra et l'infection typique. (Annal. de l'Inst. Past. 1902. p. 918.)
- 15) v. Dungern, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 20.

- 16) Sachs, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901. No. 13.
- 17) Neisser u. Lubowski, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901. No. 13.
- 18) Pfeiffer u. Friedberger, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 25.
- 19) Shiga, Weitere Studien über den Dysenteriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLI. Heft 3.)
- 20) Goy, Vaccination and serum therapie against the bacillus of dysentery. (Pennsylvania med. bull. 1902.)
- 21) Lentz, Immunität bei Ruhr. (Handbuch der pathog. Mikroorg. von Kolle-Wassermann. Bd. IV. Teil 2.)
- 22) Neisser u. Wechsberg, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 37.
- 23) Kruse, Die Blutserumtherapie bei der Dysenterie. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 1.)
- 24) Shiga, Studien über die epidemische Dysenterie in Japan, mit besonderer Berücksichtigung des Bacillus dysenteriae. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 43/45.)
- 25) Mason, Bacillary dysentery (Shiga). (Journ. of the americ. med. assoc. 1903.)
- 26) Rosenthal, Ueber Serotherapie der Dysenterie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1904. Heft 16/17.)
- 27) Gabritschewski, Ueber die Technik der Immunisierung von Pferden gegen Dysenterie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1904. Heft 16/17.)
- 28) Celli, Ueber die Aetiologie der Dysenterie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. No. 9/10 und Bd. XXV. 1899.)
- 29) Valagussa, Aetiologie und Serumtherapie der Kinderysenterie. (Annali d'igiene sperimentale. Vol. X. 1900. No. 4.)

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.

(Schluß.)

Morphologie der gezüchteten Stäbchen.

Eine weitere Aehnlichkeit mit den Corynebakterien geht aus folgenden Angaben der Morphologie der künstlich gezüchteten Stäbchen hervor, zum Teil verglichen mit gleichaltrigen Kulturen echter Diphtheriestäbchen, gezüchtet auf denselben Nährböden. Diese Aehnlichkeit des Pyelonephritisstäbchens ist schon J. Bongert in Eiteraufstrichen aufgefallen, ohne daß B. aber der Frage näher trat, welche Stellung das Enderlen-Höflische Stäbchen zum Corynebacterium „Loeffler“ einnimmt.

Schiefes Agar: Kultur 4 Tage alt: Schlanke, geknickte Stäbchen mit schwachen Endverdickungen, zarter Polfärbung; dazwischen gleichmäßig tingierte, dicker erscheinende Formen. 2—3 μ .

Nach 7 Tagen: Gekrümmte und geknickte, meist homogen tingible Formen in parallel gelagerten Haufen, etwas länger wie vorher.

11 Tage: Kurze, bis 2 μ lange unregelmäßige Stäbchen fast in Coli-Form. Schwache Polfärbung.

Agarstich: Nach 4 Tagen: Kleine, zarte 1,5—2,5 μ lange, gleichmäßig färbbare, lanzettliche Stäbchen.

9 Tage: Ebenso, lanzettlich.

Gleichaltrige Diphtheriekulturen zeigten das rasche Auftreten von blasigen Auftreibungen, Eiweißflüchen, paraplastischen Einschlüssen, Kolbenbildung. Die Gebilde waren durchweg größer und klobiger wie die B. renales.

Glycerinagar: 6 Tage alt. Mehr längere Stäbchenformen, mehr Auftreibungen und Keulen wie auf Agar.

Harnagar: 5 Tage. Bis $5\ \mu$ lange gekrümmte Stäbchen in Haufen mit Endanschwellungen, homogen färbbar.

10 Tage. Schlanke, kleine, selten in der Mitte gequollene Formen. Polkörperchen und Kolbenbildung wenig.

Bouillon: 2 Tage: Kleine, ovale oder lanzettliche Stäbchen, Zentrum stärker gefärbt wie die Enden.

3 Tage: Gekrümmte Stäbchen mit zarten kolbigen und kugeligen Auftreibungen; Protoplasmaeinschlüsse.

6 Tage: ebenso.

Diphtherie 6 Tage kurze lanzettliche Stäbchen und streptokokkenähnlich färbare Stäbchenverbände.

Glycerinbouillon: Nach 4 Tagen: Geknickte und gegliederte Stäbchen und Stäbchenverbände wurzelartig verflochten mit klobigen Endanschwellungen oder in aktinomycesähnlichen Drusen vereinigt (Fig. 13).



Fig. 13.



Fig. 14.

Fig. 13. *Corynebacterium renalis* aus 4-tägiger Glycerinbouillon (Gram). 1×1200 . (Phot.)

Fig. 14. 8-tägige Serumbouillon (Pferdeserum). Keulen, Verzweigungen, Protoplasma differenzierung, verdünntes wässriges Fuchsin. 1×1200 . (Phot.)

Serumbouillon, Pyelonephritis: 6 Tage alt. Kurze, gleichmäßig tingible bis $2\frac{1}{2}$, und $3\ \mu$ lange Stäbchen.

8 Tage. Verzweigungen und Endkolben treten auf, Felderung des Protoplasmas (Fig. 14).

Diphtheriebacillen: 6 Tage: Kurze, plumpe Stäbchen mit Polkugeln, auch keulige Endaufreibungen.

Nach 8 Tagen: Schlanke, bis $3\ \mu$ lange Stäbchen, Stäbchenketten mit Knickungen und kolbigen Endanschwellungen.

Flüssiges Blutserum (bei 56° sterilisiert). Pyelonephritis: 3 Tage alt: Schlanke, gekrümmte Stäbchen, oft mit Endanschwellungen; homogen färbbar.

Diphtheriebacillen: 3 Tage alt: Lanzettliche, gekrümmte, besonders zentral gefärbte Stäbchen oder gequollene coliähnliche Formen mit Polfärbung.

Kalkbouillon: Pyelonephritis, 10 Tage alt: Kleine, lanzettliche $1\frac{1}{2}$ – $2\ \mu$ lange Stäbchen, wenig blasige Kugeln.

15 Tage: 1 – $3\ \mu$ Durchmesser besitzende blasige Kugeln mit 1 – 2 feinen Chromatinkörnchen.

Diphtherie, 10 Tage: Bis $2\ \mu$ lange, gefelderte Stäbchen. 15 Tage: $\frac{1}{2}$, μ dicke, bis $2\frac{1}{2}$, μ lange, gefelderte Stäbchen mit häufigen Endkolben.

Loefflers Serum: Pyelonephritis, 5 Tage alt: Gekrümmte, kleine Stäbchen mit tiefdunkel gefärbtem Protoplasma, wenige freie kugelige Formen, lanzettliche Stäbchen, gefelderte Verbände.

Diphtheriebacillen, 5 Tage alt: Stäbchen mit Protoplasmazerklüftung, Kolbenauf-treibung, blasige Kugeln, schwachgefärbt mit Chromatinkörpern.

Gewöhnliches Blutserum: Pyelonephritis, 6 Tage alt: Verzweigte klobige Formen, Keulen, und Knospen, bis $10\ \mu$ lange Fadengebilde, schwache Polfärbung.

Nutroseserum: Pyelonephritis, 4 Tage alt: Ovale, lanzettliche, sehr kurze Stäbchen ohne Chromatinkörper, in Haufen geordnet, mit wenigen kugeligen Endaus-schwellungen, selten Hohlkörnern.

Diphtheriebacillen nur etwas größer, sonst gleich. Nach 9 Tagen bei beiden noch dieselben Formen.

Aus den Ergebnissen der Kulturaufstriche läßt sich zusammen-fassen, daß morphologische Unterschiede zwischen Diphtheriebacillen und dem *B. renalis* nur insofern bestehen, daß die Erreger der Diphtherie oder besser des von mir zum Vergleiche benutzten Stammes im allge-meinen etwas größer und klobiger wachsen wie die *B. renales*. Babes Ernstsche Körperchen und andere isoliert färbbare Protoplasmateilchen treten bei *D.* früher und zahlreicher auf, jedoch sind diese Unter-schiede nur gering; wenn es auch im Vergleiche stets gelungen ist, Unterschiede zu finden, so ist es bei Vorlage des einen oder anderen Aufstriches unbekannter Herkunft (Nährboden), und Alters kaum möglich, für Diphtherie oder „Pyelo-nephritisbacillus“ sich zu entscheiden.

Ueber die Morphologie der Kulturen des *B. renalis* lassen sich folgende Merkmale angeben (nicht regelmäßig eintretend):

Keilförmige, lanzettliche und cylindrische Formen wachsen besonders auf schieferm Agar, Serum, Bouillon, Loefflers Serum, Serumbouillon, Nutroseserum, Milch.

Glycerinzusatz zu Nährboden begünstigt die Kolbenbildung und das Auftreten von Protoplasma differenzierung, wie auch in alten Kulturen ohne Glycerin geschwellte, klobige Formen und Eiweißeinschlüsse etc. nachzuweisen sind, während 1—2—3 Tage alte Kulturen meist homogen tingible Bacillen in Stäbchenform enthalten. Es variieren jedoch bei Nährböden, die nach einem Rezept hergestellt sind, unter denselben Wachstumsbedingungen die Wuchsfor-men ganz bedeutend, ohne daß ein bestimmter Grund zu ersehen wäre, wie ja bekannt ist, daß geringe Aenderungen des Nährbodens oder anderer Bedingungen, Temperatur z. B., erhebliche Unterschiede in Wuchsformen wie bei anderen, so noch viel mehr bei einem so pleo-morphen Bakterium hervorbringen.

Das Wachstum hat den Höhepunkt erreicht am 6.—8. Tage und sistiert dann scheinbar vollständig.

Temperaturoptimum liegt bei 37° . Schon bei 30 — 35° ist das Ge-deihen erheblich verlangsamt.

Bei Zimmertemperatur gehen Kolonien gewöhnlich nicht an; nur selten, und dann stets langsam entwickelt sich die Kolonie bei 17 — 18° .

Während echte Diphtheriestämme Traubenzucker- und Glycerinbouillon unter Säurebildung vergären (1; 16), ist es mir bei den aus Pyelonephritis des Rindes gezüchteten Corynebakte-rien unmöglich gewesen, Säurebildung nachzuweisen (es wurde allerdings nur Lackmusreaktion benutzt, vergl. auch 16).

Der Nachweis von Indol gelang mir nicht, auch nicht in alten Kulturen.

Um die Altersresistenz der Bakterien zu prüfen, legte ich periodisch nach 1, 2—9 Monaten Tochterkulturen an. Dabei zeigte es sich, daß die Bakterien von gewöhnlichem Nähragar (im Dunkeln aufbewahrt bei Zimmertemperatur) nach 2 Monaten sich noch abzüchten ließen, ohne von ihrer Wachstumsenergie etwas eingebüßt zu haben. Aus Bouillon glückte dies noch nach 3 Monaten, im 4. nur selten. Serum erhöht das mögliche Lebensalter der Bacillen nicht. Am längsten hielten sich die Mikroorganismen im Harnagar, von dem sie sich noch nach 8 Monaten, nachdem die Nährböden fast vertrocknet waren, durch einfaches Uebertragen auf frisches Agar fortzüchten ließen.

Durch längeres Ueberzüchten wurden unsere Stämme keineswegs geschwächt; es war möglich, die Bakterien in voller Lebensfrische bis jetzt in der 22. Generation fortzuzüchten (vergl. 15, p. 143 ff.; 8, p. 812; 10; 5).

Ein Haupterfordernis für das *Corynebacterium renalis bovis* ist der Sauerstoff. Bei Sauerstoffmangel ist das Wachstum nur äußerst schwach, oder es sistiert meist ganz (s. dagegen 10, p. 17).

Alle Stämme erwiesen sich als unbeweglich (s. auch frühere Arbeiten). Geißeln konnte ich nicht nachweisen.

Pathogenität.

Um über die Pathogenität des Bakteriums Klarheit zu bekommen, habe ich im Verlaufe eines Jahres Versuche angestellt, die im wesentlichen gleiche Resultate lieferten wie die Experimente früherer Autoren.

Enderlen (5) und Höflich (10, p. 355) hatten versucht, durch Injektion von Kulturmaterial in die Blase von Kühen die Krankheit zu erzeugen, aber ohne Erfolg. Auch intravenöse Impfung wurde von 2 Rindern ohne jede Schädigung vertragen (5; 10). Künne-mann (15) brachte das Virus intracystös (100 ccm) zur Anwendung, er konnte nur 3 Tage Stäbchen im Harn nachweisen, auch seine Versuche intravenöser Verimpfung waren ohne Erfolg. Subkutane Einverleibung hatte in 2 Fällen Absceßbildung zur Folge, während andere Versuche derselben Art ergebnislos blieben, so daß der Autor zu dem Schlusse kommt, daß zwar die Aetiologie unserer Krankheit noch nicht klaggestellt ist, aber daß kaum noch in Zweifel gestellt werden kann, daß die fraglichen Stäbchen eine besondere Rolle in der Entwicklung der Krankheit spielen. Diese Fehlversuche, dem Stäbchen seinen Platz unter den Krankheitserregern zu festigen, brachten Liénaux und Zwaenepoel (17) auf den Gedanken, die Rinder besonders zu disponieren, nachdem Enderlen am Kaninchen schon gezeigt hatte, daß Einbringen des Bacillus in die Blutbahn bei gleichzeitiger Unterbindung eines Ureters einen der Pyelonephritis gleichenden Prozeß an der gestauten Niere hervorbrachte (p. 337). L. und Z. verursachten eine künstliche Scheidenwunde, wie sie ja häufig bei Geburten vorkommen, und brachten den Bacillus ein. Es entstand ein bald vernarbender Absceß. In einem zweiten Falle erzeugten sie Anätzung der Blase durch 50-proz. Ammoniaklösung und ließen dann 5 ccm Kultur einlaufen. Die Kuh war trächtig. Abortus trat ein, Metritis war die Folge, bei der Sektion fand sich Cystitis und typische Pyelonephritis.

Hier dürfte wohl die Metritis die Ursache der sekundären Pyelonephritis gewesen sein.

Nach mündlichen Mitteilungen von Herrn Kollegen Z. gelang es des weiteren niemals, auch wenn die Nieren durch Kantharidinwirkung vorbereitet waren, durch Kultureinlauf in die Blase Pyelonephritis zu erzeugen (s. auch Schluß seiner Arbeit).

Die Mißerfolge aller Versuche mußten zu der Annahme führen, daß besondere Momente, Trächtigkeit und folgende Harnstauung (Enderlen) oder dieselben Ursachen, die zur Bildung einer Hydro-nephrose führen (L. und Zw.), dem Bacillus Gelegenheit bieten, seine deletären Wirkungen entfalten zu können.

Auch kleine Tiere verhielten sich gewöhnlich refraktär. Kitt (c. nach 8) erzeugte durch Verimpfen in die vordere Augenkammer beim Kaninchen eine bald heilende Iritis. Subkutanes Einbringen hatte bei Meerschweinchen, Kaninchen und Mäusen keinen Erfolg (Künne mann), höchstens einige Male Schwellung bei Meerschweinchen und Kaninchen oder es entstand selten Absceßbildung (Enderlen). Intravenöse Einverleibung hatte bei normalen Kaninchen kein Resultat, selbst intraperitoneale und intrapulmonale Verimpfung beim Meerschweinchen schlugen fehl (Enderlen, Künne mann). Auch die Varietät, die Masselin und Porcher züchteten, ein „Kokkobacillus“, der bei Zimmertemperatur Gelatine verflüssigte, erwies sich bei Hühnern Kaninchen und Meerschweinchen refraktär.

Jedenfalls erscheint nach dem Ergebnis angeführter Arbeiten die Pathogenität des Bacillus stark in Zweifel gesetzt, und dies veranlaßte mich, mit den im hiesigen Laboratorium gezüchteten Stämmen neue Versuche anzustellen.

I. Bei kleineren Versuchstieren.

a) Kaninchen.

1) 17. Febr. 1904. Ein ausgewachsenes Kaninchen erhält 5 ccm einer 4-tägigen Agarkultur intravenös. Tot den 25. Febr. 1904. Eitrig käsige Pneumonie. Untersuchung ergibt Tuberkulose.

2) 11. März 1904. Einem ausgewachsenen Kaninchen werden 5 ccm 4-tägiger Agarkultur als Emulsion intravenös eingebracht. Nach zwei Monaten wird das Tier getötet, nachdem keinerlei Veränderungen aufgetreten waren. Die Sektion ergab keinerlei Resultat.

3) 28. März 1904. Impfung mit 2½ ccm 6-tägiger Bouillonkultur in eine Ohrvene. Nachdem erhebliches Abmagern konstatiert wurde, wurde das Tier den 6. April 1904 getötet. Sektionsresultat: miliare und lobäre Tuberkulose der Lunge.

4) Ein junger, 5 Tage alter Stallhase bekommt 1 ccm Emulsion 4-tägiger Agarkultur in die Blutbahn. Ohne jeden Erfolg.

5) Ein zweiter 6 Tage alter wird mit 2 ccm des anderen Stammes geimpft (4-tägige Agarkultur). Sektion nach Tötung, nachdem seit Impfung 4 Wochen verfloßen sind, ergibt vollständig negativen Befund.

6) 18. März 1904. 5 ccm 3-tägiger Glycerinbouillonkultur einem Kaninchen intraperitoneal eingespritzt. Getötet 18. April 1904. Keinerlei Veränderungen am Bauchfell oder in anderen Organen deuten auf Infektion.

7) Ein ganz junges Tierchen, 6 Tage alt, erhält 2 ccm 4-tägiger Agarkultur in die Bauchhöhle. Auch hier ist die Sektion des getöteten Tieres vollständig resultatlos, wie auch

8) die subkutane Verimpfung des Materials bei einem 6-tägigen Tierchen außer harter, nicht schmerzhafter Infiltration in der Ausdehnung eines 1 Markstückes, die bis zum zweiten Tag anhält, um dann abzuschwinden, keinerlei Erfolg zeitigt. Das Kaninchen blieb gesund.

9) Auch die intramuskuläre Infektionsweise wurde mit 5 ccm 6-tägiger Agarkulturaufschwemmung versucht. Das Kaninchen, ein ausgewachsenes, hinkt am ersten Tag nach Impfung etwas, nach weiteren 12 Stunden verschwindet jede Schmerzäußerung,

selbst Betastung erzeugt keinerlei erhöhte Reaktion. Nach 6 Wochen wird das Versuchstier den 10. Mai getötet. Die Untersuchung ergibt keinen Impferfolg.

b) Meerschweinchen.

10—13) Den 14. April 1904 werden drei Meerschweinchen subkutan geimpft: Zwei mit dem weißen, trockenem Stamm aus zwei verschiedenen Nieren stammend, das dritte mit dem grauen, auch bei Zimmertemperatur wachsenden Bakterium aus Fall I. Nach 12 Stunden ist bei allen ein Infiltrat bemerklich, das nach 3—4 Tagen beim ersten und dritten schwindet, beim zweiten aber (geimpft mit B. aus Fall II) in einen Abscess übergeht. Der Eiter ist, am 5. Tage untersucht, steril, weder mikroskopisch noch kulturell lassen sich die verimpften Stäbchen nachweisen.

14) 28. März 1904. Einem Meerschweinchen, ausgewachsen, werden intramuskulär 2 ccm einer Emulsion 6-tägiger Agarkultur eingebracht. Nach 48 Stunden ist Hinken des Tieres und Schwellung der Schenkelmuskulatur, Erscheinungen, die kurz nach der Inokulation auftraten, verschwunden.

15) 28. März 1904. Meerschweinchen, ausgewachsen; Kultur aus Fall II, 6 Tage alt; 5 ccm intraperitoneal. Erscheinungen treten nicht ein.

16) 21. April 1904. Ein junges, 14 Tage altes Meerschweinchen erhält 1 ccm 5-tägiger Glycerinbouillonkultur. Nach 24 Stunden erkennt man schwache, teigige, nicht schmerzhaft, platte Infiltration. Nach 48 Stunden ist eine markstückgroße, derbfeste Anschwellung vorhanden, die bis auf einen kleinen Rest schwieriger Verdickung verschwindet.

17) Bei einem Tierchen desselben Alters wird der Versuch durch intraperitoneale Einimpfung von 2,5 ccm 5-tägiger Glycerinbouillonkultur wiederholt. Nach 14 Tagen wird Tötung vorgenommen. Sektion ergibt negatives Resultat.

18) 1. Juli 1904. Ein Meerschweinchen, 350 g schwer, wird intraperitoneal behandelt mit 2,5 ccm 2-tägiger Agarkultur (ohne zu emulgieren, wird einfach zerstampftes Agar eingepreßt). Das Tier lebt noch, ohne irgendwie Erscheinungen zu bieten, am 10. Tag. Den 11. Juli 1904 wird Tötung und Sektion vorgenommen. Im Netzbeutel, in den Tiefen zwischen den Darmschlingen und Leberlappen finden sich wenige Reste gelblich undurchsichtig (durch Phagocyteneinwanderung) gewordenen Agars. Freies Exsudat ist nicht vorhanden.

Im Aufstrich des Agars sind Bacillen nicht mehr nachweisbar.

c) Weiße Mäuse.

19—22) Weiße Mäuse erwiesen sich als refraktär, in welcher Weise auch das Kulturmaterial einverleibt wurde. 11. März 1904, 1. April subkutan 21. April 1904 und 2. Mai 1904 nitraperitoneal.

d) Gefügel.

23) 3 ccm 4-tägiger Bouillonkultur werden einer Taube subkutan den 2. Mai 1904 ohne bleibende Reaktion gegeben.

24) Die intramuskuläre Eingabe von 2 ccm 6-tägiger Agarkultur ist ebensowenig von Erfolg begleitet.

25—27) Verschiedene Hühner wurden erfolglos geimpft: 2. Mai 1904 subkutan, 4. Juni 1904 intraperitoneal, 1. Juli 1904 intramuskulär.

Weitere Versuche wurden an größeren Tieren vorgenommen. Dabei wurden relativ große Mengen (bis 10 ccm) Kulturflüssigkeit in Anwendung gebracht.

a) Bei Schafen.

28) Schaf 1. Drei Tage vor Impfung wird das Tier untersucht. Mitteltemperatur 39,4, fieberfrei, munter, bei guter Freßlust. Harn enthält Spuren von Eiweiß. Corynebakterien sind nicht darin nachweisbar.

18. März 1904 werden in die linke Jugularis 10 ccm 3-tägiger Glycerinbouillon gegeben. Nach 12 Stunden tritt eine Reaktion dergestalt ein, daß eine Erhöhung der mittleren Tagestemperatur um 1,3 zu verzeichnen ist, die aber schon nach weiteren 24 Stunden zur Norm sinkt. Die mittleren Temperaturen übersteigen im weiteren Verlauf der Untersuchung 39,3, 39,6, 39,4 nicht.

Der Harn wurde nach der Impfung fortlaufend geprüft und ergab:

Am 18. kein Tripelphosphat, keine Bakterien; Spuren von Eiweiß, wenig Erythrocyten, wenig Epithelien.

Am 19. Harn etwas trüber, dunkler, wolkiges Sediment; wenig vereinzelt Bakterien von der Gestalt des verimpften Materials, etwas mehr Erythrocyten; Epithelien in nicht merklich vermehrter Anzahl; etwas mehr Eiweiß.

Am 20—24. dieselben Erscheinungen. Nach dem 24. wird der Harn etwas klarer; Bakterien vermindern sich, sonst gleich.

Am 28. sind Bakterien nicht mehr nachzuweisen.

29) Auch beim zweiten Schaf, das mit demselben Bakterium (s. Fall 2) und mit derselben Menge, aber Emulsion 4-tägiger Agarkultur intravenös geimpft war, zeigte sich folgenden Tages ein Ansteigen der Temperatur um 1,2 im Mittel, ohne daß die Fiebergrenze berührt wurde. Schon am 2. Tage ist der Status quo ante wieder erreicht. Zellen- und Eiweißgehalt war während der 20 Tage dauernden Beobachtung entsprechend Schaf 1.

Die Bakterien jedoch, die nach 24 Stunden spärlich nur im Harn zu finden waren, vermehrten sich bis zum 6. Tag massenweise, ohne daß jedoch die klinischen Symptome einer Nephritis oder Cystitis nachzuweisen gewesen wären. Später verminderten sich die Mikroben. Den 30. März 1904 waren Keime nicht mehr mikroskopisch zu konstatieren.

Bei Schlachtung der Tiere den 6. April 1904 sind pathologische Veränderungen im Harnsystem nicht anzufinden.

30) und 31) Bei 2 anderen Schafen wurde den 27. April 1904 die subkutane Verimpfung und den 3. Mai 1904 die intramuskuläre Inokulation ohne Erfolg vorgenommen.

b) Bei Rindern.

Aus bisherigen Versuchen an kleinen Laboratoriumstieren und an Schafen ziehe ich keinen Schluß in Betreff der Pathogenität der Bacillenart für das Rind, bei dem die Pyelonephritis besonders häufig ist. Es wurden daher weitere Experimente an dieser Gattung, von der ja auch das Ausgangsmaterial stammt, gemacht und das Bakterienmaterial subkutan, intravenös und in die Blase eingebracht.

Subkutan und kutan.

31) Den 26. April 1904. Einer Kuh werden 5 ccm einer 2-tägigen Agarkultur (aus Fall 3) emulgiert an der rechten Halsseite subkutan beigebracht. Nach 12 Stunden ist eine merkliche Reaktion oder Schmerzempfindlichkeit nicht eingetreten. Allmählich entwickelt sich eine etwas über 5 Markstück-große, schmerzlose, teigig derbe Infiltration, die am 1. Mai 1904 ohne sich inzwischen vergrößert zu haben, ab-schwindet; den 3. Mai 1904 ist keine Anomalie mehr nachzuweisen.

32) Das gleiche Ergebnis hat ein Versuch vom 3. Mai 1904, der mit ungleich größerer Menge, 20 ccm 6-tägiger Glycerinbouillonkultur (Fall 2) unternommen wurde. Auch hier trat vorübergehende, schmerzlose, plattenartig ausgedehnte Infiltration der Subcutis ein, die am 6. Tage schon verschwunden war, ohne daß Fluktuation oder Absceßbildung entstanden wäre.

33) 2,5 ccm zerquetschten Agarnährbodens, auf dem (der gewöhnlich zu züchtende) Stamm I (Fall 1) gewachsen war, wurde subkutan beigebracht. Nach 24 Stunden heiße, faustgroße, schmerzempfindliche Geschwulst, die sich nach 48 Stunden langsam vergrößert hatte, ohne Fluktuation zu zeigen.

Am 3. Tag ist Verkleinerung des entzündlichen Tumors und Verminderung der Schmerzhaftigkeit nachzuweisen, auch diese Erscheinungen gehen mehr und mehr zurück und nach 14 Tagen ist jede Veränderung von der Norm verschwunden.

34) und 35) Derselben Kuh (1) wurden nach leichter Skarifikation der Scheidenschleimhaut ebenso wie der Kuh (2) von Versuch 32 ein mit Kulturmaterial (Stamm II) aus Fall 1 und Fall 5 getränktes Wattebäuschchen ins Vestibulum eingeführt. Obwohl der Wattebausch bei der ersten 2 Tage liegen blieb, während er bei der anderen schon nach 18 Stunden herausgedrängt wurde, zeigte sich bei beiden außer leichter Entzündungsrotte (Folgen der Skarifikation), keinerlei weiterer Erfolg.

Intravenös.

36) 13. Mai 1904. Einer Kuh werden 20 ccm einer 6-tägigen Bouillonkultur intravenös verimpft. Einen Tag nach der Impfung wurden vereinzelte Bacillen (Coryne-Bakterien aus Fall 2) im Harn nachgewiesen; vorher waren nur große Diplokokken im Exkret. Während der Harn vor der Impfung kein Eiweiß konstatieren ließ, waren nach 24 Stunden geringe Mengen nachweisbar. Den 1., 2. und 3. Tag war auf einige Kubikcentimeter Höhe ein trüb-wolkiges, mucinöses Sediment mit grieskornkleinen weißlichen Pünktchen zu sehen (schleimige Haufen Bakterien des verimpften Bakterienmaterials). Schon am 9. Tage waren diese Bakteriendrusen verschwunden, auch vereinzelte Coryne-Bakterien mikroskopisch nicht mehr erkenntlich. Die Kuh war während der ganzen Beobachtungsdauer fieberfrei. Bei Schlachtung erwies sich der Harnapparat normal.

37) Den 1. Juli 1904. Intravenöse Impfung mit 5 ccm einer 1-tägigen Bouillonkultur desselben Stammes. Das Tier blieb ständig fieberlos. Harn vor Impfung: Keim Eiweiß, ohne Sediment (nur mit Spuren wolkiger Trübung) ohne Bacillen. 24 Stunden nach Verabreichung der Bakterien sind vereinzelte Mikroben der verimpften Species nachweisbar. Spuren von Eiweiß, vereinzelte Erythrocyten und Leukocyten. Den 3. d. M. Bakterien in Drusen und Haufen, Eiweißreaktion deutlich, rote und weiße Blutzellen wie tags zuvor.

Schon am 4. Tage ist eine Verminderung der Bakterien nachzuweisen; den 7. sind Bakterien mikroskopisch nicht mehr zu finden.

Die pathologischen Reaktionen sind verschwunden.

Blaseninokulation.

Zuletzt wurde noch die intracystöse Applikation versucht und mittels Katheters das Impfmateriale auf 37° erwärmt (direkt vom Thermostaten oder im Thermostaten auf diese Temperatur gebracht) in die Blase eingeschüttet.

38) Den 18. März 1904. Material: 20 ccm feinst zerquetschter und durch Drahtsiebe gepreßter Agarkultur samt Nährboden aufgeschwemmt mit 50 ccm Glycerinbouillonkultur (derselbe Stamm aus Fall 1 und 2), 5 Tage alt.

Der mehrere Tage vorher untersuchte und normal befundene Harn wird trüb. Weißgelbe Flocken und Gerinnselmassen, die sich als Haufen des eingeimpften Stäbchens ersehen lassen, sind in der Harnflüssigkeit emulgiert. Eiweiß ist nicht nachzuweisen.

Schon nach 3 Tagen ist eine wesentliche Verminderung der Bacillen nachzuweisen, nach 7 Tagen ist weder mikroskopisch noch kulturell der Bacillus zu finden.

39) Einem zweiten Rind wurden 250 g 5-tägiger Bouillonkultur zweiter Generation eingegeben. Einige Tage halten sich die Bacillen im Harn, der trüb, nicht stinkend flockige Bakterienhaufen (Vermehrung) enthält. Schon nach 6 Tagen ist der Harn frei von verimpften Stäbchen.

Nach Disponierung.

40) Da alle diese Versuche alles eher bewiesen, wie die Pathogenität, wurde durch mechanische Einwirkung die Blaseschleimhaut mit der Impfung zugleich gereizt, um dem Mikroben besonders günstige Bedingungen zu stellen.

100 ccm 3-tägiger Glycerinbouillon wurden zugleich mit 50 g sterilen Flußsandes durch denselben Katheter in die Blase geschwemmt.

24 Stunden nach Inokulation zeigt eine entnommene Harnprobe starken Eiweißgehalt, viele rote Blutzellen, Epithelien der Blase, Leukocyten und Haufen freiliegender oder zu Flocken vereinigt Bakterien.

Der eingeführte Sand ist schon d. 3. d. M. vollständig ausgeschwemmt und mikroskopisch nicht mehr nachzuweisen. In dem eiweißreichen Harn, der trüb, dunkel, ohne spezifischen Geruch ist, sind Massen weißlicher Haufen blutig-eitriger Flocken mit Epithelien, Detritus und typisch gelagerten *B. renales* suspendiert, den 4. ebenso, den 5. ist auffallend, daß ein Teil des Sediments, das ungewöhnlich vermehrt ist, schnell zu Boden sinkt, der Bodensatz besteht aus Mengen von Tripelphosphatkristallen, die teils frei liegen, teils in großen Bakterienflocken eingebettet. Durch diese Lagerung schon und durch das Fehlen anderer Bakteriensorten (Kulturversuch) wird man zu der Annahme gezwungen, es liege ein Produkt der in dem veränderten Harn sich rapid vermehrenden Stäbchen vor.

Der Befund ist im Verlaufe der nächsten Tage ähnlich; dann jedoch vermindert sich das Tripelphosphat, um am 9. d. M. auch mikroskopisch nicht mehr konstatierbar zu sein.

Leukocyten, rote Blutzellen und Epithelien sind ebenso wie die Bakterien auf vereinzelte Flocken vermindert; den 20. sind Bakterien nur mehr vereinzelt zu finden.

Bis vor Schlachtung, die den 30. Juli 1904 erfolgte, waren diese Befunde bald geringer, bald mehr zu sehen, ohne aber je den vorausgegangenen hohen Grad zu erreichen.

Bei der Sektion fanden sich Niere, Harnleiter gesund. Blaseschleimhaut weißgelb, sulzig geschwellt besonders am Blasengrund. Von hier zieht sich gegen den Blasenhalz zu eine stark injizierte, hochrote, geschwellte, daumenbreite Partie, die einen tieferliegenden, bis 2 mm breiten diphtherisch verschorften Streifen umgibt, der bis in den Blasenhalz verfolgbar ist. Ich setze diese Verwundung auf Kosten mechanischer

Reizung. Die Blase wurde, nachdem Druck vom Mastdarm aus nur selten Harn lieferte, fast täglich, die letzten 10 Tage stets, mittels eines geraden Nickelskatheters entleert.

Im Aufstriche aus den nekrotischen Schleimhautpartien sind massenweise die typischen Stäbchen, die auf der Schleimhautwunde sich natürlich energisch vermehrten.

Diese Impfversuche und die Experimente früherer Autoren ergeben, daß das Corynebacterium der Pyelonephritis bei kleinen Versuchstieren nur selten subkutan pathogene Wirkungen entfaltet; wenn man bedenkt, daß bei intramuskulärer, intrapulmonaler und intraperitonealer Eingabe jede Wirkung ausblieb, auch wenn ganz junge Tiere zur Verwendung kamen, oder auch wenn dem Bacillus zur Vermehrung besonders günstige Bedingungen geboten wurden, indem als Material zerstampfter Agarbrei eingebracht wurde (s. Versuche), so muß man zu der Ansicht kommen, daß das Bakterium für kleine Versuchstiere überhaupt nicht krankmachend sei.

Es verhalten sich Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen, Ratten, Tauben, Hühner dem Mikroben gegenüber refraktär.

Aus den Experimenten mit größeren Versuchstieren ist zu entnehmen, daß subkutane und intramuskuläre Inokulation keine Wirkung bei Schafen zeitigt, bei intravenöser Impfung wurde leichter Nierenreiz (man bedenke aber die große Dosis alkalischer Glycerinbouillon, vergl. 28, p. 261) etwas erhöhte Temperatur beobachtet und die Ausscheidung des Bakteriums durch die Nieren und ein längeres Verweilen, eventuelle Vermehrung der Stäbchen im Harn erwiesen.

Um die Pathogenität des Keimes für Rinder zu untersuchen, habe ich intravenös, intracystös und subkutan geimpft. Auch beim Rind fielen bisherige Versuche, mit dem als spezifischen Erreger der so schweren Nierenerkrankung angesprochenen *B. renalis* in Reinkultur das Leiden künstlich zu erzeugen, negativ aus. Subkutanes Verfahren ergab nur in seltenen Fällen Absceßbildung (Künemann, Liénaux und Zwaenepoel). In meinen Versuchen, die zum Teil mit enormen Mengen Kultur angestellt wurden, war es unmöglich, in der Unterhaut Eiterungen zu erzeugen, wie auch die kutane (an die lädierte Mucosa) Methode ergebnislos verlief. In die Blutbahn verteilte Mikroben wurden, ohne Krankheitssymptome entstehen zu lassen, durch die Nieren ausgeschieden und in die Blase geschüttete Kulturen ohne pathogene Wirkung wieder ausgeschwemmt. Nur wenn durch künstliche Einwirkungen die Blase disponiert war, der Harn durch eine mechanisch entstandene Cystitis eiweißreich wurde, vermehrten sich die Bacillen rapid. In unserem Falle wurde die Bildung von Tripelphosphat beobachtet. Auch hier wurden die Bakterien nach kurzer Zeit ausgeschieden, typische Cystitis diphtherica entstand nicht; die Bildung einer strichförmigen Blasenwunde ist auf fortdauernden mechanischen Reiz des Katheters zurückzuführen.

Ich komme auf Grund dieser Resultate zu dem Schluß, daß der bisher als der Erreger der Pyelonephritis angesehene Bacillus oder vielmehr die Bacillengruppe wohl nichts mit der Genese der Krankheit zu tun hat. Er ist von mir (s. auch Höflich) nie in Reinkultur gefunden worden. Es ist bisher noch nie gelungen, mit Reinkulturen die Krankheit zu reproduzieren. Nicht einmal Eiterungen, selbst nach Ein-

gab sehr großer Kulturmengen, konnte ich erzeugen (s. aber Künne-
mann).

Auch das Verhalten des Bakteriums im Tierleib zeigt die Zugehörigkeit zur Gruppe der Pseudodiphtheriebacillen. Das häufige Vorkommen von Vertretern dieser Gruppe bei Mischinfektionen wird erklärlich, wenn man die Fundstellen, aus denen es möglich war, sie zu züchten, berücksichtigt. Aus dem menschlichen Körper wurden solche Stämme gezüchtet aus der Conjunctiva, dem Rachenschleim, Bronchialschleim, aus Nierenbecken, aus Dünndarm (Leber, p. 9), aus Variolapusteln (Nakanishi), aus Milch, bei Pemphigusvegetans, aus der Luft, aus der Vulva, bei eitriger Otitis, Cerebrospinalmeningitis, aus der Haut von Mensch und Rind, im Gonorrhöeiter, bei Ekzem, bei Empyem der Lunge, aus Schankergeschwüren, aus der Haut von Enten, aus dem Nasensekret eines brustseuchekranken Pferdes, selbst von dem Lattenwerk der Stallböden (vergl. 22, p. 36 u. 37; 25, p. 441; 3, p. 471).

Es handelt sich eben um eine in der Außenwelt weit verbreitete Stäbchenart, die, in eitriges Sekret oder in eiweißhaltigen Harn gelangend, enorm sich zu vermehren beginnt.

Solche Stäbchen gelang mir außer aus Pyelonephritis bovis zu züchten:

1) Aus 2 Nieren vom Schwein mit chronisch eitriger Nephritis. Papillen waren intakt, jedoch stark hämorrhagisch. Die Schleimhaut des Nierenbeckens durch Blutungsflecke marmoriert. Inhalt des Beckens und Harnleiters graurübrer, schleimiger Harn (außerdem Streptokokken, Coli-Bakterien).

2) Cystitis diphtherica vom Schwein. Schleimhaut ist in ganzer Ausdehnung der diphtherischen Nekrose anheimgefallen (daneben *B. pyogenes suis* Grips und Streptokokken).

3) Cystitis catarrhalis vom Schwein mit enormer Ablagerung von Sediment (neben Streptokokken, Staphylokokken, Coli-Bakterien).

Fasse ich nun zum Schlusse bisherige Resultate und eigene Untersuchungen zusammen, so ergeben sich folgende Sätze:

1) Die Pyelonephritis des Rindes ist auf hämatogene Infektionsweise zurückzuführen. Auf hämatogene Genese deuten das pathologisch-anatomische Bild typischer embolischer Nephritis bei ausgebreiteter Pyelitis und die Uebergänge, die sowohl makroskopisch von Nephritis purulenta punctata embolica bis zu chronisch eitriger Pyelonephritis zu sehen sind, als auch mikroskopisch. Die Schnitte zeigen, daß nach Ausscheidung die Bakterien sich in den Harnkanälchen stauen und eine Zerstörung der Papille von innen her erfolgt.

2) Erst in weiterer Folge, wenn durch abgestoßene Papillenteile oder Entzündungsprodukte, die den regelmäßigen Sekretabfluß hindern, Harnstauungen sich ergeben, treten die bisher eventuell noch nicht von der Krankheit ergriffenen Nierenteile in den Prozeß ein, werden abgeflacht wie bei Hydronephrose und unterliegen außerdem der deletären Wirkung der Eitererreger. Nun kann sich in solchen Partien eine Nephritis ascendens entwickeln.

3) Es gibt zwei Möglichkeiten für den Ausgang der Krankheit.

Entweder es resultiert eine Pyonephrose, oder aber die Bakterien werden ausgeschwemmt und gehen zu Grunde, die Entzündungszentren kapseln sich ab, die Sedimente und die eingetrockneten Entzündungsprodukte sintern zu Harnkonkrementen zusammen und es findet so eine Art Ausheilung des Prozesses unter Bildung der Nephritis calculosa fibroplastica statt.

4) Daß Pyelonephritis besonders häufig bei Kühen und zwar nach Geburten, Metritis, Ausfaulen der Nachgeburt entsteht, ist nicht

bedingt durch die leichtere Infektionsmöglichkeit der weiten ventral gelegenen weiblichen Harnröhre und von hier ascendierend nach entstandener Cystitis durch die Harnleiter in das Nierenbecken zu erklären, sondern als Metastasenbildung oder durch „kryptogene“ Infektion nach Aufnahme der Krankheitskeime in den Säftestrom anzusehen.

Die Aufnahmemöglichkeit solcher Keime ins Blut bedarf keiner weiteren Erklärung. Daß gerade die Niere erkrankt, andere Organe aber gesund bleiben, mag seinen Grund in den Gefäßverhältnissen, ja überhaupt in der physiologischen Tätigkeit der Niere als Ausscheidungsorgan haben (dazu sind die Bakterien nach der Ausscheidung der bakteriziden Energie des Blutes entrückt), oder aber es entsteht durch die funktionelle Ueberreizung der Niere schon nach normalen Geburten, noch mehr durch Ausscheidung septischer Stoffe bei Metritis und Ausfaulen der Nachgeburt eine Disposition des Organs, welche gleichzeitiger oder folgender Bakterienembolie die Ansiedlung erleichtert.

5) Gewöhnlich ist die Pyelonephritis eine polymikrobe Infektion. Als Ursachen sind anzunehmen alle Bakterien, die beim Rinde Eiterung erzeugen können. Einen spezifischen Pyelonephritis-erreger gibt es nicht.

6) Bei Mischinfektionen wird häufig ein wohlcharakterisiertes Stäbchen bald in geringerer Anzahl, bald in Massen angehäuft gefunden, das seinen Eigenschaften zufolge in die Gruppe der Corynebakterien (Neumann und Lehmann) zu stellen ist. Es ist dies der bisher als spezifischer Pyelonephritis-erreger betrachtete *B. renalis bovis*, für den ich die Bezeichnung *Cor.-B. renalis* vorschlagen möchte.

7) Von *Cor.-B. Loeffler* unterscheidet er sich:

a) er ist für Meerschweinchen apathogen;
b) Säurebildung habe ich (wenigstens mittels Lackmusreaktion) nicht nachweisen können.

8) Die morphologischen Besonderheiten, sein Kulturwachstum machen es notwendig, ihn der Pseudodiphtheriegruppe aut. med. hom. gleichzustellen.

a) Die Stäbchen sind polymorph. Die Bildung von Knospen, Verzweigungen, Keulen ist stets nachzuweisen; daneben sind lanzettliche, stäbchenförmige, zu Fäden auswachsende Gebilde ersichtlich. Bei stärkerer Auswaschung der Gramschen Farbe oder mit dünnen Farblösungen tritt Protoplasmadifferenzierung sowohl in Eiteraufstrichen als auch besonders schön in künstlich gezüchteten Stäbchen auf (Sporen werden keine gebildet).

Geißeln fehlen, er ist unbeweglich.

b) Indol konnte ich bei den von mir untersuchten Stämmen nicht nachweisen.

c) Meine Stämme waren alle streng aërob. Die Bakterien besitzen zwei Optima von Sauerstoffspannung.

9) Unterschiede im Kulturwachstum von Stäbchen verschiedener Herkunft auch auf vollständig gleichen Nährböden und unter gleichem Wachstumsklima deuten an, daß es viele Spielarten, Standortsvarietäten gibt, wie dies für die Pseudodiphtheriegruppe bisher schon beschrieben war.

10) Harnnährböden sagen den Stäbchen besonders zu.

Die Resistenz der Keime ist eine erhebliche. Es gelingt die Abzuchtung noch nach Monaten.

Am üppigsten ist die Vermehrung bei 36—37°.

11) Im hohen Harnagar bildet sich um den Stich ein Kristallmantel (Form wie Tripelphosphat).

12) Meine Stämme erwiesen sich als fast wirkungslos.

Refraktär erwiesen sich: Mäuse, Kaninchen, Meer-schweinchen, Hühner, Tauben; ferner Schafe und ebenso Rinder.

13) Das häufige Vorkommen dieser Corynebakterien bei Pylonephritis darf nicht als Beweis für seine spezifische Pathogenität betrachtet werden, sondern ist lediglich ein Beleg für das außerordentliche Wucherungsvermögen dieser Keimsorte im pathologisch veränderten Harn.

14) Mit der Genese der Krankheit hat das Bakterium kaum etwas zu tun:

a) Die Keime wurden nie, wie Kulturversuche beweisen, in Reinkultur gefunden.

b) Es gelang nie, weder früheren Autoren, noch bei meinen Experimenten mit Reinkultur, die Krankheit zu erzeugen.

c) Selbst durch Verimpfung großer Mengen Bakterien konnte ich Eiterung nicht entstehen sehen.

d) Höchstens gelang es nach künstlich erzeugter Cystitis (Aetzen, mechanischer Reiz), ein rapides Wachstum im Blaseninhalt erfolgen zu sehen.

15) Bei solchem Versuche habe ich das Entstehen von phosphorsaurer Ammoniakmagnesia nachgewiesen.

In spontanen Fällen kann Tripelphosphat fehlen, da die verschiedenen Infektionskeime nicht stets ammoniakalische Gärung hervorrufen können, was wir zur Bildung des Tripelphosphates voraussetzen müssen. Auch wenn Ammoniakbildner vorhanden sind, kann die Symbiose antagonistischer Bakterien die Bildung genannten Salzes hintanhaltend.

16) Die *Cor.-B. renales* sind in der Außenwelt enorm verbreitet.
Mai 1905.

Literatur.

- 1) Beck, M., Diphtherie. (Handb. d. pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. Bd. II. p. 755 ff. Jena 1903.)
- 2) Bollinger, Dtsche Zeitschr. f. Tiermed. 1891. p. 346.
- 3) Bongert, Bakteriologische Diagnostik. 212 p. Wiesbaden 1904.
- 4) —, Corynethrix pseudotuberculosis murium. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVII. p. 471.)
- 5) Enderlen, Primäre infektiöse Pylonephritis beim Rinde. (Dtsche Zeitschr. f. Tiermed. 1891. p. 325 ff.)
- 6) Friedberger u. Fröhner, Spez. Pathol. u. Therap. etc. 1900. p. 410 ff.
- 7) —, Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden. 1900. p. 553.
- 8) Glage, Die Eiterungen bei den Haustieren. (Handb. d. pathogenen Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann. Bd. III. p. 809.)
- 9) Graefe-Saemisch, Handb. d. ges. Augenheilk. Bd. V. 1904. p. 449. § 199.
- 10) Höflich, Die Pylonephritis bacillosa des Rindes. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. 1891. p. 337 ff.)
- 11) Jensen, C. O., Pylonephritis diphtherica bovis. (Ergebn. d. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. d. Menschen u. d. Tiere. 1897. p. 393.)
- 12) Kitt, Th., Lehrb. d. pathol. Anat. d. Haustiere etc. Bd. II. 1901. p. 471.
- 13) —, Bakterienkunde etc. 1903. p. 417.
- 14) —, Lehrb. d. allgem. Pathol. 1904.
- 15) Künnemann, Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. p. 128 ff.

- 16) Lewandowsky, Vergleich über die Pseudodiphtheriebacillen und ihre Beziehungen zu den Diphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 337 ff.)
- 17) Liénaux et Zwaenepoel, Ann. de méd. vétér. 1902. Sept. Oct.
- 18) Lucet, Recherches bactériologiques sur la suppuration chez les animaux de l'espèce bovine. (Rec. de méd. vétér. 1893. p. 281 ff.)
- 19) Masselin et Porcher, Contribution à l'étude des pyélo-néphrites ascendantes infectieuses des bovidés. (Rec. de méd. vétér. Année LXXII. T. II. Sér. 8. 1895. p. 657 ff.)
- 20) Neisser, A., Versuche über die Sporenbildung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. IV. p. 165 ff.)
- 21) Neisser, M., Zur Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXIV. p. 443.)
- 22) Neumann, R. O., Bakteriologische Untersuchungen gesunder und kranker Nasen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XL. p. 35 ff.)
- 23) Orth, Dtsche med. Wochenschr. 1890. No. 44.
- 24) Prochaska, J., Die Pseudodiphtheriebacillen des Rachens. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXIV. 1897. p. 378 ff.)
- 25) Schanz, Der sogenannte Xerosebacillus und die ungiftigen Loefflerschen Bacillen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXII. p. 441.)
- 26) Schmidt, J., Nekrotisierende Nyrebetaendelse hos Kvaeget. (Maanedsskrift for Dyrlaeger. Bd. I. 1890. p. 149.)
- 27) Slavyk u. Manikatide, Untersuchungen über verschiedene Diphtheriestämme. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXIX. p. 189.)
- 28) Wassermann, A., Wesen der Infektion. (Handb. d. pathogenen Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann.)

Nachdruck verboten.

Die Staphylokokkeninfektion bei den Hasen.

Von Dr. med. vet. **Moritz Bürgli**, Bern.

Mit 4 Figuren.

(Schluß.)

Das Vordringen der Staphylokokken in die Haut ist von Wunden aus denkbar, ein Punkt, der sich der Kontrolle entzog. Aber auch Parasitenstiche mußten in Betracht gezogen werden. Auf dem Hasen 17 beobachtete ich ein Exemplar von *Ixodes ricinus*, ein solches der Art *Thrombidium holosericeum* in der Form des *Leptus autumnalis*, mehrere Individuen eines Haarlings, vielleicht *Gyropus gracilis*. Beim Hasen 11 kamen nach einem Aufenthalt von 2 Stunden im Brütöfen mehrere Exemplare von *Pulex goniocephalus* zum Vorschein. In der Folge sammelte ich dieses Insekt bei Versuchskaninchen wiederholt. Man sieht, daß der beständige Aufenthalt der Hasen im Freien keinen Schutz vor Hautungeziefer gewährt. Das Vorkommen von Flöhen deutet auf eine Säbhaftigkeit der Hasen, denn wenn wir aus der Entwicklungsgeschichte dieser Insekten uns vergegenwärtigen, daß die pflanzenfressende Larve und die am Boden ruhende Puppe zu ihrer Entwicklung 4—6 Wochen benötigen, so ergibt sich ohne weiteres, daß nach 1—1½ Monaten die junge Generation von Flöhen den Hasen in seinem Neste wiederfindet.

Es lag nun nahe, den Nachweis der Staphylokokken in den Verdauungsorganen der Flöhe zu versuchen. Wenn man den Mageninhalt einer der genannten Floharten auf einem Objektträger verreibt, so gelingt es mit dem Gramschen Verfahren verhältnismäßig leicht, Staphylokokken sichtbar zu machen. Die Flöhe der infizierten Kaninchen

waren manchmal mit Staphylokokken so reichlich besetzt, daß sich dieselben im Präparate dicht berührten. Es sei hier hervorgehoben, daß diese Mikroorganismen, wenn auch in kleinerer Zahl, im Magen von *Pulex irritans* und *Pulex serraticeps* konstant vorhanden sind. Bei der Verreibung von ganzen Flöhen, zu welchem Zwecke in Ermangelung des *Pulex gonocephalus* *Pulex serraticeps* genommen wurde und Verteilung

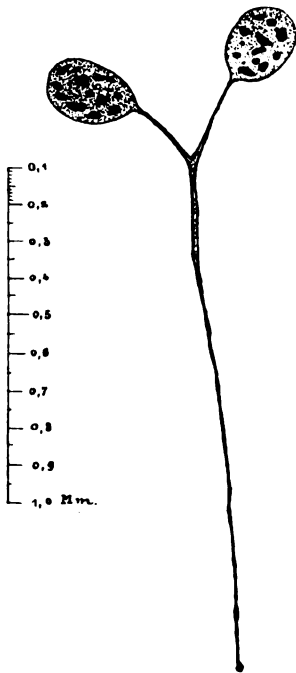


Fig. 1.

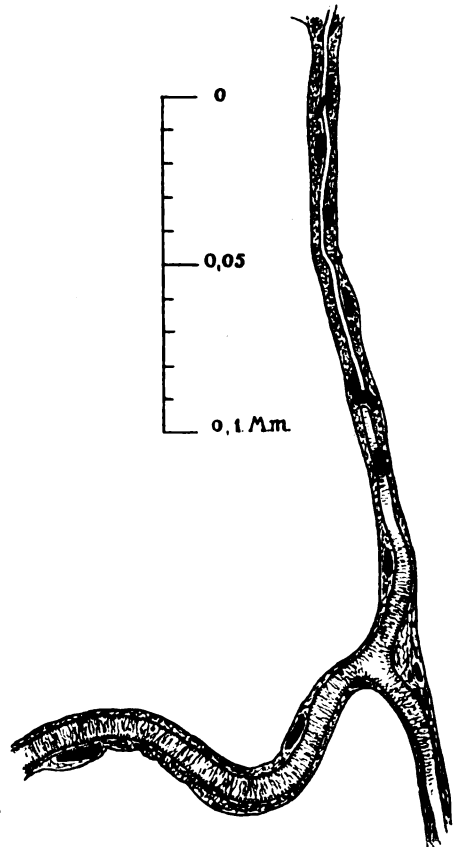


Fig. 2.

Fig. 1. Speicheldrüsen von *Pulex irritans*. 2 Drüsenbläschen mit großen Kernen. Die Ausführungsgänge vereinigen sich zu einem gemeinschaftlichen Gange, der sein Ende im Oberkiefer findet. Es kommen zwei solche Paare vor.

Fig. 2. Speicheldrüsen von *Pulex serraticeps*. Vereinigung der besonderen Ausführungsgänge zu dem gemeinschaftlichen Gange. Die medial gelegene Chitinröhre ist lateral von Muskelzellen mit großen Kernen (*Musculus ejaculatorius*) umgeben.

des Materials in Gelatineplatten, wuchsen auf letzteren verschiedene Arten von Bakterien, unter ihnen aber in ganz hervorragender Zahl die Staphylokokken. Der Versuch, die Bakterien an der Oberfläche der Flöhe durch Eintauchen in Alkohol zu zerstören, schien keine zuverlässigen Resultate zu ergeben, so daß keine Gewißheit darüber existierte, ob die Gesamtheit der in den Platten wachsenden Mikroorganismen nur aus dem Magen stammten. Immerhin sei bemerkt, daß, wenn man den mikroskopischen Befund mit den Kulturergebnissen auf den Platten in

Verbindung bringt, unsere Annahme denn doch gerechtfertigt erscheint, daß die große Mehrzahl der Kulturen aus dem Magen stamme. Von den Kokken auf den Platten färbten die einen die Gelatine gelb, die anderen weiß. Im Gegensatz zu den Befunden von *Pulex* ergab die Untersuchung von *Ixodes*, *Thrombidium*, des Haarlings und der Kopflaus des Menschen, die ich in zahlreichen Exemplaren in die Untersuchung miteinbezog, das Fehlen der Staphylokokken in den inneren Organen dieser Schmarotzer.

Als besonders wichtige Tatsache möchte ich hier hervorheben, daß ich die Staphylokokken auch in den Speicheldrüsen der *Pulex irritans* und *Pulex serraticeps* sah. Es gelang mir, die Speicheldrüsen dieser Tiere zu präparieren und zu färben, und ich lasse hier eine kurze Beschreibung dieser Organe folgen.

Die Speicheldrüsen von *Pulex irritans* stellen 4 birnförmige Körper (Fig. 1--4) von durchschnittlich 200 μ Länge und 150 μ Dicke dar. Die

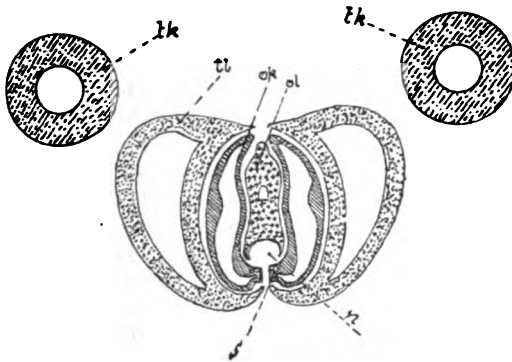


Fig. 3.

Fig. 3. Querschnitt durch den Rüssel von *Pulex* vorderes Drittel. *lk* Kiefertaster, *ll* Lippentaster, *ok* Oberkiefer, *ol* Oberlippe, *n* Nahrungskanal, *s* Speicheldrüsen. Nach Kraepelin (13).

Fig. 4. Querschnitt durch die Falzung der beiden Oberkiefer von *Pulex*, stark vergrößert. *ok* Oberkiefer, *s* Speichelkanal, *n* Nahrungskanal. Nach Kraepelin (13).

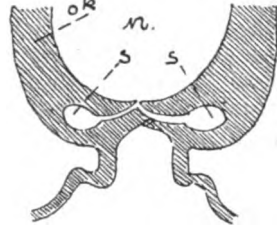


Fig. 4.

Drüsenbläschen enthalten ca. 10—14 Kerne von ovaler Gestalt und von ganz ungewöhnlicher Größe, nämlich 30 μ Länge und 24 μ Breite. Die Ausführungsgänge von je zwei Drüsenbläschen verbinden sich nach einem kürzeren Verlauf zu einem gemeinschaftlichen Gange, der zu den Mundwerkzeugen führt. Die Länge der Gänge von der Drüse bis zur Vereinigung schwankt zwischen 78 und 260 μ . Von dem gemeinschaftlichen Gange sah ich Stücke bis zu 780 μ , was also eine Länge für die Gesamtröhre von beinahe 1 mm ergibt.

Bei *Pulex serraticeps* sind die Speicheldrüsen etwas größer. Sie messen 230 μ in der Länge und 200 μ in der Breite. Die ovalen Kerne, die in der Zahl von 10—13 in jedem Drüsenbläschen vorhanden sind, haben eine Länge von 36 und eine Breite von 28 μ . Die Ausführungsgänge von der Drüse bis zur Vereinigung zum gemeinschaftlichen Gange messen ungefähr 230 μ (104—260). Der gemeinschaftliche Gang erreichte eine Länge bis zu 1,5 mm. Der Durchmesser der besonderen Gänge beträgt 10, derjenige des gemeinschaftlichen Ganges 13 μ . Auch

die Speicheldrüse von *Pulex gonioccephalus* besteht aus 4 Drüsenbläschen. Das Chitinrohr der Ausführungsgänge wird von einer Muskellage (*Musculus ejaculatorius*) umgeben (Fig. 2), deren Dicke 10—15 μ beträgt.

Das Einfließen von Flohspeichel in die Stichwunde gibt Anlaß zu der bekannten lokalen Erweiterung der Blutgefäße und der Anschwellung um die Stichwunde. Die Uebertragung der Staphylokokken von einem Hasen auf den anderen kann nach den geschilderten Verhältnissen durch den Flohspeichel sehr leicht geschehen. Es ist ziemlich sicher, daß die Staphylokokken des Flohes eine sehr ungleiche Virulenz besitzen; die große Mehrzahl derselben dürfte als avirulent zu bezeichnen sein, denn sonst wäre die Gefährlichkeit dieser so häufigen Insekten eine viel größere, als sie tatsächlich ist. Aber auch sehr virulente Individuen können sich darunter befinden, und diese bedingen das Verhängnis eines infektiösen Flohstiches, der bei den stark prädisponierten Hasen schwere Folgen nach sich zieht. Unsere frühere Angabe, daß in den ersten Jahresmonaten Rammler vorzugsweise das Opfer der Infektion sind, ist auf die Liebeswerbung und das dadurch bedingte Herumirren zurückzuführen. Später, wenn die Häsin mit ihrer Nachkommenschaft im Neste zusammenhaust, erliegt nun dieses Geschlecht häufiger der Krankheit. Infizierte Flohstiche können zu Hautabscessen Anlaß geben, doch ist auch das Ausbleiben einer örtlichen Reaktion möglich, denn bei den Experimenten kann manchmal eine allgemeine Infektion ohne Reaktion an der Impfstelle zustandekommen. Bei den gefallenen Hasen waren Hautphlegmonen besonders an den Pfoten, aber auch anderswo nicht selten, doch auch nicht konstant.

Auf Grund der erörterten Verhältnisse erachte ich die Staphylokokkeninfektion der Hasen als eine durch die Flöhe gesetzte Krankheit, indem mir diese Art der Infektion wahrscheinlicher erscheint als der Uebertritt der Staphylokokken aus dem Darm in die Säftemasse und die Ansiedelung dieser Parasiten in zufälligen Wunden.

Die Staphylokokkeninfektion der Hasen ist keine allein stehende Erscheinung in der Natur. In der humanen Medizin gelten die Staphylokokken als die häufigsten Erreger akuter eiteriger Prozesse sowohl der äußeren Bedeckung wie der inneren Organe. Sie bilden vorwiegend die Ursache der Furunkel, Karbunkel, der Panaritien, zirkumskripten Phlegmonen und heißen Abscesse. Nach Lingelsheim (11) erfolgt der Uebergang der Kokken in die Blutbahn häufiger von der äußeren Haut als von den Schleimhäuten aus und veranlaßt Metastasen in den Knochen, den Gelenken, im Herzen, in den Lungen, den Nieren etc. Allgemein werden nun auch die Staphylokokken als die Urheber der Osteomyelitis anerkannt. Daß die Virulenz der Staphylokokken sehr variiert, haben alle Autoren, die mit denselben experimentierten, erfahren. In der Regel sind die Kokken nicht sehr virulent und es bleiben die durch sie hervorgerufenen Entzündungen und Eiterungen meist auf gewisse Körpertheile beschränkt. Jedoch können an und für sich kleine, kaum wahrnehmbare Infektionen so virulent wirken, daß sie durch Metastasen schwere Komplikationen nach sich ziehen [Lingelsheim (11), Kocher und Tavel (8)]. Welche der verschiedenen Varietäten der Staphylokokken am häufigsten als Erreger eiteriger Prozesse zu betrachten ist, kann noch nicht mit Bestimmtheit angegeben werden, denn bald wird der *Staphylococcus pyogenes aureus*, bald wieder der *albus* überwiegend vorgefunden. Auch über die Virulenzunterschiede der genannten Kokkenarten gehen die Meinungen der Autoren noch auseinander.

Kocher und Tavel (8) beschreiben im ersten Teile ihres Werkes über „Chirurgische Infektionskrankheiten“ eine Anzahl von Staphylokokkeninfektionen bei Menschen. Die von mir geschilderten Krankheitsbilder stimmen in vielen Punkten mit den von ihnen gemachten Beobachtungen überein, so z. B. Fall XXX S. 200 und Fall XXXIV S. 217 a. a. O. In der Veterinärmedizin sind die Staphylokokken ebenfalls als häufige Eitererreger bei den Haustieren bekannt. Fröhner (14) beschreibt einen Fall von Osteomyelitis infectiosa beim Rinde. Er fand im Marke des kranken Knochens Eiterherde mit *Staphylococcus pyogenes aureus* und *albus*. Bollinger (2) fand bei den Hasen aus dem Kanton Aargau Abscesse am Kopfe, am Halse, an der Unterbrust, am Hinterfüße, im Unterhautzellgewebe, in den Muskeln und in fast allen Organen. Die Milz war vergrößert und enthielt in einem Falle eine Eiteransammlung. Vergleicht man diese Befunde und die früher erwähnten von Leisering, Heusinger, Macgillivray und der Berichterstatter der Jagdzeitschriften mit den von mir beschriebenen Fällen von Staphylokokkeninfektion, so erscheint es als höchst wahrscheinlich, daß man es überall mit ein und derselben Krankheit zu tun hat. Wird der sexuelle Verkehr als Anlaß zu Erkrankung betrachtet, so ist die Bezeichnung Venerie und Syphilis bis zu einem gewissen Punkte gerechtfertigt. Uns schien diese Aetiologie nicht so deutlich gegeben, weil die Krankheit auch außerhalb der Brunstzeit ziemlich häufig auftritt, und daher lassen wir diesen Namen fallen. Zudem ist das Kontagium der Hasenkrankheit nun genau festgestellt und entbehrt in seiner pathogenen Bedeutung jeder Aehnlichkeit mit demjenigen der Syphilis oder mit dem *Gonococcus*.

Bedeutung der künstlichen Düngemittel.

Um der Anfrage der Jagdgesellschaft, ob nicht die Anwendung von künstlichen Düngemitteln auf den Feldern die Ursache der Hasenseuche sein könnte, gerecht zu werden, mußten Versuche mit solchen unternommen werden. Zu diesem Zwecke wurden Kaninchen während je 6 Wochen mit einem der nachstehend erwähnten Düngemittel gefüttert und dann auf ihre Empfindlichkeit für Staphylokokken geprüft. Es gelangten folgende, von der schweizerischen agritektur-chemischen Anstalt Bern untersuchte künstliche Düngemittel zur Verfütterung:

I. Chilisalpeter, enthaltend 15,68 Proz. N = 94,98 Proz. salpetersaures Natron.

II. Thomasmehl mit 14,61 Proz. Gesamt-Phosphorsäure (P_2O_5) und 4,7 Proz. Aetzkalk (CaO).

III. Superphosphat mit 17,6 Proz. wasserlöslicher Phosphorsäure (P_2O_5), 18,89 Proz. Gesamt-Phosphorsäure (P_2O_5), 32,2 Proz. Schwefelsäure (SO_3) entsprechend 69,2 Proz. Gips ($CaSO_4 + 2 H_2O$).

IV. Phosphatgips, enthaltend 3,22 Proz. wasserlösliche Phosphorsäure (P_2O_5), 43,19 Proz. Schwefelsäure (SO_3), entsprechend 92,86 Proz. Gips ($CaSO_4 + 2 H_2O$).

V. Gips mit 34,5 Proz. Schwefelsäure (SO_3), entsprechend 74,18 Proz. Gips ($CaSO_4 + 2 H_2O$).

VI. Kainit mit 13,12 Proz. Kali (K_2O), 24,7 Proz. Natron (Na_2O), 1,46 Proz. Kalk (CaO), 10,17 Proz. Magnesia (MgO), 26,56 Proz. Chlor (Cl), 21,36 Proz. Schwefelsäure (SO_3) und 4,8 Proz. Wasser (H_2O).

Die Art der Verabreichung war für alle genannten Düngemittel die gleiche. Während 6 Wochen wurden, wie schon erwähnt, 3 Kaninchen täglich mit 2 g der betreffenden Substanzen gefüttert. Diese Dosis

schien genügend, um etwaig bestehende schädigende Wirkungen hervorzurufen. Die Einverleibung per os ist die geeignetste, und zu diesem Zwecke wurden mit einem Zusatz von Bolus alba (kieselsaure Tonerde) Pillen gemacht. Das Verfahren ist der einfachen Beimischung der Düngemittel zum Futter entschieden vorzuziehen. Zu beachten ist nur, daß die Pillen nicht zu groß gemacht werden, und deshalb wurden die 2 g je nach der Art des Stoffes bzw. der Menge Bolus, die beigemischt werden mußte, auf 2—3 Pillen verteilt. Hierbei sei gleich die bemerkenswerte Tatsache vorausgeschickt, daß die Verfütterung der erwähnten Düngemittel ganz konstant bei allen Tieren gleich wirkte.

Das Allgemeinbefinden der Tiere war während der Fütterungsdauer nie getrübt und namentlich ihre Freßlust stets normal. Auch machten sich nie Symptome eines Darmkatarrhs bemerkbar. Ebenso kam nie eine Abnahme des Gewichtes vor, im Gegenteil wiesen manche Tiere eine deutliche Zunahme desselben auf. Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß die Aufnahme der genannten Düngemittel bei den Kaninchen keine Störungen der Gesundheit veranlassen.

Da nun die künstlichen Düngemittel als nächste Ursache der Erkrankung nicht gelten können, so blieb noch zu untersuchen, ob sie die Prädisposition für die Staphylokokkeninfektion zu erhöhen imstande seien. Um dies zu prüfen, wurden nach Ablauf der 6-wöchentlichen Fütterungsversuche je 3 gefütterte Kaninchen mit je 3 Kontrollkaninchen subkutan mit 1 ccm einer Bouillonreinkultur eines Staphylokokkenstammes vom Hasen geimpft. Die Tiere wurden alle in kurzer Zeit schwer krank und erlagen bis auf wenige in der Zeit von 1—30 Tagen der Staphylokokkeninfektion. Die noch überlebenden Tiere erholten sich nie vollständig. Die Freßlust verbesserte sich allmählich; aber die Tiere magerten beständig ab und wurden dann getötet. Es muß jedoch bemerkt werden, daß nie ein Unterschied in der Wirkung der Staphylokokken zwischen Fütterungs- und Kontrollkaninchen festzustellen war. Bald erlagen die Tiere der einen, bald die der anderen Versuchsgruppe eher der Krankheit. Das Sektionsbild war durchwegs dasjenige einer typischen Staphylokokkeninfektion und bestand hauptsächlich in: Absceßbildungen unter der Haut, in den Muskeln und Gelenken, myokarditischer Abscesse; Pneumonie; Pleuritis; Milzschwellung; Leber- und Nierenabscesse; in den meisten Fällen auch Gastroenteritis.

Während ursprünglich beabsichtigt war, die Fütterungsversuche auf die 3 ersterwähnten Düngemittel zu beschränken, erhielten wir im November 1904 durch die freundliche Vermittelung des Herrn Notar Stirnemann in Gränichen eine Abhandlung aus dem „Deutschen Jäger“, betitelt „Kunstdünger und Wild“, in dem das Eingehen der Hasen hauptsächlich auf das Ausstreuen von Gips zurückgeführt wird. Diese Mitteilung veranlaßte uns, Versuche mit gipshaltigen Düngemitteln zu machen. Um die Untersuchungen zu ergänzen, wurden, obschon eine genaue Arbeit hierüber vorliegt [Feser, München (3)], noch Fütterungen mit Kainit unternommen.

Es folgen hier die Versuche:

I. Chilisalpeter. Fütterungszeit 19. Juni bis 31. Juli 1904
Impfung 31. Juli.

Fütterungskaninchen	1.	Tod am	2. August.
„	2.	„	11. „
„	3.	Bleibt am	Leben.

Kontrollkaninchen	1.	Tod am 12. August.
"	2.	" " 25. "
"	3.	" " 8. "

II. Thomasmehl. Fütterungszeit 19. Juni bis 31. Juli 1904.
Impfung 31. Juli.

Fütterungskaninchen	1.	Tod am 26. August.
"	2.	Bleibt am Leben.
"	3.	Tod am 5. August.
Kontrollkaninchen	1.	Bleibt am Leben.
"	2.	" " " "
"	3.	Tod am 19. August.

III. Superphosphat. Fütterungszeit 1. August bis 9. September
1904. Impfung 9. September.

Fütterungskaninchen	1.	Tod am 16. September.
"	2.	Bleibt am Leben.
"	3.	Tod am 10. Oktober.
Kontrollkaninchen	1.	Tod am 12. September.
"	2.	" " 19.
"	3.	Bleibt " am Leben."

IV. Phosphatgips. Fütterungszeit 8. Januar bis 18. Februar
1905. Impfung 18. Februar.

Fütterungskaninchen	1.	Tod am 28. Februar.
"	2.	" " 20. "
"	3.	" " 15. März.
Kontrollkaninchen	1.	Tod am 20. Februar.
"	2.	" " 22. "
"	3.	Bleibt am Leben.

V. Gips. Fütterungszeit 8. Januar bis 18. Februar 1905. Impfung
18. Februar.

Fütterungskaninchen	1.	Tod am 24. März.
"	2.	Bleibt am Leben.
"	3.	Tod am 25. Februar.
Kontrollkaninchen	1.	Tod am 4. März.
"	2.	" " 20. Februar.
"	3.	Bleibt am Leben.

VI. Kainit. Fütterungszeit 6. Februar bis 18. März 1905. Impfung
18. März.

Fütterungskaninchen	1.	Tod am 20. April.
"	2.	" " 20. März.
"	3.	Bleibt am Leben.
Kontrollkaninchen	1.	Bleibt am Leben.
"	2.	Tod am 24. März.
"	3.	" " 12. April.

Die Verfütterung der zuletzt erwähnten Düngemittel beeinflusste somit die Prädisposition für die Staphylokokkenkrankheit in keiner Weise.

Nach dem Ergebnis der vorstehenden Untersuchungen erscheint es als höchst unwahrscheinlich, daß in der Verwendung künstlicher Düngemittel die Ursache des seuchenhaften Eingehens der Hasen im Jagdbezirk Gränichen zu suchen ist.

II. Andere Arten von Todesursachen.

In Gränichen fielen bis auf eine einzige Ausnahme, die weiter unten Erwähnung findet, alle tot aufgefundenen Hasen infolge der Staphylokokkeninfektion und je ein Fall dieser Krankheit wurde auch in Baden im Aargau und in Sissach konstatiert. Dagegen waren die Todesursachen bei Tieren aus anderen benachbarten Revieren, wie aus folgendem hervorgeht, ganz verschieden. Hier handelt es sich stets nur um vereinzelte Todesfälle. Ihr Vorkommen beweist, daß auch in der Hasenpathologie nicht alles einerlei ist und ferner, daß die Staphylokokkeninfektion auf bestimmte Gebiete beschränkt bleibt. Aus seitherigen Erkundigungen geht hervor, daß sie nach einiger Zeit, wie viele andere Seuchen, spontan aufhört.

A. Colibacilleninfektion.

a) 14. April 1904. Rammler. Gewicht 3,5 kg.

Herz groß, 60 g schwer. In der rechten Kammer viel gut geronnenes Blut. Pleura glatt und glänzend. Lungen groß und blutreich. Sämtliche Lappen bis auf den rechten Vorderlappen lufthaltig. Letzterer an seinem vorderen Rande auf eine Ausdehnung von 2 cm mit zahlreichen weißen Pünktchen durchsetzt und zum größten Teil luftleer. Milz groß, 10 g schwer, Kapsel gespannt, Pulpa fest, trocken und von dunkler Farbe. Leber groß, 120 g schwer, das Gewebe blutreich und von normaler Konsistenz. Beide Nieren von normaler Größe, zusammen 22 g schwer, Kapsel löst sich leicht. Im Magen eine mäßige Menge Inhalt, Schleimhaut blaß. Im Dünndarm viel Chymus. Im Dickdarm viel dünnbreiiger, im Mastdarm normal gebohnter Inhalt. Schleimhaut in allen Darmabschnitten blaß. Gewicht der Hoden 30 g.

Bakteriologische Untersuchung:

Mikroskopisch und kulturell werden in den Organen Coli-Bacillen nachgewiesen.

Resumé: Pneumonie, Enteritis, Milzschwellung, allgemeine Coli-Bacilleninfektion.

Tierversuche. Bei 2 Kaninchen und 2 Mäusen wurden kranke Gewebsteile subkutan in der gewohnten Weise verimpft. Wenige Stunden nach der Impfung sind die Tiere krank. Sie sitzen mit gestäubten Haaren in einer Ecke des Käfigs und versagen jede Futteraufnahme. Dieser Zustand dauert bei den Kaninchen ca. 2 Tage, bei den Mäusen jedoch nur einige Stunden an. Nach und nach erholen sich sämtliche Tiere wieder.

b) 20. April 1904. Rammler. Gewicht 3 kg.

Ziemlich mageres Tier. Auf der Haut ein Exemplar von *Ixodes ricinus*. Herz verhältnismäßig klein, 50 g schwer. Lungen groß und blutreich, Blutgehalt stark herabgesetzt. Das Gewebe bis auf einen bohnen großen luftleeren Abschnitt am rechten Rande überall lufthaltig und ödematös. In den Bronchien sehr viel feinblasiger Schleim. Milz sehr groß, 25 g schwer, Kapsel glänzend, Pulpa weich. Leber groß, 170 g schwer, das Gewebe blutreich und von guter Konsistenz. Nieren blutreich, zusammen 30 g schwer, das Gewebe weich, die Markssubstanz etwas ödematös. Im Magen etwas normaler Inhalt, in der Schleimhaut einige Blutungen. Im Dünndarm ziemlich viel flüssiger, sehr schleimreicher Inhalt. Im Dickdarm eine mäßige Menge ziemlich weicher Inhalt, außerdem einige Exemplare von *Trichocephalus unguiculatus*, Schleimhaut cyanotisch. Die Bohnen des Rectums etwas weich. Hoden ziemlich schlaff, Gewicht 30 g.

Bakteriologische Untersuchung:

Mikroskopisch und kulturell werden in den verschiedenen Organen Coli-Bacillen nachgewiesen. Im Strichpräparate des luftleeren Abschnittes der Lunge sehr viele Exemplare von *Strongylus commutatus*.

Resumé: Bronchopneumonische Infiltration eines Lungenabschnittes durch *Strongylus commutatus*, Gastroenteritis, *Trichocephalus unguiculatus* im Dickdarm, Milzschwellung, Nephritis, *Ixodes ricinus* auf der Haut, allgemeine Coli-Bacilleninfektion.

Tierversuche. Wie bei Fall a) negativ.

B. Pyämie nach Schußverletzung.

18. Dez. 1903. Rammler. Gewicht 3 kg.

Mageres Tier. Die Umgebung des Afters mit Kot beschmutzt. An der Basis

des Schwanzes unmittelbar neben dem After eine auf die Haut beschränkte Schußverletzung mit jauchigem, nekrotischem Grund. Eine seröse Infiltration, von der Verletzung ausgehend, erreicht am linken Schenkel das Kniegelenk. Herz klein, 30 g schwer. Die Lungen groß und ödematös, mit geringem Blutgehalt. Milz klein, Kapsel glatt, Pulpa weich und vorgewölbt, Gewicht 5 g. Leber groß und blutreich, Gewicht 230 g. Nieren verhältnismäßig klein, Gewicht 10 g. Im Magen nur Schleim, Schleimhaut gerötet. Im Dünndarm etwas Schleim, Schleimhaut blaß. Im Dickdarm nur dünner Inhalt, Schleimhaut ebenfalls blaß, Mastdarm leer.

Mikroskopische Untersuchung:

In den Strichpräparaten des Eiters zahlreiche lange Bacillen, deren einige mit Köpfchensporen versehen sind. Einzeln findet man auch Kokken. In der Milz ist der Befund negativ.

Resumé: Infizierte Schußwunde, Lungenödem, Gastroenteritis.

C. Coccidiose des Darmes.

20. August 1903. Häsin. Gewicht 3,2 kg.

Großes mageres Tier. Herz kontrahiert, Gewicht 35 g. Das Blut noch flüssig und rot. Die Lungen blutreich, überall lufthaltig, zusammengefallen. Milz ziemlich groß, Kapsel runzelig. Leber blutreich. An den Nieren nichts Besonderes. Im Magen eine mäßige Menge von Futter, mit sehr viel Schleim überzogen. Im Duodenum viel flüssiger, schwachblutiger, nur aus Schleim bestehender Inhalt, Schleimhaut blaß. Im Blinddarm ziemlich viel weicher Inhalt, ebenso im Colon. Im Mastdarm ist der Inhalt in einen homogenen Brei verwandelt.

Mikroskopische Untersuchung:

Im Dünndarm sehr viele ovale, grobkörnige Körper von der Größe und Gestalt der Coccidien. Im Dickdarm sehr viele kleinere, runde Körner und einige feste Coccidien. In den Schnitten vom Darm sind die Coccidien sehr gut wahrnehmbar.

Resumé: Coccidiose des Darmes, Milzschwellung.

Zusammenfassung.

1) Bei den Hasen kommt eine seuchenartige Erkrankung, hervorgerufen durch *Staphylococcus pyogenes albus*, vor. Als hauptsächlichste pathologisch-anatomische Veränderungen sind zu nennen: Ausgedehnte Eiterungen in der Haut, im Unterhautzellgewebe und in den Muskeln. Abscesse im Pericardium, Myocardium, unter dem Endocardium, in den Lungen, im Zwerchfell, in den Bronchiallymphdrüsen, in der Milz, in der Leber, Niere und in den Mesenterialdrüsen. Seltener findet man diese Abscesse im Magen, Darm und den Knochen. Regelmäßig ist eine mehr oder weniger heftige Gastroenteritis vorhanden.

2) Der Krankheit erliegen junge und alte Tiere. Die Seuche bleibt auf bestimmte Reviere beschränkt und verschwindet nach unseren Beobachtungen wie viele andere Seuchen nach gewisser Zeit.

3) Der *Staphylococcus pyogenes albus* vom Hasen erwies sich pathogen für Kaninchen, weiße und graue Mäuse, Tauben und in ganz geringem Maße auch für Meerschweinchen.

4) Als Eingangspforten des *Staphylococcus* sind zu nennen: die Haut und der Verdauungstraktus. Auf der Haut befinden sich nicht selten Flöhe (*Pulex gonocephalus*), deren Speicheldrüsen beinahe regelmäßig Staphylokokken enthalten. Die Staphylokokkeninfektion kommt auf einfachste Art zu stande, indem der Floh ein Tröpfchen Speichel in die Stichwunde ergießt. Auch die Speicheldrüsen von *Pulex irritans* und *Pulex serraticeps* enthalten häufig Staphylokokken.

5) Der Genuß mäßiger Gaben von Chilisalpeter, Thomasmehl, Superphosphat, Phosphatgips, Gips und Kainit ist für Kaninchen ungefährlich. Es erscheint im höchsten Grade unwahrscheinlich, daß die Verwendung dieser Substanzen als Düngemittel auf den Feldern die Entstehung der Staphylokokkeninfektion bei den Hasen befördern kann.

6) Seltener Todeursachen bei wildlebenden Hasen sind: Colibacilleninfektion, Pyämie nach Schußverletzung und Coccidiose des Darmes.

Vorliegende Arbeit wurde in dem veterinär-pathologischen Institute der Universität Bern auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. Guillebeau ausgeführt.

Es sei mir gestattet, Herrn Professor Dr. Guillebeau an dieser Stelle für die freundliche Anregung zu dieser Arbeit, sowie für seine liebenswürdige Unterstützung meinen ergebensten Dank auszusprechen. Desgleichen danke ich bestens Herrn Dr. Paul Liechti, Direktor der agrikulturchemischen Anstalt Bern, für seine freundliche Mithilfe.

Literatur.

- 1) Anacker, Der Tierarzt. 1865. p. 12.
- 2) Bollinger, Virchows Archiv. Bd. LIX. 1874. p. 349.
- 3) Feser, Dissertation Bern, 1903.
- 4) Fröhner, Handb. d. tierärztl. Chir. 1895.
- 5) Guillebeau, Mitteil. d. naturforsch. Gesellsch. in Bern. 1883.
- 6) Heusinger, Recherches de pathologie comparée. 1897.
- 7) Kitt, Lehrb. d. pathol.-anat. Diagnostik. Bd. II. 1895. p. 319.
- 8) Kocher und Tavel, Vorlesungen über chirurgische Infektionskrankheiten. 1. Teil. 1895.
- 9) Kolle und Wassermann, Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. Bd. III. p. 130.
- 10) Leisering, Bericht über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen für das Jahr 1862. p. 16.
- 11) Lingelsheim, Aetiologie und Therapie der Staphylokokkeninfektion. (Beiträge z. experiment. Therapie von Behring. 1900. Heft 1.)
- 12) Macgillivray, Ref. in der Oesterr. Vierteljahrsschr. f. wissenschaftl. Veterinärkunde. Bd. XXXVII.
- 13) Kraepelin, Die systematische Stellung der Puliciden. 1883.
- 14) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. X. p. 775.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums in Zürich.]

Von P. Ankersmit.

(Schluß.)

B. Quantitative bakteriologische Analyse. Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Pansen	Labmagen	Dünndarm	Mastdarm	
Gel.-Pl.	500 000	100 000	90 000	1 040 000	
D.-Agar h. Sch.	9 000 000	70 000	42 000	800 000	
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl.	Güntheri + andere	Bodenbakterien	Bodenbakterien	Mesentericus + andere
	h. Sch. K.	Güntheri	Säurebildner + Güntheri	Coli + Güntheri	Coli + Güntheri

C. Qualitative bakteriologische Analyse.

a) Pansen. Nur die A-Platte enthielt eine große verflüssigte Megatherium-Kolonie. Die meisten anderen Kolonien waren fast ausschließlich kleine Pünktchen,

die bei mikroskopischer Untersuchung typische und krankhafte Güntheri-Stäbchen erkennen ließen. Außer den 80 Proz. Güntheri-Kolonieen fanden sich 10 Proz. verflüssigte und nicht verflüssigte Kokken, und der Rest bestand aus Coli-ähnlichen und anderen Typen.

Die Kulturen i. h. Schicht ließen wieder fast ausschließlich Güntheri-Kolonieen erkennen. Gas war nicht gebildet.

b) Labmagen. Die A- und B-Platte waren ganz verflüssigt durch Megatherium- und Mesentericus-Kolonieen. Von den 15 Kolonieen der C-Platte waren 9 Mesentericus und 3 Megatherium. Eine abgeimpfte Kolonie der ersteren ergab das Kulturbild des roten Kartoffelbacillus.

Die anaëroben Kulturen zeigten nur in der A-Röhre einige Gasbläschen. Die 12 Kolonieen der C-Kultur wurden alle mikroskopisch untersucht. 4 von diesen waren Güntheri, 3 stark zur Involution neigende Stäbchen, 2 Coli-ähnliche, unbewegliche Kurzstäbchen und 3 bewegliche Stäbchen, die nach Abimpfung auf Kartoffel den Mesentericus-Typus zeigten.

c) Dünndarm. Die Platten waren fast vollständig verflüssigt durch die verschiedenen sporenbildenden Bodenbakterien. Auch waren Kolonieen von lebhaft beweglichen Coli-Stäbchen nicht selten.

In der A-Kultur der anaëroben Röhren war eine starke Gasbildung zu verzeichnen. B und C zeigten nur einige wenige Gasbläschen. Vorherrschend waren Kolonieen der Coli-Gruppe, Güntheri verhältnismäßig selten. Auch der rote Kartoffelbacillus konnte hier wiederum nachgewiesen werden.

d) Mastdarm. Die Platten waren alle 3 fast vollständig verflüssigt durch Mesentericus-Kolonieen. Auf der C-Platte waren diese neben wenigen Coli-artige Stäbchen zeigenden Kolonieen die vorherrschenden.

In der A- und B-Kultur der anaëroben Röhren war sehr viel Gas gebildet, in C nur einige Bläschen. Es ließen sich fast gleichviel Güntheri als Coli-Kolonieen nachweisen, während auch rote Kartoffelbacillenkolonieen nicht selten waren.

Um die Sporenzahl im Mastdarminhalt festzustellen, wurde dieses pasteurisiert und auf Gelatineplatten in geeigneten Verdünnungen verarbeitet. Die Hauptrolle spielten auch hier die Kartoffelbacillen und andere verflüssigende Bakterienarten. Die berechnete Sporenzahl pro 1 g Substanz betrug $\frac{1}{2}$ von der im nicht pasteurisierten Material. Die meisten der gefundenen Kolonieen der großen sporenbildenden Bodenbakterien hatten also ihren Ursprung aus Sporen genommen.

Das Bild der Bakterienflora, welches der vorliegende Versuch entrollt, stimmt im allgemeinen gut mit den vorigen überein. Auf eine ausgesprochene Entwicklung der Milchsäurebakterien im Pansen folgt eine Massenvernichtung der Keime im Labmagen; im Dünndarm tritt Bact. coli neben Güntheri und anderen auf, im Mastdarm findet eine ganz bedeutende Steigerung der Keimzahl statt, die hier zum Teil auf eine starke Entwicklung der großen sporenbildenden Bodenbakterien zurückzuführen ist.

3. Zur Frage der Sterilität des Dünndarms.

Um die Behauptung Kohlbrugges (17), „Der leere Dünndarm ist steril“, auch für das Rind zu prüfen, haben wir ein leeres Dünndarmstück abgebunden, im Laboratorium zuerst mit Wasser, nachher mit Sublimat und Alkohol gut gereinigt, mit der Flamme abgesengt, und 1 g der stark schleimigen, geruchlosen, neutral reagierenden Masse auf Gelatineplatten und Kulturen in hoher Schicht in geeigneten Verdünnungen verarbeitet.

Das gefärbte Präparat wies zwar eine Unmenge von Epithelzellen, aber nur ganz vereinzelte Kurzstäbchen auf.

Die Gelatineplatten ließen eine Keimzahl von 30000, die anaëroben Kulturen eine solche von 36000 pro 1 g Substanz berechnen.

Auf den Gelatineplatten kamen neben wenigen Güntheri fast ausschließlich Coli-Kolonieen vor. Die Kulturen in hoher Schicht, wo eine ziemlich starke Gasbildung eingetreten war, zeigten vorherrschend Güntheri, etwas weniger Coli-Kolonieen.

Wie aus den Zahlen ersichtlich, konnte im vorliegenden Falle von einem Sterilsein im eigentlichen Sinne des Wortes nicht die Rede sein, wenn auch die Keimzahlen 30 000 und 36 000 pro 1 g bzw. 30 und 36 pro 1 mg Substanz als sehr niedrig bezeichnet werden müssen. Sehr bemerkenswert erscheint daneben die Tatsache, daß wir manchmal in dem mit Ingesta stark gefüllten Dünndarm noch niedrigere Keimzahlen konstatieren konnten.

4. Die Bakterienflora des Blinddarmes beim Rinde.

Aus den bei 15 Rindern vorgenommenen Untersuchungen ist mit Deutlichkeit hervorgegangen, daß die Keimzahlen im Mastdarm immer bedeutend höher sind als im Dünndarm. Es schien nun von Interesse, auch den bisher nicht berücksichtigten Blinddarm in den Kreis der Untersuchungen zu ziehen. Vielleicht konnten die Ergebnisse einiges Licht verbreiten über die Keimvermehrung im Mastdarm, zum mindesten lohnte sich die Frage zu untersuchen, ob beim Rinde die Verhältnisse so liegen, daß der Blinddarm als eigentliche Brutstätte des *Bact. coli* zu betrachten sei, eine Ansicht, die bezüglich des Menschen von verschiedenen Autoren geäußert worden ist.

A. Vorläufige Prüfung.

Die 5 für den genannten Zweck in Arbeit genommenen Blinddärme stimmten in Reaktion, Geruch und Konsistenz vollkommen überein. Die Reaktion war alkalisch, sie rochen schwach nach Kuhkot und zeigten eine dickflüssige, breiige Konsistenz.

Direkte mikroskopische Untersuchung (gefärbtes Präparat).

In allen 5 Präparaten ließen sich zwar bedeutend mehr Bakterien als in denen von Labmagen und Dünndarm nachweisen, dagegen entschieden weniger als in den Pansenpräparaten. Typische Güntheri zu 2 und in 4-gliedrigen Kettchen waren neben Kurzstäbchen immer zu erkennen, dagegen ließen sich Langstäbchen nur selten sehen, wohl aber zahlreiche Sporen.

B. Quantitative bakteriologische Analyse. Keimzahlen pro 1 g Substanz.

Blinddarm	I	II	III	IV	V	
Gelatineplatten	450 000	130 000	280 000	120 000	600 000	
D.-Agar h. Sch.	600 000	1 300 000	300 000	450 000	1 800 000	
Vorherrsch. Bakterien- arten	Gelatine- platten	<i>Coli</i> + <i>Mesentericus</i>	<i>Mesentericus</i> + Kokken	<i>Coli</i>	<i>Coli</i> + <i>Pseudopek- tinvergärer</i>	<i>Mesentericus</i> + andere
	h. Sch. K.	<i>Coli</i> + Güntheri	Güntheri	<i>Coli</i> + Güntheri	Güntheri	Güntheri

C. Qualitative bakteriologische Analyse.

Blinddarm I. Die Gelatineplatten ließen neben wenigen verflüssigten *Mesentericus*-Kolonien weit vorherrschend *Coli*-Kolonien erkennen.

In den anaëroben Kulturen war eine kräftige Gasbildung eingetreten. Weitaus die meisten Kolonien bestanden aus unbeweglichen *Coli*-ähnlichen Stäbchen. Nach Abimpfung auf Gelatinestrich und Dextroseagarschüttelkultur wiesen sie sowohl eine starke Gasbildung als auch das typische *Coli*-Wachstum auf. Auch kamen vereinzelt Kolonien von typischen und weniger typischen Güntheri-Stäbchen vor. Aus der B-Kultur wurde ein Pektinvergärer isoliert.

Blinddarm II. Die A- und B-Platte war vollständig verflüssigt. Die C-Platte ließ vorherrschend *Mesentericus*-Kolonien erkennen, während gelbe Kokkenkolonien relativ häufig vorkamen.

In den Kulturen i. h. Schicht war kein Gas gebildet. Von den 15 Kolonien der C-Kultur waren 12 Güntheri-Kolonien, die regelmäßig stark Involutionsformen bildende Doppelstäbchen oder 4-gliedrige Kettchen erkennen ließen. Eine Abimpfung auf Milch hatte nach 4 Tagen dieselbe noch nicht zum Gerinnen gebracht, obwohl durch Titration nachgewiesen wurde, daß eine Säureproduktion stattgefunden hatte.

Blinddarm III. Die Platten waren fast ausschließlich mit Kolonien des Coli-Typus besetzt. Daß es sich wirklich um Vertreter der Coli-Gruppe handelte, wurde durch Zuckeragarschüttelkulturen besonders nachgewiesen. Nur wenige verflüssigte Megatherium- und Mesentericus-Kolonien zeigten sich neben den genannten.

Die Kulturen i. h. Schicht wiesen eine stark zerrissene Agarmasse auf, was nur geeignet war, die Anwesenheit von Vertretern der Coli-Gruppe weiter zu bestätigen. Tatsächlich ließen sich entsprechende Formen denn auch recht häufig nachweisen und bildeten die Mehrzahl der Kolonien. Der Rest bestand ausschließlich aus Güntheri-Kolonien, die zum Teil recht typische, zugespitzte Doppelstäbchen im hängenden Tropfen zeigten.

Blinddarm IV. Coli-Kolonien waren auf den Gelatineplatten die vorherrschenden. Daneben ließen sich recht häufig halbkugelförmig erhabene Kolonien von pektinvergärerähnlichen Stäbchen sehen, welche sich aber wie Nichtpektinvergärer verhielten. Auch andere Kolonien nicht näher bekannter Stäbchen waren vereinzelt auf den Platten zu finden. Daneben ließen sich auch Kolonien der mehrfach erwähnten unbeweglichen Sporenbildner aus Erde sehen. Die anaëroben Kulturen wiesen eine mäßige Gasbildung auf. Neben Coli oder Aërogenes waren Güntheri-Kolonien entschieden vorherrschend.

Blinddarm V. Mehr als die Hälfte der Kolonien auf den Platten waren verflüssigte Mesentericus. Daneben kamen verschiedenartige, nicht näher untersuchte Typen vor. Ziemlich häufig waren etwas erhabene, aber immerhin Coli-ähnliche Kolonien, aus lebhaft beweglichen Stäbchen bestehend, welche indessen die Dimensionen normaler Coli bedeutend überschritten.

Die Kulturen i. h. Schicht zeigten nur eine schwache Gasbildung. Die C-Kultur enthielt fast ausschließlich Güntheri-Kolonien. Obwohl die Molkenagarstiche typisches Güntheri-Wachstum zeigten, vermochten solche Stämme die Milch nach 3 Tagen bei 30° noch nicht in Gerinnung zu bringen.

Ein Blick auf die Artzusammensetzung dieser 5 Blinddärme zeigt uns, daß Güntheri und Coli auch hier die Hauptrolle spielen. Was die Quantität betrifft, so stellen sich gegenüber Labmagen und Dünndarm die Keimzahlen beträchtlich höher; den Blinddarm des Rindes aber als Brutstätte der Coli und Güntheri zu betrachten, scheint uns nicht zulässig, wenigstens nicht in dem Sinne, in welchem einige Autoren (Kohlbrugge, Rahner, Ballner u. a.) ihre diesbezüglichen, bei Versuchen mit Menschen, Hühnern und Kaninchen erhaltenen Resultate deuten. Güntheri und Coli finden sich, wie wir gesehen haben, sozusagen immer, wenigstens in den unteren Partien des Verdauungsweges vor, sogar im leeren Darm. Eine ausgiebige Entwicklung dieser Art bei Eintritt günstiger Verhältnisse ist also wohl denkbar, ohne daß man, sei es für den unteren Dünndarm, sei es für den Mastdarm eine Einwanderung bzw. Infektion vom Blinddarm aus anzunehmen braucht. Was die anderen Bakterienarten betrifft, so dürften sich diese wohl hauptsächlich in Sporenform im Blinddarm vorfinden, wenigstens vermochten wir die bei der letzten Probe durch Verarbeitung des pasteurisierten Materials auf Agarplatten, und Vergleichung mit den nicht pasteurisierten Material der Gelatineplatten zu beweisen. In den Kulturen in hoher Schicht von pasteurisiertem Material konnten auf dem Wege direkter Aussaat, trotz der schwachen angewendeten Verdünnungen, keine Anaëroben nachgewiesen werden.

5. Nachweis von Cellulose vergärenden Bakterien.

Bei dem quantitativen Nachweis der Cellulose vergärenden Mikroben haben wir uns des Verdünnungsverfahrens in Verbindung mit der elektiven Kultur bedient. Das verwendete Nährsubstrat wurde nach den Angaben von Omelianski hergestellt (1 g K_2HPO_4 , 0,5 g $MgSO_4$, 1 g $(NH_4)_2SO_4$, etwas NaCl auf 1000 ccm Aq. dest.). Die Nährflüssigkeit füllten wir in ca. 120 cm hoher Schicht in weite Reagenzgläser und fügten dazu die Cellulose in Form von Filtrierpapierstreifen nebst einem

Quantum von kohlen saurem Kalk zur Bindung der entstehenden Säuren. Die letzten 9 der früher aufgeführten 15 Serien von Proben sind auf Cellulosevergärer quantitativ geprüft worden, indem wir je 1 Glas mit obigem Nährboden, mittels steriler Pipetten aus den hergestellten Verdünnungen mit $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{1000}$, $\frac{1}{2000}$ und $\frac{1}{10000}$ g der zu prüfenden Substanz impften. Die Kulturen brachten wir sofort in den auf 37° eingestellten Brutschrank, wo sie bis 4 Wochen verblieben. Nach 10—15 Tagen zeigten diejenigen, bei welchen eine Vergärung der Cellulose eingetreten war, zuerst eine Löcherbildung in dem Papier, nachher wurde dieses welk, um nach verschiedenen langer Zeit auf dem Boden der Eprouvette als grobflockige Masse zurückzubleiben. Meist war die Cellulosevergärung von einer starken H₂S-Entwicklung begleitet. Wir lassen in einer kleinen Tabelle die diesbezüglichen Ergebnisse folgen. Ein — bedeutet, daß keine Gärung eingetreten ist, ein ×, daß die betreffende Darmabteilung überhaupt nicht untersucht worden ist.

Probe No.	Pansen		Labmagen		Dünndarm		Mastdarm	
	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.	nicht past.	past.
7	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g	—	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ " $\frac{1}{1000}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "
8	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ " $\frac{1}{1000}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{1000}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "
9	—	—	—	—	$\frac{1}{100}$ g $\frac{1}{1000}$ "	$\frac{1}{100}$ g	×	×
10	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g	$\frac{1}{10}$ g	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{1000}$ "	×	×
11	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ " $\frac{1}{1000}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ " $\frac{1}{1000}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{100}$ "	×	×
12	—	—	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{1000}$ " $\frac{1}{2000}$ "	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{1000}$ "	—	—	×	×
13	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{1000}$ "	×	$\frac{1}{10}$ g $\frac{1}{1000}$ " $\frac{1}{2000}$ "	×	$\frac{1}{100}$ g $\frac{1}{2000}$ "	×	$\frac{1}{100}$ g $\frac{1}{1000}$ " $\frac{1}{2000}$ "	×
14	—	×	—	×	—	×	$\frac{1}{100}$ g	×
15	—	×	$\frac{1}{100}$ g	×	$\frac{1}{100}$ g $\frac{1}{1000}$ "	×	$\frac{1}{100}$ g $\frac{1}{1000}$ "	×

Aus der Tabelle ist zunächst ersichtlich, daß in keinem einzigen Fall 10000 Cellulosevergärer pro 1 g Substanz nachzuweisen waren. Nur bei der 12. und 13. Probe ist noch in der Verdünnung von $\frac{1}{2000}$ g deutliche Cellulosegärung eingetreten. Auffallen muß, daß im Pansen, wo nach Tappeiners Angaben die intensivste Cellulosegärung vor sich gehen soll, nur relativ wenig Erreger dieser Gärung gefunden werden konnten, ja in der 9., 12., 14., und 15. Probe nicht einmal 10 Keime pro 1 g Substanz vom Pansen. Sodann geht aus der Tabelle hervor, daß wenigstens ein großer Teil der Cellulosevergärer in Form von Sporen vorhanden war, was nicht zu Gunsten einer lebhaften Beteiligung dieser Mikroben bei den im Verdauungskanal sich abspielenden chemischen Umsetzungen spricht. Auch die gefundenen mittleren Keimzahlen, 100

und 1000 pro 1 g im Labmagen, Dünndarm und Mastdarm sind so klein, daß für sie dasselbe gilt, wie für die Zahlen beim Pansen. Gegen eine wesentliche Vermehrung von Cellulose vergärenden Bakterien im Verdauungstraktus des Rindes spricht auch folgender Befund: Wir haben unter Anwendung desselben Verfahrens versucht, die Cellulosevergärungerreger in 10 verschiedenen Heuproben nachzuweisen und sind dabei zu Zahlen gelangt, welche ungefähr den in der Tabelle angeführten entsprachen. Solche Mengen der fraglichen Organismen, wie man sie im Verdauungstraktus des Rindes findet, sind also unter Umständen schon im Futter enthalten.

So deutlich alle diese Ergebnisse dafür zu sprechen scheinen, daß sich die Cellulosevergärungerreger auf ihrem Wege durch den Verdauungskanal des Rindes nicht wesentlich vermehren, und dementsprechend hier auch keine praktische Rolle spielen, so sehen wir doch davon ab, diese Konsequenz zu ziehen, und zwar aus dem Grunde, weil wir keinen Anhaltspunkt haben über die Empfindlichkeit der angewendeten Methode des Nachweises von Cellulose vergärenden Organismen. Nicht nur fehlt der Nachweis, daß vereinzelte Keime dieser Art, wenn sie in den Omelianskischen Nährboden gelangen, sich hier wirklich vermehren können und durch die eintretende Gärung dem Nachweis zugänglich werden, sondern es bestehen sogar auf Erfahrung gestützte Gründe zu der Annahme, daß in den Versuchsgefäßen die Gärung nur in Gang kommt, wenn eine gewisse Vielheit der betreffenden Organismen z. B. ein ganzes Stückchen Papier einer schon in Gärung begriffenen Kultur, auf den sterilen Nährboden übertragen wird. Es ist also auch die Annahme erlaubt, daß mit den Aussaaten der stärkeren Verdünnungen von Magen- oder Darminhalt tatsächlich Cellulosevergärer auf den spezifischen Nährboden gelangt, aber dort nicht zur Entwicklung gekommen sind. Andererseits müßten aber auch bei allen Mängeln der Nachweismethode sich doch gewisse Differenzen erkennen lassen, und daß man im Futter kaum weniger der gesuchten Organismen trifft als in den in Verdauung begriffenen Materialien, ist zum mindesten als auffallend zu bezeichnen. Zu den schon angeführten Gründen welche gegen eine Anteilnahme der Omelianskischen Cellulosevergärungerreger sprechen, ließen sich noch die 3 folgenden anführen: 1) Die langsame Entwicklung und vor allem die lange Inkubationszeit (etwa 10 Tage bei Rohkulturen) dieser Bakterien, 2) die Tatsache, daß auch andere obligate Anaerobien im Verdauungskanal anscheinend sich nicht in nennenswertem Maße vermehren und 3) das bei mikroskopischer Durchmusterung vom Magen- und Darminhalt außerordentlich spärlich zu beobachtende Vorkommen von Stäbchen, welche den Habitus der Cellulose vergärenden Bakterien zeigen. Natürlich haben wir keine Sicherheit darüber, ob die von Omelianski entdeckten Organismen die einzigen Cellulosevergärer sind¹⁾. Die Möglichkeit bleibt noch offen, daß speziell im Pansen sich andere Arten betätigen, welche auf dem Anreicherungswege nach Omelianski nicht nachgewiesen werden können. Jedenfalls ist der auf chemischem Wege

1) In neuerer Zeit hat van Iterson (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 609) Beobachtungen mitgeteilt, nach welchen Cellulosevergärung auch bei Luftzutritt möglich ist, und zwar entweder bei Gegenwart von Salpeter durch gewisse denitrifizierende Arten, welcher Vorgang im Verdauungsapparat des Rindes wohl kaum in Betracht fällt, und sodann durch einen nicht sporenbildenden, als *Bacillus ferrugineus* bezeichneten Organismus, der in Erde, Wasser, Schlamm etc. allgemein verbreitet zu sein scheint. Genauere Angaben über diese Art, deren Reinkultur gelungen sein soll, stehen unseres Wissens noch aus.

nachgewiesene und in bedeutendem Umfange im Verdauungskanal des Rindes sich abspielende Prozeß der Celluloselösung, in seinen Ursachen noch nicht aufgeklärt und vielleicht wird die endgültige Lösung der Frage doch noch im Sinne von Hofmeister und Holdefleiss erfolgen, welche versuchten, die Cellulosegärung im Verdauungstraktus des Rindes auf bestimmte Enzyme der Magen- und Darmsäfte zurückzuführen.

6. Nachweis von Hemicellulosen und Pektinstoffe vergärenden Bakterien.

Wir haben uns auch bemüht, Anhaltspunkte über die Entwicklung derjenigen Bakterien zu erlangen, die nicht die Cellulose, wohl aber gewisse verwandte Substanzen, so namentlich Pektinstoffe und Reservecellulose angreifen, welche Stoffgruppen wohl zweckmäßig unter der von E. Schulze eingeführten Bezeichnung „Hemicellulosen“ vereinigt werden. Als Nährboden diente uns für diesen Zweck ein Kartoffelstengelchen, das von einer Mineralsalzlösung (1 g K_2HPO_4 , 0,2 g $MgSO_4$, Spuren $CaCl_2$ auf 1000 ccm Wasser) im Reagenzglas übergossen war. Ein Zusatz von Calciumkarbonat diente zur Abstumpfung der schädlichen Säuren. Die echten Hemicellulosenvergärer bilden schon nach kurzer Zeit in diesem Nährboden sehr viel Gas, das an der Oberfläche der Flüssigkeit eine kräftige Schaumdecke erzeugt. Nach einigen Tagen fällt das Kartoffelstengelchen von selbst oder wenigstens bei leichtem Schütteln auseinander. Eine mikroskopische Prüfung solcher Kulturen läßt erkennen, daß nicht nur die Zellen des Parenchyms infolge der Lösung der Mittellamellen isoliert, sondern daß auch die Zellwände selbst zum Teil verschwunden sind. Es handelt sich offenbar bei diesen Zellwänden um eine Modifikation der Cellulose, die den Hemicellulosen näher steht als der echten Cellulose. Nimmt man an Stelle der Kartoffelstengelchen Rübenstengelchen, so erscheint ein äußerlich identisches Kulturbild, nur ist die Gasbildung scheinbar weniger kräftig. Da wir uns überzeugen konnten, daß auch andere Bakterienarten wie *Coli* und *Aërogenes* eine, wenn auch bedeutend schwächere Gasbildung in den genannten Nährböden hervorzurufen vermochten, so war es unzulässig, eine Gasbildung ohne weiteres auf die Tätigkeit von Hemicellulosenvergärern zurückzuführen. Wir schlossen erst dann auf das Vorhandensein der betreffenden Gärung, wenn das Rüben- oder Kartoffelstengelchen von selbst oder bei schwachem Schütteln auseinanderfiel.

Die Ergebnisse unserer diesbezüglichen Versuche in einer Tabelle zusammenzufassen, dürfte unnötig sein, da sich mit Hilfe des beschriebenen Elektivverfahrens noch bedeutend weniger Hemicellulosenvergärer als Cellulosevergärer auffinden ließen. Nur 3mal wurden 100 und 200 solche Keime als maximale Werte pro 1 g Substanz nachgewiesen. Wenn wir noch zufügen, daß wir auf gleiche Weise aus Heu sogar mehr, wenn auch nicht viel mehr Hemicellulosenvergärer nachweisen konnten, so dürfte die Annahme nahe liegen, daß die von den fraglichen Organismen ausgeführte Hemicellulosegärung ebensowenig als die durch die Omeilianskischen Stäbchen bewirkte Cellulosegärung für die Vorgänge im Verdauungstraktus des Rindes eine wesentliche Rolle spielt. Für die Berechtigung dieser Annahme fällt bei der Hemicellulosenvergärung noch in Betracht, daß hier die Zuverlässigkeit der benutzten Methode wenig zu wünschen übrig läßt, denn 1) handelt es sich um schnell wachsende, leicht kultivierbare Bakterien und 2) lassen sich mit derselben Methode

in Erde z. B. bei Verdünnungen von $\frac{1}{200000}$ g die fraglichen Keime leicht nachweisen, wenn sie überhaupt vorhanden sind.

Aus den verschiedenen Kulturen in hoher Schicht vermochten wir die Hemicellulosenvergärer mitunter vereinzelt nachzuweisen. Da wir sie hier ohne weiteres rein abimpfen konnten, schien uns eine nähere Verfolgung der nach und nach gesammelten Kulturen nicht überflüssig. Es handelte sich um 17 kräftig auf den gewöhnlichen Nährböden gedeihende Stämme, die sich bei näherer Prüfung als vollkommen identisch erwiesen. Daß diese Bakterienart die Zellwände des Kartoffelparenchyms anzugreifen vermag, wurde schon erwähnt. Wir wollen hier noch beifügen, daß sie z. B. auch die von H. C. Schellenberg in den Basalknoten von *Molinia coerulea* entdeckte, und von E. Schulze und Castoro näher untersuchte Reservecellulose prompt vergärt. Die im Querschnitt dieser Knoten auffallend mächtigen Wandverdickungen sind unter der Einwirkung unseres *Bacillus* in 2—3 Tagen restlos verschwunden. Die eingehende Beschreibung dieses Hemicellulosenvergärs findet sich am Schlusse der Abhandlung.

Aus jener Charakteristik ist zu entnehmen, daß unser Hemicellulosenvergärer mit dem von Störmer (30) als Erreger der Wasserröste des Flachses isolierten Pektinvergärer sicher nicht identisch ist. Während Störmers *Plectridium pektinovororum* unter keinen Umständen auf Fleischpeptongelatine oder Fleischpeptonagarplatten gedeihen wollte, zeigt unser *Bacillus* auf diesen Nährböden ein üppiges Wachstum. Auch ist es Störmer nur ein einziges Mal gelungen, mit seinem Organismus eine entschiedene Xylosevergärung durchzuführen, während diese schwer angreifbare Zuckerart von unserem Hemicellulosenvergärer gerade wie die Arabinose regelmäßig und prompt vergoren wird. Endlich läßt Störmers *Bacillus* sich als eine ziemlich streng anaerobe Art bezeichnen, während der unsrige ebensogut bei Luftzutritt als bei Luftabschluß zu gedeihen vermag.

Dagegen liessen gewisse Merkmale, welche von Arthur Meyer für *Bac. asterosporus* angeführt werden, in uns die Vermutung aufkommen, daß der genannte Organismus vielleicht mit dem unsrigen identisch sei. Eine unmittelbare Vergleichung der Arten an Hand einer von Král in Prag bezogenen Reinkultur des *Bacillus asterosporus* hat diese Vermutung vollauf bestätigt. Die spezifische Bedeutung dieser im Boden sehr verbreiteten Bakterienart liegt demnach in ihrem Vermögen, Pektinstoffe bezw. Hemicellulosen zu vergären. Auf die Fähigkeit des *B. asterosporus*, Mittellamellensubstanz aufzulösen, hatte übrigens A. Meyer seinerzeit (Flora. 1897) schon hingewiesen.

7. Die Bakterienflora im Verdauungskanal der Milchkälber.

Im Anschluß an die Untersuchungen beim erwachsenen Rinde haben wir den Verdauungskanal einiger ausschließlich mit Milch gefütterter Kälber auf seine bakteriologischen Verhältnisse untersucht. Zu diesem Zwecke wurden in ähnlicher Weise wie beim Rinde Proben aus dem Labmagen, Dünndarm und Mastdarm entnommen, und sowohl in qualitativer wie quantitativer Richtung auf Kulturen verarbeitet. Die Verdünnungen des Labmagens und Dünndarmes wurden genau hergestellt wie die entsprechenden beim Rinde, dagegen ließ uns das gefärbte Präparat des Mastdarmes deutlich genug erkennen, daß wenigstens für diese Darmabteilung bedeutend stärkere Verdünnungen stattzufinden hatten, wenn man brauchbare Kulturen erhalten wollte.

Milchkalb I.

A. Vorläufige Prüfung.

Labmageninhalt. Reaktion stark sauer. Geruch nach geronnener Milch. Farbe hellbraun. Konsistenz flüssig.

Dünndarminhalt. Reaktion schwach alkalisch. Geruchlos. Farbe orange-gelb. Konsistenz sehr stark schleimig.

Mastdarminhalt. Reaktion neutral. Geruch nach Faeces. Farbe hellgelblich. Konsistenz sehr fest und stark schleimig.

Der Unterschied zwischen Kot vom Kalb und Rind war auffallend. Während der Rinderkot durch Schütteln mit Wasser ganz gut in feinsten Verteilung zu bringen war, mußten die Kalbfaeces wegen ihrer festen, klebrigen Beschaffenheit vorher in einem Mörser zerrieben werden, um überhaupt eine Zerteilung im Verdünnungskölbchen bewerkstelligen zu können.

Direkte mikroskopische Untersuchung.

Labmagen. Neben Kaseingerinnsel sind deutliche Kurzstäbchen zu sehen.

Dünndarm. Auffallend wenig Bakterien, nur nach langem Suchen ist ein Kurzstäbchen zu sehen.

Mastdarm. Anscheinend ungeheuer viele Bakterien. Gewaltiger Unterschied gegenüber dem Labmagen und Dünndarmpräparat. Fast ausschließlich ziemlich dünne, relativ lange Stäbchen.

B. Quantitative bakteriologische Analyse.
Keimzahlen pro 1 g Substanz.

	Labmagen	Dünndarm	Mastdarm
Gelatineplattenkulturen	120 000	22 000	74 000 000
Dextroseagar h. Schicht	1 660 000	50 000	2 850 000 000
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl. Coli, Güntheri + h. Sch. K. Säurebildner	Güntheri Säurestäbchen + andere	Güntheri + Coli Säurebildner + Güntheri

C. Qualitative bakteriologische Analyse.

a) Labmagen. Keine der 3 Platten zeigte eine verflüssigte Kolonie. Sie boten das Bild einer Reinkultur von *Bact. coli*. Die näher untersuchten Kolonien bestanden auch alle aus entsprechenden, in charakteristischer Weise beweglichen Stäbchen. In den 3 Kulturen in h. Schicht war sehr viel Gas gebildet. Neben großen und kleinen typischen Güntheri-Kolonien waren recht viele *Coli*-Kolonien vorhanden, deren Stäbchen allerdings keine Bewegung zeigten. Vorherrschend schienen indessen Kolonien zu sein, welche aus in der Länge stark variierenden, zur Bildung von Involutionen neigenden Stäbchen bestanden.

b) Dünndarm. Auch hier war keine verflüssigte Kolonie auf den Platten zu finden. Ebenso fehlten typische *Coli*-Kolonien. Vorherrschend waren neben einigen wenigen Kokkenkolonien, welche die Gelatine nicht verflüssigt hatten, Kolonien von unbeweglichen Kurzstäbchen, die so ziemlich dem Güntheri-Typus entsprachen, jedoch außergewöhnlich große Formen aufwiesen. Nach Abimpfung auf Milch vermochten solche Kolonien schon nach 36 Stunden die typische Güntheri-Milchgerinnung hervorzurufen, wodurch mindestens ihre Zugehörigkeit zur physiologischen Gruppe der Milchsäurebakterien sichergestellt sein dürfte.

Die anaeroben Röhren wiesen keine Gasbildung auf. Von den 16 Kolonien in der C-Kultur gehörten 7 dem schon im Labmagen bezeichneten Säurestäbchen an, 3 andere bestanden aus Kokken, während 2 weitere, dem Güntheri-Typus einigermaßen ähnliche, aber bedeutend größere und schärfer zugespitzte Stäbchen zeigten. Nach Abimpfung auf Dextroseagarstich konnten wir die interessante Tatsache feststellen, daß hier ein obligat anaerober Organismus vorlag. Wiederholte Ueberimpfungen ergaben, daß der anaerobe Charakter nicht ein vorübergehender war. Das morphologische und physiologische Verhalten dieser neuen, nicht sporenbildenden, obligat anaeroben Bakterienart ist am Schlusse dieser Abhandlung zu finden.

a) Mastdarm. Vorherrschend sind auf den Platten neben zahlreichen *Coli* und wenigen Kokken kleine, punktförmige Kolonien, die zur Involution neigende und häufig ganz kokkenähnliche Formen zeigende Güntheri enthalten. Einige Stämme derselben vermochten die Milchgerinnung schon nach 30 Stunden, andere dagegen nach einer Woche noch nicht hervorzurufen.

Trotz der starken Verdünnung waren die 3 Röhren dicht besetzt mit Kolonien, zu dicht, um eine genaue qualitative Untersuchung durchzuführen. Es hatte sich

ziemlich viel Gas gebildet. Weitans vorherrschend waren kleine, nur bei etwa 100facher Vergrößerung wahrnehmbare Kolonien, die, soweit sich erkennen ließ, in die Gruppe der nicht gasbildenden, von Güntheri verschiedenen Säurestäbchen zu verweisen sind. Die an Zahl stark zurücktretenden, aber immerhin noch recht häufigen größeren Kolonien gehörten dem Aërogenes- oder Coli-, dem Güntheri-, Kokken- und Streptokokkentypus an.

Milchkalb II.

A. Vorläufige Prüfung.

Labmageninhalt. Reaktion stark sauer. Geruch nach geronnener Milch. Farbe hell. Konsistenz flüssig.
Dünndarminhalt. Reaktion neutral bis schwach alkalisch. Geruchlos. Farbe schmutzig-gelb. Konsistenz schleimig.
Mastdarminhalt. Reaktion neutral. Geruch schwach nach menschlichen Faeces. Konsistenz schleimig-zäh.

**B. Quantitative bakteriologische Analyse.
 Keimzahlen pro 1 g Substanz.**

	Labmagen	Dünndarm	Mastdarm
Gelatineplattenkulturen	110 000	140 000	950 000 000
Dextroseagar h. Schicht	900 000	45 000	1 600 000 000
Vorberrschende Bakterienarten	Gelatineplatten Kokken h. Sch. K.	Güntheri + Säurestäbchen	Gemisch verschiedener Typen Säurestäbchen Coli oder Aërogenes Coli + Säurebildner + Güntheri

C. Qualitative bakteriologische Analyse.

a) **Labmagen.** Die A-Platte war ganz, die B-Platte zum Teil durch Fluorescens verflüssigt, während die C-Platte 5 einzelne Kolonien des genannten Bakteriums erkennen ließ. Daneben sind weit vorherrschend verflüssigende und nicht verflüssigende Kokken, ferner 3 Coli-ähnliche Oberflächenkolonien.
 Von den Kulturen i. h. Schicht zeigte A wenig Gas, B ebenso, C bloß einige Bläschen. Die C-Kultur ließ vorherrschend Güntheri-Kolonien nachweisen, die zum Teil große, zur Involution neigende, zum Teil kleine, häufig kettenbildende Stäbchen erkennen ließen. Neben diesen Kolonien kamen häufig solche der mehrfach genannten Säurestäbchen vor, während die Vertreter der Coli-Gruppe, denen wohl die Gasbildung zu verdanken war, sich nur relativ selten zeigten.
 d) **Dünndarm.** Verflüssigte Kolonien sind auf den Platten nur wenige zu finden. Die C-Platte wies Kolonien der verschiedensten Bakterienarten auf, wovon zu nennen sind: gelatineverflüssigende und nicht verflüssigende Kokken, Coli-ähnliche, aber unbewegliche Stäbchen, Säurestäbchen, Sarcina und Güntheri, also ein vielgestaltiges Gemisch.
 Bei den anaëroben Kulturen war in der A-Kultur ziemlich viel, in B nur wenig, in C kein Gas gebildet. In allen 3 Kulturen sind weitans vorherrschend kleine, punktförmige Kolonien der gern Involutionsformen bildenden Säurestäbchen. Daneben waren etwa 10 Proz. Coli-Kolonien nachweisbar.
 c) **Mastdarm.** Die 3 Platten bildeten sozusagen eine Reinkultur von kurzen, dicken, unbeweglichen Aërogenes-ähnlichen Stäbchen. Auch die Oberflächenkolonien entsprachen eher Aërogenes als Coli.
 In den anaëroben Kulturen hatte sich ziemlich viel Gas gebildet. Neben relativ vielen großen Kolonien von Vertretern der Coli-Gruppe sind weit vorherrschend kleinere Kolonien von den schon wiederholt erwähnten Säurestäbchen. Auch Güntheri-Kolonien fehlten nicht.

Milchkalb III.

A. Vorläufige Prüfung.

Labmageninhalt. Reaktion stark sauer. Geruch nach Erbrochenem. Konsistenz schleimig.
Dünndarminhalt. Reaktion schwach sauer. Kein auffallender Geruch. Konsistenz schwach schleimig.
Mastdarminhalt. Reaktion schwach sauer. Schwacher Fäkalgeruch. Konsistenz zäh und stark schleimig.

**B. Quantitative bakteriologische Analyse.
Keimzahlen pro 1 g Substanz.**

	Labmagen	Dünndarm	Mastdarm
Gelatineplattenkulturen	5 000	2 000	?
Dextroseagar h. Schicht	10 000 000	900 000	7 200 000 000
Vorherrschende Bakterienarten	Gel.-Pl. Kokken + Hefen h. Sch. K. Säurestäbchen	Kokken Säurestäbchen	? Säurestäbchen

C. Qualitative bakteriologische Analyse.

a) Labmagen. Die A-Platte zählte 20, die B-Platte 5 Kolonien. Von den letzteren waren 2 verflüssigende Kokken, 1 *Tumescens* und 2 Hefen. Auch die A-Platte enthielt neben verflüssigten Kokkenkolonien hauptsächlich Hefenkolonien. Die Kulturen i. h. Schicht zeigen eine stark getriebene Agarmasse, aber keine Gasbildung. Die C-Kultur ließ namentlich 2 Typen erkennen. Neben vorhergehend vielkantigen, oft annähernd tetraëderförmigen, die aus den oft genannten, stark zur Involution neigenden Säurestäbchen bestanden, kamen einfache runde Kolonien vor, die bei mikroskopischer Untersuchung typisch verzweigte Bakterien aufwiesen, die manchmal stark an die Bakteroiden gewisser Leguminosenknöllchen erinnerten. Eine Abimpfung des betreffenden Organismus auf Zuckeragarstich zeigte indessen nach 8 Tagen noch kein sichtbares Wachstum.

b) Dünndarm. Die A-Platte war vollständig verflüssigt durch Kokken und einige wenige Kurzstäbchenkolonien. Die B-Platte enthielt bloß 2 Kolonien, 1 Hefen- und 1 Kokkenkolonie.

In den anaëroben Kulturen ist, wie beim Labmagen, kein Gas gebildet. Merkwürdig ist auch die für den Dünndarm außerordentlich hohe Keimzahl. Auch hier zeigten fast alle Kolonien den Typus des zur Bildung von Involutionsformen neigenden Kurzstäbchens.

c) Mastdarm. Die A-Platte enthielt eine einzige *Sarcina*-Kolonie, die offenbar als zufällige Verunreinigung aufzufassen ist, die B- und C-Platte waren steril. Die anaëroben Röhren waren trotz den außerordentlich starken Verdünnungen noch gut besetzt. Gas war nicht gebildet. Die C-Kultur ließ neben den vorherrschenden Kolonien des Säurestäbchens ziemlich viele Kolonien der oben genannten verzweigten Bakterien erkennen. Nicht eine einzige *Coli*-Kolonie war nachzuweisen, was übrigens ganz zum Verhalten der Platten stimmt; auch Güntheri-Kolonien wurden nicht gefunden.

Milchkalb IV.

A. Vorläufige Prüfung.

Labmagen. Reaktion stark sauer. Geruch nach geronnener Milch. Konsistenz stark schleimig.

Dünndarm. Reaktion neutral. Kein auffallender Geruch. Konsistenz sehr stark schleimig.

Mastdarm. Reaktion neutral. Schwacher Fäkalgeruch. Konsistenz zäh und sehr stark schleimig.

Direkte mikroskopische Untersuchung (gefärbtes Präparat).

Labmagen. Scheinbar recht viele Bakterien. Namentlich waren relativ schlanke neben Güntheri-artigen Stäbchen zu erkennen.

Dünndarm. Es sind viel mehr Bakterien als in der ersten Probe zu sehen. Säurestäbchentypus häufig, Güntheri-ähnliche Formen seltener.

Mastdarm. Enorme Bakterienzahl. Das Bild erinnert lebhaft an ein gefärbtes Präparat einer Bakterienkultur. Säurestäbchen und Güntheri scheinen die hauptsächlichsten Vertreter zu sein.

**B. Quantitative bakteriologische Analyse.
Keimzahlen pro 1 g Substanz.**

	Labmagen	Dünndarm	Mastdarm
Gelatineplattenkulturen	3 000	1 200	96 000 000
Dextroseagar h. Schicht	11 000 000	5 500 000	3 600 000 000
Vorherrschende Bakterienarten	Gelatineplatten Kokken + Hefen h. Sch. K. Säurestäbchen + Güntheri	Kokken + Güntheri-ähnliche Säurestäbchen + Güntheri	Coli Güntheri, Säurestäbchen + Coli

C. Qualitative bakteriologische Analyse.

a) Labmagen. Die A-Platte zählte 10, die B-Platte bloß 3 Kolonien, die C-Platte war steril. Die 3 Kolonien von B bestehen aus 2 Kugelhefen und 1 Kokkenkolonie; die A-Platte enthielt neben Kokken hauptsächlich Kugelhefenkolonien. Auch wurde ein pektinvergärerähnliches Stäbchen isoliert, das nach Uebertragung auf den geeigneten Nährboden eine typische Gärung hervorzurufen vermochte.

In den Kulturen i. h. Schicht war kein Gas gebildet, dagegen war die Agarmasse durch Säurebildung stark getrübt. In der C-Kultur ließen sich ungefähr gleiche Mengen von Güntheri- und Säurestäbchenkolonien nachweisen.

b) Dünndarm. Wie beim Labmagen, enthalten die Platten auch hier außerordentlich wenig Kolonien. Die 6 Kolonien der A-Platte betreffen in 3 Fällen Kokken, in 2 Fällen Güntheri-ähnliche Stäbchen und in 1 Fall Pektinvergärer.

Die anaëroben Kulturen weisen dagegen eine für den Dünndarm unerwartet hohe Kolonienzahl auf. Es lassen sich in der C-Kultur, wie beim Labmagen, 2 Kolonientypen unterscheiden: kantige, aus Säurestäbchen bestehende und linsenförmige, aus Güntheri zusammengesetzte. Gas war in den Kulturen nicht gebildet.

c) Mastdarm. Die Gelatineplatten zeigen fast ausschließlich Kolonien vom ausgeprägten Coli-Typus. Die untersuchten Tiefenkolonien ließen sich nach Herstellung eines Gelatinestriches und einer Dextroseagarschüttelkultur ebenfalls als Coli identifizieren.

Das A- und B-Röhrchen i. h. Schicht zeigen eine stark zerrissene und getrübt Agarmasse, die C-Kultur dagegen nur viele kleine Gasbläschen. Vorherrschend sind hier neben den in Dünndarm und Labmagen gefundenen Säurestäbchenkolonien solche, die Coli oder Aërogenes angehören. Auch Kolonien von typischen Güntheri fehlen zwar nicht, sind aber nicht die vorherrschenden.

Vergleichen wir die vorstehenden Ergebnisse mit den für das erwachsene Rind ermittelten, so lassen sich bedeutende Unterschiede nachweisen. Zunächst sind die Keimzahlen im Labmagen des Milchkalbes bedeutend höher als diejenigen der entsprechenden Abteilung beim Rinde, welche Tatsache namentlich bedingt wird durch das Auftreten der säurebildenden von Güntheri verschiedenen Stäbchen, die offenbar identisch sind mit einem Teil der als „acidophile“ (37) Bakterien in der Literatur erwähnten Arten. Daß im Dünndarm die Bakterienzahl im allgemeinen eine Einschränkung erleidet, scheint aus dem ersten und dritten, weniger deutlich dagegen aus dem vierten Versuch hervorzugehen. Der ausgesprochenste Gegensatz liegt aber in dem durchaus verschiedenen Verhalten des Kalbkotes gegenüber dem Rinderkot. Man muß den Eindruck gewinnen, daß im Mastdarm und sehr wahrscheinlich auch im Blinddarm des Kalbes normalerweise eine starke Bakterienvermehrung vor sich geht an welcher die nicht gasbildenden kräftigen Säurebildner den Hauptanteil nehmen, während die Vertreter der Coli-Gruppe eine untergeordnete Rolle spielen.

8. Zusammenfassung.

Die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich in folgenden Schlußsätzen wiedergeben:

1) Die in den verschiedenen Abteilungen des Verdauungskanals beim erwachsenen Rinde durch Züchtung nachweisbaren Bakterien sind im allgemeinen in verhältnismäßig spärlicher Zahl vorhanden.

2) Die direkte mikroskopische Prüfung spricht nicht dafür, daß etwa Formentypen, welche sich unter den züchtbaren Arten nicht befinden, im Verdauungskanal eine wesentliche Rolle spielen. Vielmehr geht spärlicher oder reichlicher Nachweis von Bakterien durch das Kulturverfahren parallel mit einem spärlichen oder reichlichen Befund von Bakterien im mikroskopischen Präparat.

3) Die höchsten Keimzahlen finden sich beim Rinde im Pansen, während im Labmagen immer eine bedeutende, manchmal fast bis zur Vernichtung gehende Reduktion eintritt. Im mittleren Dünndarm sind die Zahlen in der Regel noch kleiner als im Labmagen (wahrscheinlich mehr infolge der starken Verdünnung durch die Verdauungssäfte als infolge einer Abtötung durch irgend welche bakterizide Agentien). Im Dickdarm ist sodann wieder ein Ansteigen des Keimgehaltes zu verzeichnen, das nicht nur auf die Eindickung des Inhaltes, sondern auch auf eine Vermehrung der Bakterien zurückzuführen ist. Im Blinddarm und Mastdarm nimmt die Bakterienmenge noch weiter zu, ohne aber die Zahlen, wie sie im Pansen gefunden werden, zu erreichen.

4) Man kann bezüglich der im Verdauungstraktus des Rindes auftretenden Arten unterscheiden zwischen obligaten und fakultativen Magen-Darmbakterien. Die ersteren sind diejenigen, welche sich in wesentlichem Maße vermehren und in bestimmten Abschnitten mit gewisser Regelmäßigkeit getroffen werden. Hierher gehört in erster Linie das *Bact. Güntheri*, welches seine Hauptbrutstätte im Pansen hat und von da ab in allen Abteilungen zu finden ist, in zweiter Linie das *Bact. coli* und Verwandte, im Pansen wohl vereinzelt vorkommend, aber erst im Dünndarm und von da an abwärts in mehr oder weniger großer Menge auftretend und das *Bact. Güntheri* begleitend. Zur zweiten Gruppe gehören die Kokken, die sporenbildenden und meist peptonisierenden Erdbakterien und dann die anaeroben, ebenfalls sporenbildenden Fäulnisbakterien. Alle diese Arten, denen man auch noch die Gruppe der Cellulose und Hemicellulose veräuernden anschließen könnte, werden mit dem Futter aufgenommen und finden anscheinend auf ihrem Wege durch den Verdauungskanal keine Gelegenheit zu ausgiebiger Entwicklung. Speziell die Sporenbildner passieren wohl oft als Spore den Verdauungstraktus, ohne je auszukeimen. Eine Ausnahme scheinen gewisse Erdbakterien zu machen, welche wenigstens gelegentlich, z. B. im Blinddarm und Mastdarm, in so großer Menge gefunden wurden, daß man eine Vermehrung in diesen Parteeen des Darmes annehmen muß.

5) Die vorliegenden Untersuchungen können die auf chemischem Wege ermittelten und der Tätigkeit von Bakterien zugeschriebenen, die eigentlichen Verdauungsvorgänge begleitenden Umsetzungsprozesse nur zum Teil erklären. Diese Erklärung beschränkt sich auf die von O. Kellner u. a. namentlich im Pansen beobachtete reichliche Milchsäurebildung, welche offenbar mit dem regelmäßigen und überwiegenden Vorkommen typischer Milchsäurebakterien in Zusammenhang steht. Nicht in Uebereinstimmung stehen die chemischen mit den bakteriologischen Befunden bezüglich des Verschwindens eines Teiles der Cellulose. Bei voller Berücksichtigung der Schwierigkeit des quantitativen Nachweises der von Omelianski entdeckten spezifischen Cellulosevergärer muß doch aus den angeführten Versuchen die Wahrscheinlichkeit abgeleitet werden, daß jene Organismen sich in keiner Abteilung des Verdauungsapparates in einem Maße vermehren, daß die Lösung der Cellulose auf ihre Tätigkeit zurückgeführt werden konnte. Mit noch größerer Sicherheit kann dasselbe bezüglich des Zusammenhanges der Lösung der Hemicellulosen mit bekannten, speziell für die Vergärung von Hemicellulosen eingerichteten Bakterien behauptet werden.

6) Im Vergleich zum Rinde findet man in den Verdauungswegen des Milchkalbes enorm hohe Keimzahlen, die höchsten im Mastdarm.

Bezüglich der vorherrschenden Arten nehmen auch hier die nicht gasbildenden Milchsäurebakterien die erste Stelle ein und zwar sind es, neben *Bact. Güntheri* und dieses anscheinend zum Teil verdrängend, Vertreter der durch ihre hohe Säuerungskraft ausgezeichneten langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien, welche die hohen Keimzahlen bedingen.

7) Gelegentlich der Untersuchung von Dünndarminhalt eines Milchkalbes ist es gelungen, einen anaëroben, nicht sporenbildenden, in morphologischer wie physiologischer Beziehung scharf charakterisierten Spaltpilz zu isolieren, der als neu bezeichnet werden muß, und mit dem Namen *Bacterium clostridiiforme* belegt worden ist.

Nach Abschluß dieser Arbeit sind wir mit der Mitteilung von Passini (24) bekannt geworden, wonach bei Anwendung eines geeigneten Anreicherungsverfahrens (Eiweißwürfel ohne Zusatz von Kohlehydraten in Wasser oder Bouillon bei Luftabschluß) große Mengen des *Bact. putrificus coli* in menschlichen Faeces (400 000 pro 1 g) nachzuweisen wären. Wir haben das Verfahren auf 5 Proben von Kuhkot angewendet und konnten bei allen Proben, die mit $\frac{1}{100}$ g des Materials und bei 2 Proben, die mit $\frac{1}{1000}$ g geimpft waren, Verflüssigung des Eiweißes mit typischer Gestankentwicklung feststellen. Bei einigen der betreffenden Proben ist der Nachweis, daß es sich wirklich um *Putrificus coli* handelte, durch die Kulturen geleistet worden. Wenn es demnach keinem Zweifel unterliegt, daß obligat anaërobe Fäulnisbakterien auf dem Wege der Anreicherung sicherer nachgewiesen werden können, als durch direkte Isolierungsverfahren, so sind doch Keimzahlen von 100 und allenfalls 1000 pro 1 g Fäkalien als sehr spärlich zu bezeichnen, und die Tätigkeit solcher Mengen scheint neben den übrigen Umsetzungen im Darm kaum ins Gewicht zu fallen. Anders mag es sich beim Menschen und den fleischfressenden Tieren verhalten.

Anhang.

a) Beschreibung des in zahlreichen Versuchen gefundenen, mit *Bac. asterosporus* Arth. Meyer identischen Hemicellulosenvergärsers.

Gelatineplatten bei
20—22° C

Oberflächenkolonien zeigen im durchfallenden Licht scheinbar kristallinische Struktur, im auffallenden Licht das Bild eines Gebirgsreliefs. Neben diesem flächenhaften Typus findet sich ein halbkugelförmig erhabener. Konsistenz etwas schleimig. Tiefenkolonien sind meist von regelmäßig rundlicher Gestalt. Die Verflüssigung tritt bei den einzelnen Kolonien nach sehr verschiedener Zeit ein, meist nicht vor dem 4. Tage. Sie kann auch ganz ausbleiben.

Agarplatten bei 30°

Oberflächenkolonien nach 1 Tage zum Teil wie auf jungen Gelatineplatten ausgebreitet, hauchartig dünn. Tiefenkolonien sind mandel- oder wetzsteinförmig, oft warzenartige oder wollig faserige Auflagerungen oder Ausläufer zeigend.

Gelatinestich bei 20—
22°

Nach 1 Tage kräftiges, schmal bandförmiges Wachstum in der ganzen Höhe des Kanals. Nach 3—4 Tagen beginnt die Verflüssigung in Form einer muldenförmigen Zone an der Oberfläche.

Dextroseagarstich bei
30°

Schmal bandförmiges Wachstum von oben bis unten. Oben kräftige Ausbreitung. Nach 1 Tag ziemlich viel Gas, das am folgenden Tage noch zunimmt.

Dextroseagarschüttelkultur bei 30°

Nach 1 Tage deutliches Wachstum in ganzer Höhe. An der Oberfläche kein eigentlicher Belag. Mäßige Gasbildung. Nach 3 Tagen zeigt die oberste 1—1½, cm starke Zone des Nährbodens besonders kräftiges Wachstum. Gasbildung reichlicher.

Kartoffel bei 30°

Nach 1 Tage sehr starker, glänzender Belag mit vielen kleinen Gasbläschen durchsetzt. Nach 2 Tagen treten die kleinen und großen Gasblasen noch mehr hervor. Mit der Nadel läßt sich die Kartoffel wie Butter durchstechen. In den folgenden Tagen zerfällt die Kartoffel immer mehr und ist schließlich in eine breiige, halbflüssige Masse verwandelt, die einen angenehmen esterartigen Geruch ausströmt.

Milch bei 30°

Nach 1—2 Tagen tritt Gerinnung ein unter Abscheidung einer schmalen Serumzone. Nach 2 Tagen ist letztere 1 cm hoch und nimmt im weiteren Verlauf noch an Volumen zu. Indessen hängt diese Erscheinung nicht mit einer Lösung, sondern mit einer Kontraktion des Koagulums zusammen. Die Kultur zeigt angenehmen Obstgeruch.

Bouillon bei 30°

Es tritt kräftige Trübung ein unter Ausscheidung eines weißlichen Bodensatzes. Keine Neigung zur Hautbildung.

Verhalten gegen verschiedene Kohlenstoff- und Stickstoffquellen

Bei der Prüfung der Kohlenstoffquellen sind bezüglich der Zusammensetzung der Nährböden die von Störmer mitgeteilten Verhältnisse eingehalten worden. Am besten wurden vergoren: Dextrose, Galaktose, Mannose, dann folgen Arabinose, Pektin (nach Störmers Angaben aus Seradellasamen hergestellt)¹⁾, Xylose, Stärke und mit bedeutend geringerer Intensität die Disaccharide Laktose, Maltose und Saccharose.

Die Prüfung der nachgenannten Stickstoffquellen fand unter gleichzeitiger Darreichung von 2-proz. Dextrose statt. Am besten bewährten sich Pepton und weinsaures Ammon, weniger gut Asparagin. Kaliumnitrat konnte dagegen nicht verwertet werden.

Widerstandsfähigkeit der Sporen

Zur Bestimmung derselben benützten wir 3 Wochen alte Kartoffel- und Agarstrichkulturen. Die Aufschwemmungen des Materials ergaben nach 5 Minutem langem Aufkochen keine Entwicklung mehr, wohl aber trat eine solche noch ein, wenn die Erhitzung auf Siedetemperatur ½, Minute nicht überdauert hatte. Die Sporen sind somit von recht mäßiger Widerstandskraft.

Morphologisches Verhalten in verschiedenen Nährböden.

Bouillonkultur 2 Tage bei 30° zeigt lebhaft bewegliche und dabei in charakteristischer Weise zitternde, an den Enden etwas zugespitzte Stäbchen von 3—5 µ Länge und ca. ¾ µ Breite.

Agarstich 2 Tage bei 30° liefert ein im wesentlichen identisches Bild.

Kartoffel 2 Tage bei 30°. Neben lebhaft beweglichen, an den Enden verjüngten Stäbchen, zeigen sich typische Clostridien mit Sporen, die nach einem Ende hin verehoben sind. Uebergangsformen zum Plectridientypus sind nicht selten. Die Clostridien messen ½—2 µ in der Breite und 4—5 µ in der Länge.

Kartoffel 3 Tage bei 37°. Stäbchen verhältnismäßig lang, 4—10 µ. Sporentragende Clostridien hingegen meist nur 5 µ lang. Die darin befindlichen Sporen messen meist 1,5—1,25 µ, freie Sporen sind gewöhnlich bedeutend größer, vielfach 2,25 × 1,5 µ. Sie lassen schon im ungefärbten Präparat deutlich eine „Hülle“ erkennen. Bei Färbung mit Karbolfuchsin tritt eine stark gefärbte Intine und eine weniger stark gefärbte Exine deutlich hervor. In Sporenbildung begriffene Stäbchen geben mehr oder weniger deutlich die Glykogenreaktion.

1) Die Herstellung der Pektinpräparate verdanken wir der Freundlichkeit des Herrn Prof. Dr. E. Winterstein.

b) Beschreibung einer neuen, nicht sporenbildenden, obligat anaeroben Bakterienart, *Bacterium*¹⁾ clostridiiforme Burri et Ankersmit.

Gew. Gelatinestich 20–20°.	Nach 3 Tagen kein sichtbares Wachstum, auch nicht nach 10 Tagen.
Gew. Gelatinerollkulturen (Pyrog. + KOH) 20–22°	Nach 3 Tagen kein sichtbares Wachstum, auch nicht nach 10 Tagen.
Dextroseagar, hohe Schicht, 37°.	Nach 2 Tagen kräftiges Wachstum. Dicht besetzte Kulturen zeigen starke Gasbildung. Bei günstiger Verdünnung erreichen einzelne Kolonien 1 mm Durchmesser. Sie sind meist linsenförmig, glattrandig, nicht sehr kompakt, eher etwas durchscheinend. Konsistenz weich.
Dextr.-Agarstich 37°.	Nach 2 Tagen kräftiges Wachstum in Form eines rauhen Fadens, der mindestens 1 cm unter der Oberfläche aufhört. Gasblasen.
Gew. Agarstich 37°.	Nach 2 Tagen kaum weniger kräftig, als in Dextroseagar, aber ohne Gas.
Dextrosebouillon 37°.	Je nach der angewendeten anaeroben Methode früher oder später starke Trübung und reichliche Gasbildung. Die Bouillon wird stark sauer, bleibt aber geruchlos.
Milch 37°.	Es ist mit keiner der angewendeten Methoden (Sauerstoffabsorption, Wasserstoffdurchleitung, Gefrierenlassen mit nachfolgender Agarüberschichtung) gelungen, irgend welche Zersetzungserscheinungen hervorzurufen, oder auch nur nachweisbare Entwicklung zu erzielen.
Gew. Agarstich (Pyrog. + KOH)	Nach 2 Tagen kein zusammenhängender Belag, hingegen eine größere Anzahl von kreisrunden, graulichen Kolonien. Nach 3 Tagen sind einzelne derselben noch kräftiger, die größten haben 1½ mm Durchmesser. Bei Lupenbetrachtung scheinbare kristallinische Struktur. Im unteren Teil des Nährbodens einige Gasblasen.
Kartoffel 37° (Pyrog. + KOH)	Nach 3 und 8 Tagen kein sichtbares Wachstum; auch ist bei mikroskopischer Untersuchung keine Entwicklung nachzuweisen (Karbolfuchsinpräparat).
Morphologisches Verhalten.	Agarstich- und Strich 2 Tage alt. Gleichmäßige, scharf zugespitzte, also lanzettförmige, unbewegliche Stäbchen, meist zu 2, auch zu 4 in Ketten. Doppeltstäbchen 4 µ lang und ¾ µ breit, vereinzelt Stäbchen 2–3 µ lang. Mit Methylviolett oder wässrigem Fuchsin färbt sich der Organismus nur blaß, hingegen mit Karbolfuchsin intensiv rot. Die Stäbchen ähneln dann noch mehr als im lebenden Präparat dem Güntheri-Typus; auch mit sehr kleinen schmalen Clostridien sind sie zu vergleichen. Sie sind gramnegativ. Sporenbildung konnte niemals beobachtet werden. Ueberhaupt läßt das morphologische Verhalten keinen Sporenbildner erwarten, einerseits wegen der Kleinheit der vegetativen Formen, andererseits weil den letzteren die Spindelform von Anfang an eigentümlich ist und ein Zusammenhang zwischen ihm und der Sporenbildung, wie er bei den eigentlichen Clostridien besteht, nicht in Frage kommt. Uebrigens ließ sich aus älteren, 15 Minuten lang auf 80° erhitzten Kulturen keine Entwicklung mehr erzielen. Es handelt sich also hier um ein obligat anaerobes, nicht sporenbildendes, nur in der Form von schlanken, scharf zugespitzten Spindeln auftretendes, unbewegliches Bakterium, das in traubenzuckerhaltigen Nährböden reichlich Gas und nicht flüchtige Säure produziert. Eine Bakterienart mit diesem auffallenden Eigenschaftskomplex ist unseres Wissens in der Literatur bis jetzt nicht angeführt.

1) Wir schließen uns mit der Verweisung unseres Organismus in die Gattung *Bacterium* der von Lehmann und Neumann in ihrer „Bakt. Diagnostik“ vertretenen Auffassung an.

und der Anspruch auf Neuheit der Art dürfte in diesem speziellen Falle mit größerer Sicherheit gestellt werden, als es in der Regel möglich ist in Anbetracht der schwierigen Abgrenzung von einander nahestehenden Typen.

c) Titrationsergebnisse von Milchkulturen, die mit vermutlichen aus verschiedenen Versuchsmaterialien stammenden Säurebildnern geimpft waren.

Die Eprouvetten enthielten 10 ccm Milch. Titriert wurde mit $\frac{n}{10}$ Natronlauge.

Als Indikator diente Phenolphthalein. Die $2\frac{1}{2}$, ccm $\frac{n}{10}$ Lauge, welche 20 ccm sterile Milch zur Neutralisation erfordert, sind in den unten angegebenen Zahlen nicht inbegriffen. Die Kulturen standen bei 30°. Die Säurebestimmung wurde bald nach der Gerinnung, oder wenn diese nicht eintrat, frühestens nach 6 Tagen vorgenommen.

Güntheri Pansen K. i. h. Sch. Rind I (Milch geronnen)	$\frac{n}{10}$ Lauge in ccm	9,1
„ Labmagen K. i. h. Sch. Rind I	„	9,5
„ ähnl. Labm. K. i. h. Sch. Rind I (Milch nicht geronnen)	„	6,8
„ Pansen K. i. h. Sch. Rind II (Milch geronnen)	„	10,1
„ Pansen K. i. h. Sch. Rind V	„	9,3
„ Pansen K. i. h. Sch. Rind VI (Milch nicht geronnen)	„	6,1
„ Pansen K. i. h. Sch. Rind VIII (Milch geronnen)	„	9,3
„ Labmagen K. i. h. Sch. Rind VII (Milch nicht geronnen)	„	5,3
„ Pansen K. i. h. Sch. Rind XIII (Milch geronnen)	„	9,9
„ Labmagen K. i. h. Sch. Rind XV (Milch geronnen)	„	9,0
„ (kokken-ähnliche) Mastdarm Kalb I	„	9,2
„ von der Platte Mastdarm Kalb I	„	9,5
„ von der Platte Mastdarm Kalb I	„	9,9
Säurestäbchen Dünndarm K. i. h. Sch. Kalb I	„	14,9
Säurebildner Dünndarm K. i. h. Sch. Kalb I	„	8,4
Coli Gelatineplatte Mastdarm Kalb II	„	6,8
„ Gelatineplatten Mastdarm Kalb II (Milch nicht geronnen)	„	5,9
Güntheri Labmagen K. i. h. Sch. Kalb IV (Milch geronnen)	„	10,3
„ Mastdarm K. i. h. Sch. Kalb IV	„	10,0
Säurestäbchen Mastdarm K. i. h. Sch. Kalb III (Milch geronnen)	„	7,9
„ Dünndarm K. i. h. Sch. Kalb III	„	14,4
Verzweigte Bact. Mastdarm K. i. h. Sch. Kalb III	„	23,5
Säurestäbchen Mastdarm K. i. h. Sch. Kalb IV (Milch nicht geronnen)	„	5,8
Güntheri Blinddarm II K. i. h. Sch. (Milch geronnen)	„	10,2
„ Blinddarm III K. i. h. Sch. (Milch geronnen)	$\frac{n}{10}$ Lauge	9,2
„ Blinddarm IV K. i. h. Sch.	„	9,9
„ Blinddarm V K. i. h. Sch. (Milch nicht geronnen)	„	6,4

Vorliegende Arbeit wurde im landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des Eidg. Polytechnikums in Zürich unter Leitung des Herrn Prof. Dr. R. Burri ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Burri für seine dabei bekundete stets bereitwillige und freundliche Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Bahlmann, P., Ueber die Bedeutung der Amidsubstanzen für die tierische Ernährung. (Ref. Centralbl. f. Agr.-Ch. 1886. p. 833.)
- 2) Ballner, F., Experimentelle Studien über die physiologische Bakterienflora des Darmkanals, ausgeführt mit Kaninchen. (Zeitschr. f. Biol. Bd. XLV. 1904.)
- 3) Biel, Ueber einen schwarzes Pigment bildenden Kartoffelbacillus. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1898. p. 358.)
- 4) Bienstock, Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweißfäulnis. I und II. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 336 und Bd. XXXIX. p. 390.) Du rôle des bactéries de l'intestin. (Ann. Pasteur. T. XIV. p. 750.)
- 5) Burri, R., Zur Isolierung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 533.)

- 6) Eberlein, Ueber die im Wiederkäuermagen vorkommenden Infusorien. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1896. p. 379.)
- 7) v. Freudenreich, Ueber das Vorkommen von Bakterien im Kuheuter. (Landwirtschaftl. Jahrb. der Schweiz. Bd. XVII. Heft 3.)
- 8) Gröning, Vergleichende Untersuchungen über die Streptokokken des Kuheuters, des Rinderdarmes und des Stallbodens. [Dissertation] Bern 1901.
- 9) Hemick, Beitrag zur Kenntniss der Bakterienflora des Schweinedarmes. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXIX. 1903. p. 476.)
- 10) Henneberg und Stohmann, Ueber die Bedeutung der Cellulosegärung für die Ernährung der Tiere. (Zeitschr. f. Biol. Bd. III. Jahrg. 1885. p. 613.)
- 11) Hofmeister, Ueber Celluloseverdauung beim Pferde. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1885. p. 254.)
- 12) Holdelfleiss, Die Bedeutung des verdauten Anteils der Rohfaser für die tierische Ernährung. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1896. p. 372.)
- 13) Kellner, O., Die Nährwirkung einzelner Futterbestandteile und ganzer Futtermittel. (Vortrag 6. März 1903.) Untersuchungen über den Stoff- und Energieumsatz des erwachsenen Rindes bei Erhaltung und Produktionsfutter ausgeführt in den Jahren 1895—99. (Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. LIII. 1900.)
- 14) —, Die Bedeutung des Asparagins für die Ernährung der Pflanzenfresser. (Centralbl. f. Agr. Ch. 1898. p. 243.) Untersuchungen über den Einfluß des Asparagins und Ammoniaks auf den Eiweißumsatz der Wiederkäuer. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1898. p. 460.)
- 15) Klein, Die physiologische Bakteriologie des Darmkanals. (Arch. f. Hyg. Bd. XLV. 1902. p. 117.)
- 16) v. Knieriem, Ueber die Verwertung der Cellulose im tierischen Organismus. (Centralbl. f. Agr. Ch. 1886. p. 534.)
- 17) Kohlbrugge, Der Darm und seine Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. p. 10.) Die Autosterilisation des Dünndarmes und die Bedeutung des Coecum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. p. 571.)
- 18) Lindsey und Holland, Die Verdaulichkeit der Pentosane. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1899.)
- 19) Mazé, Ueber die Sumpfgasgärung und die Bakterienart, welche sie hervorruft. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1904. p. 648.)
- 20) Müller, Celluloseverdauung im Darmkanal. (Arch. f. d. ges. Phys. Bd. LXXXIII. 1901. p. 619.)
- 21) Munk und Voit, Ueber den Einfluß des Asparagins auf den Eiweißumsatz und die Bedeutung desselben als Nährstoff. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1884. p. 749.)
- 22) Neubauer, Ueber anaerobe Bakterien im Rinderdarm. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXXI. 1905. p. 153.)
- 23) Omelianski, Ueber die Gärung der Cellulose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. p. 194.)
- 24) Passini, Studien über Fäulnis erregende anaerobe Bakterien des normalen menschlichen Darmes und ihre Bedeutung. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. IV. 1905. p. 135.)
- 25) Popoff, Die Zeit der Erscheinung und die allmähliche Verbreitung der Mikroorganismen im Verdauungstraktus der Tiere. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. p. 217.)
- 26) Rahner, Bakteriologische Mitteilungen über die Darmbakterien der Hühner. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. p. 239.)
- 27) Rudzinski, Ueber die Bedeutung der Pentosane als Bestandteile der Futtermittel, insbesondere des Roggenstrohes. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1904. p. 572.)
- 28) Schulze, E. und Castoro, Beiträge zur Kenntniss der Hemicellulosen. (Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XXXIX. 1903. p. 318.)
- 29) Steiger, Bakterienbefunde bei der Euterentzündung von Kuh und Ziege. [Dissertation] Bern 1904.
- 30) Störmer, Ueber die Wasserröste des Flachses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. p. 35.)
- 31) Tappeiner, Untersuchung über die Gärung der Cellulose, insbesondere über deren Lösung im Darmkanale. (Zeitschr. f. Biol. Bd. XX. 1884.)
- 32) Ustjantzen, Zur Frage über die Rolle der Rohfaser beim Stickstoffumsatz im tierischen Organismus. (Landw. Versuchsstationen. Bd. LVI. p. 463.)
- 33) Weiser, Ueber die Verdaulichkeit der Pentosane. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1904. p. 352.)
- 34) Weiske, Ueber die Bedeutung des Asparagins für die tierische Ernährung. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1886.)
- 35) Weiske und Schulze, Ueber das Verhalten verschiedener Amidkörper im tierischen Organismus. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1888.)

- 36) Weiske, Schulze und Fleschig, Kommt der Cellulose eiweiß-ersparende Wirkung bei der Ernährung der Herbivoren zu. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1886. p. 746.)
 37) Weiss, Zur Kenntnis der Darmflora. (Centralbl. f. Bakt. I. Bd. XXXVI. p. 13.)
 38) Wüthrich und Freudenreich, Ueber den Einfluß der Fütterung auf den Bakteriengehalt des Kuhkotes. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1898. p. 285.)
 39) Zuntz, Ueber die Verdauung und den Nährwert der Cellulose. (Centralbl. f. Agr.-Chemie 1892. p. 88.)
 40) —, Ueber die Bedeutung der Amidsubstanzen für die tierische Ernährung. (Centralbl. f. Agr.-Ch. 1883. p. 602.)

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.

(Schluß.)

Da diese Tatsachen den Untersuchungen Bjeloussows widersprachen, welchem es, wenigstens bei Menschen, nicht gelang, die acidophilen Bakterien ohne Durchführung der Faeces durch saure Bouillon auszuscheiden, so nahm O braszow 2 Proben der Faeces einer erwachsenen Hündin und veranstaltete daraus unmittelbar Plattenkulturen sowohl auf Agar mit Zucker, als auch auf Agar ohne Zucker. Es entwickelten sich in denselben viele Kolonien, aber keine von ihnen gehörte den acidophilen Bakterien an und enthielt auch nicht nach Gram färbbare Stäbchen.

Die Resultate der Untersuchungen der Faeces vom Hündchen No. 7 zusammenfassend, ersehen wir, daß bei seinem Uebergange von der Muttermilch auf Grütze und Fleisch die Flora seines Darmkanales eine auffällige Veränderung erlitt. In den Strichpräparaten verminderte sich bedeutend die Menge der nach Gram färbbaren Stäbchen, in den Plattenkulturen aber, welche ohne Durchführung der Faeces durch Bouillon mit Säure hergestellt wurden, entwickelten sich im Laufe einer gewissen Zeit gar keine Kolonien acidophiler Bakterien. Später dagegen traten die letzteren wieder auf, selbst in den unmittelbar aus den Faeces auf gewöhnlichem Agar veranstalteten Plattenkulturen, doch in sehr geringen Mengen und unter zahlreichen anderen Kolonien, die aus nach Gram nicht färbbaren Stäbchen bestanden.

Bei der Untersuchung der Faeces der jungen Hunde, welche mit steriler Kuhmilch gefüttert wurden, trat zu Anfang des Versuches, besonders in den Strichpräparaten von den Hündchen No. 1 und 3, Tabelle 9, eine Verminderung der Anzahl der nach Gram nicht färbbaren Stäbchen ein, am 27. Versuchstage aber (Beobachtung No. 8, Tabelle 9) waren dieselben in Präparaten schon gar nicht mehr sichtbar, doch nachher, bei den folgenden Beobachtungen, vergrößerte sich unerwartet die Menge der nicht färbbaren Stäbchen, um sich nach einiger Zeit wieder zu verringern.

Die Untersuchung der Strichpräparate der Faeces von den Hündchen No. 3 und 4, zweite Serie (Tabelle 10) ergab im ganzen dieselben Resultate.

In den Plattenkulturen aus den Faeces von den mit steriler Kuhmilch genährten Hündchen, welche ohne Durchführung durch saure Bouillon sowohl auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker, als auch ohne letzteren angestellt wurden, konnte ein ständiges Vorhandensein von Kolonien acidophiler Bakterien beobachtet werden, allerdings gleichzeitig mit Kolonien nicht färbbarer Stäbchen, aber diese entwickelten sich scheinbar in geringerer Anzahl als in gleichen Plattenkulturen aus den Faeces vom Hündchen No. 7 (Tabelle 10). Zweimal gelang es sogar, dabei reine Kulturen der acidophilen Bakterien zu erhalten; einmal (Beobachtung No. 7, Tabelle 10) in Plattenkulturen direkt auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker, das andere Mal (Beobachtung No. 15, Tabelle 9) in einer gleichen Plattenkultur auf gewöhnlichem Agar. Während sich in den Plattenkulturen aus den Faeces vom Hündchen No. 7, Tabelle 10 (ohne Durchführung durch saure Bouillon) nur ausschließliche Kolonien des II. Typus entwickelten, waren in denjenigen aus den Faeces von mit steriler Kuhmilch aufgezogenen Hündchen Kolonien beider Typen zu finden.

Noch interessantere Resultate ergaben die Untersuchungen der Faeces von jungen Hunden, welche mit Milchkulturen acidophiler Bakterien gefüttert wurden.

Bei den jungen Hunden No. 2 und 4, Tabelle 9, die sich mit Kulturen des *B. acidophilus* No. 1 nährten, bemerken wir schon am 24. Tage nach Beginn des Versuches (Beobachtung No. 7, Tabelle 9) in den Strichpräparaten aus den Faeces das vollständige Fehlen der nach Gram färbaren Stäbchen, welche beim Hündchen No. 2 bis zum Ende des Versuches nicht mehr erschienen, während dieselben beim Hündchen No. 4 noch einmal auftraten und dann ebenfalls endgültig verschwanden.

Die Untersuchung der Strichpräparate aus den Faeces der mit Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 2 genährten Hündchen No. 1, 2, 5 und 6, Tabelle 10, ergab vollständig gleiche Resultate mit den oben beschriebenen, nur mit dem Unterschiede, daß die nicht färbbaren Stäbchen aus den Strichpräparaten etwas später verschwanden (37.—46. Tag der Fütterung) und weiterhin nicht mehr auftraten.

Obgleich die Hündchen No. 1 und 2 mit 5-tägigen Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 2 genährt wurden, in denen die Milch noch nicht sauer geworden, und die Hündchen No. 5 und 6 mit 7—9-tägigen ebensolchen Kulturen, in welchen aber die Milch bereits geronnen und stark saure Reaktion zeigte, war doch kein Unterschied bei Untersuchung der Strichpräparate aus ihren Faeces zu bemerken.

Bei Untersuchung der Plattenkulturen aus den Faeces der Hündchen No. 2 und 4, Tabelle 9, welche mit Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 1 gefüttert wurden, konnte kein Vorwalten von Kolonien des I. Typus vor denjenigen des II. Typus konstatiert werden; die Zahl der letzteren war entweder gleich derjenigen der ersteren, oder übertraf sie. Vom 10. Tage an begannen die Kolonien des Typus I schon sichtbar vorzuwalten, und in einzelnen Fällen traten sogar die Kolonien des Typus II überhaupt nicht auf.

Es hat hier den Anschein, als ob der *B. acidophilus* No. 1, dessen Kulturen in den Darmkanal eingeführt wurden, verdrängt wird. Jedoch konnte eine vollständige Entfernung desselben aus dem Darne nicht erreicht werden, selbst nicht am 77. Tage des Versuches, nachdem die Hündchen bereits ungeheure Mengen von Kulturen des *B. acidophilus* No. 1 genossen hatten.

Die Plattenkulturen aus den Faeces dieser Hündchen, welche vom

34. Tage ab (Beobachtung No. 10, Tabelle 9) ohne Durchführung des Untersuchungsmateriales durch saure Bouillon, sowohl auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker, wie auch auf gewöhnlichem Agar angestellt wurden, zeigten im Gegensatze zu dem, was bei den mit steriler Kuhmilch gefütterten Hündchen zu beobachten war — stets vollständig reine Kulturen acidophiler Bakterien, und wenn sich in denselben auch Kolonien beider Typen entwickelten, so waren stets diejenigen des Typus I in größerer Zahl vorhanden, als die des Typus II, ja die letzteren fehlten manchmal ganz.

Ebensolche Resultate ergab die Untersuchung der Plattenkulturen aus den Faeces von den Hündchen No. 1, 2, 5 und 6, Tabelle 10, denen Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 2 verfüttert wurden, mit dem Unterschiede, daß in den betreffenden Plattenkulturen aus Faeces dieser Hündchen die Kolonien des II. Typus vor denen des I. Typus vorwalten und sogar zuweilen die Kolonien des Typus I vollständig fehlten. Wie beim vorigen Versuche, gelang es auch hier nicht, die totale Verdrängung des *B. acidophilus* No. 1 aus dem Darminhalt zu erreichen, selbst nicht am 69. (60.) Tage der Fütterung mit Kulturen des *B. acidophilus* No. 2.

Irgend ein wesentlicher Unterschied in den Resultaten bei Anwendung von 5- oder 7—9-tägigen Kulturen des *B. acidophilus* No. 2 war nicht zu beobachten.

Wir können die soeben erwähnten Tatsachen kurz folgendermaßen dahin zusammenfassen:

1) Während der Periode der Fütterung der jungen Hunde mit Muttermilch ist niemals in den Strichpräparaten aus Faeces das Vorherrschen der nach Gram nicht färbbaren Stäbchen vor den färbbaren zu beobachten; die Anzahl der letzteren ist im Gegenteil größer als die der ersteren, oder fast dieselbe.

2) In den Plattenkulturen aus den Faeces solcher Hündchen gelingt es, selbst in dem Falle, wenn die Proben durch saure Bouillon nicht durchgeführt wurden, wenigstens zuweilen (Beobachtung No. 6, Tabelle 10), Reinkulturen acidophiler Bakterien zu erlangen.

3) Bei plötzlichem Uebergange der Hündchen von der Muttermilch zu Grütze und Fleisch verändert sich die Darmflora, den Resultaten der Untersuchung der Strichpräparate nach zu urteilen, sehr stark: Es vergrößert sich plötzlich die Zahl der sich nicht färbbaren Stäbchen, welche dann vorherrschend werden.

4) Die zu dieser Zeit ausgeführten Plattenkulturen aus den Faeces ohne deren Durchführung durch saure Bouillon weisen anfangs keine Kolonien acidophiler Bakterien auf, nach einiger Zeit jedoch erscheinen die letzteren, aber in nur sehr geringer Zahl und in Begleitung einer großen Menge von Kolonien nicht färbbarer Stäbchen.

5) Bei Fütterung der Hündchen mit steriler Kuhmilch ist das Verhältnis der Zahl der färbbaren Stäbchen zu den nicht färbbaren in den Strichpräparaten im ganzen das gleiche, wie bei Fütterung dieser Tiere mit Muttermilch; zeitweilig verschwinden die nicht färbbaren Stäbchen aus den Strichpräparaten sogar vollständig.

6) In den Plattenkulturen aus den Faeces solcher Hündchen ohne Durchführung der Proben durch saure Bouillon gelingt es nur selten, Reinkulturen acidophiler Bakterien zu erlangen; gewöhnlich sind sie begleitet von Kolonien nicht färbbarer Stäbchen, aber die letzteren entwickeln sich in geringerer Anzahl als in den Plattenkulturen aus den

Faeces von Hündchen, die sich mit Grütze und Fleisch nähren; jedenfalls fehlen die Kolonien acidophiler Bakterien hier nie.

7) Bei Fütterung der Hündchen mit Milchkulturen acidophiler Bakterien kann man in den Strichpräparaten aus den Faeces, sogar bald nach Beginn des Versuches, das völlige Verschwinden der nicht färbbaren Stäbchen beobachten.

8) In den Plattenkulturen, welche aus den Faeces dieser Hündchen ohne Durchführen der Proben durch saure Bouillon angestellt wurden, entwickeln sich die acidophilen Bakterien in vollständig reiner Kultur, wobei die Kolonien desjenigen Typus sichtbar vorherrschen, dessen Kulturen dem Hündchen verfüttert wurden, doch ist es während der Versuchszeit nicht gelungen, die eine Art der acidophilen Bakterien durch die andere vollständig zu verdrängen.

Zwecks Aufklärung der Frage, ob nicht die Einführung solch großer Mengen der Kulturen acidophiler Bakterien in den Darmkanal der Hünd-

Tabelle 11. Körpergewicht der Hündchen No. 2 und No. 4, die mit Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 1 (Tabelle 9) gefüttert wurden, im Vergleich zum Körpergewichte der Hündchen No. 1 und No. 3, welche sterile Kuhmilch als Nahrung erhielten:

Zeit des Wiegens	Hündchen			
	No. 1	No. 3	No. 2	No. 4
	Sterile Kuhmilch		Milchkulturen des <i>B. acidophilus</i> No. 1	
	g	g	g	g
Gleich nach der Geburt	249	205	225	264
am 1. Versuchstage	545	460	562	575
„ 29. Versuchstage ¹⁾	1015	765	1135	1005
„ 77. „	1475	1330	1880	1590
„ 87. „	1745	1545	1997	1715

Tabelle 12. Körpergewicht der Hündchen No. 1, 2, 5 und 6, die mit Milchkulturen des *B. acidophilus* No. 2 (Tabelle 10) gefüttert wurden, im Vergleich zum Körpergewicht der Hündchen No. 3 und 4, welche die sterile Kuhmilch erhielten und No. 7, das sich normal nährte:

Zeit des Wiegens	Hündchen						
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7
	5-tägige Kultur des <i>B. acidophilus</i> No. 2		Sterile Kuhmilch		7-9-tägige Kultur des <i>B. acidophilus</i> No. 2		Normale Nahrung
	g	g	g	g	g	g	g
Gleich nach der Geburt	320	310	330	300	290	300	270
am 1. Versuchstage	370	347	380	350	427	490	—
„ 30. (21.) ²⁾ Versuchstage ³⁾	1036	910	1140	1015	810	855	727
„ 69. (60.) „	2637	1990	2448	2565	1870	1635	1340
„ 79. (70.) „	2705	2060	2530	2640	1930	1725	1470

1) Von diesem Tage an hören die Hündchen auf, Muttermilch zu saugen und nähren sich ausschließlich mit der entsprechenden Versuchsmilch.

2) Die Zahlen in den Klammern beziehen sich auf Hündchen No. 5 und 6, der Versuch mit denselben begann 9 Tage später als mit No. 1-4.

3) Von diesem Tage an hört die Mutter auf, zu nähren und die Hündchen gehen ausschließlich zum Versuchsfutter über, das Hündchen No. 7 bekommt Grütze und Fleisch.

chen eine schädliche Einwirkung auf die Gesundheit derselben ausübe, wurden während des fast 3 Monate dauernden Versuches mit der Verfütterung von Kulturen des *B. acidophilus* No. 1 und über 2 $\frac{1}{2}$ Monate lang im Versuch mit den Kulturen des *B. acidophilus* No. 2 zuerst täglich, dann alle 2—3 Tage, die Versuchshündchen gewogen und ihre Temperatur gemessen.

Es erwies sich, daß während dieser ganzen Zeit bei keinem derselben eine Erhöhung der Temperatur über die Norm eingetreten war¹⁾, während das Körpergewicht im Vergleich zu den Kontrollhündchen sich folgendermaßen veränderte (s. Tab. 11 u. 12 p. 121).

Die Zunahme des Körpergewichtes während der Fütterungsperiode ausschließlich mit Versuchsmilch geht aus folgender Zusammenstellung hervor:

Tabelle 13. Zunahme des Körpergewichtes während der Fütterungsperiode, ausschließlich mit Kulturen des *B. acidophilus* No. 1 (Hündchen No. 2 und 4), oder allein mit steriler Kuhmilch (Hündchen No. 1 und 3):

An welchem Versuchstage	Hündchen			
	No. 1	No. 3	No. 2	No. 4
	Sterile Kuhmilch		Milchkulturen des <i>B. acidophilus</i> No. 1	
	g	g	g	g
am 29. Tage	1015	765	1135	1005
„ 77. „	1475	1330	1880	1590
Zunahme $\left\{ \begin{array}{l} \text{in Gramm} \\ \text{„ Proz.} \\ \text{im Mittel} \end{array} \right.$	460	565	745	585
	45	74	66	58
	60 Proz.		62 Proz.	

Tabelle 14. Zunahme des Körpergewichtes während der Fütterungsperiode, ausschließlich mit Kulturen des *B. acidophilus* No. 2 (Hündchen No. 1, 2, 5 und 6) oder allein mit steriler Kuhmilch (Hündchen No. 3 und 4) und Hündchen No. 7 normal genährt:

An welchem Versuchstage	Hündchen						
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7
	5-tägige Kulturen des <i>B. acidophilus</i> No. 2		Sterile Kuhmilch		7—9-tägige Kultur des <i>B. acidophilus</i> No. 2		Normalfütterung
	g	g	g	g	g	g	g
am 30. (21.) Tage ²⁾	1036	910	1140	1015	810	855	727
„ 79. (70.) „	2705	2060	2530	2640	1930	1725	1470
Zunahme $\left\{ \begin{array}{l} \text{in Gramm} \\ \text{„ Proz.} \\ \text{im Mittel} \end{array} \right.$	1669	1150	1390	1625	1120	870	743
	161	126	122	160	138	102	102
	144 Proz.		141 Proz.		120 Proz. ³⁾		102 Proz.

1) Leider hat sich in die der Oblaszowschen Arbeit beigelegte Tabelle ein unangenehmer Fehler eingeschlichen: Alle Temperaturangaben sind nämlich um 2° niedriger vermerkt worden.

1) Die Zahlen in den Klammern beziehen sich auf die Hündchen No. 5 und 6, bei welchen der Versuch um 9 Tage später begann.

2) Die Hündchen No. 5 und 6 nährten sich, wie erwähnt, mit älteren Kulturen, in welchen die Milch geronnen war. Sie nahmen ihre Portion, besonders am Anfange des Versuches, mit großem Widerwillen zu sich.

Diese Zahlen zeigen, daß die Fütterung der Hündchen mit Milchkulturen der acidophilen Bakterien keine hemmende Wirkung auf die Zunahme des Körpergewichtes ausgeübt hat.

Der einzige bemerkbare Einfluß, den die Fütterung ausübte, war die etwas flüssigere Konsistenz der Faeces und eine stärkere saure Reaktion derselben, besonders bei den Hündchen, welche 7—9-tägige Kulturen des *B. acidophilus* No. 2 erhielten. Es ist sehr leicht möglich, daß die Ursache dieser Erscheinungen nicht die acidophilen Bakterien selbst, sondern die Acidität ihrer Milchkulturen war, besonders stark ausgeprägt in den 7—9-tägigen Kulturen des *B. acidophilus* No. 2, welche eine Beschleunigung der Peristaltik der Gedärme hervorrief. Aus dem Vergleiche des Körpergewichtes der Hündchen ist jedoch zu ersehen, daß diese Erscheinungen keine wesentliche Einwirkung auf die Gesundheit der Tiere hatten.

Auf Grund aller dieser Tatsachen sind wir berechtigt, anzunehmen, daß die acidophilen Bakterien, selbst wenn sie in den Darm in großen Mengen eingeführt werden, vollständig unschädlich sind. Wenn man diesen Umstand demjenigen gegenüberstellt, daß diese Bakterien, wenigstens bei den Säugetieren, schon in den ersten Momenten der Bevölkerung des Darmes mit Mikroorganismen auftreten, daß sie in demselben unabhängig von der Lebenszeit und dem Wechsel der Nahrung wahrscheinlich bis in das späte Alter verbleiben und allem Anschein nach bei sämtlichen Repräsentanten des Tierreiches beobachtet werden, bringt ein derartiges hartnäckiges Aufrechterhalten im Verdauungskanal derjenigen Eigenschaften, welche die günstigen Bedingungen zur Existenz und Vermehrung der betreffenden Bakterien sichern, und zwar nicht nur zu Lebenszeiten des einzelnen Individuums, sondern auch in einer endlosen Reihe von Epochen, während welcher die progressive Evolution im Tierreich stattfand, auf den Gedanken, ob nicht dieselben irgend eine wichtige biologische Aufgabe zu erfüllen haben und ob nicht die Tiere aus deren Anwesenheit irgend welchen wesentlichen Nutzen ziehen?

Da diese Bakterien zuerst bei Brustkindern, in deren Faeces sie sich in ungeheuren Mengen vorfinden, in der Folge aber auch bei jungen Säugetieren beobachtet wurden, welche noch nicht aufgehört hatten, sich mit Muttermilch zu nähren, während über die Anwesenheit der acidophilen Bakterien bei den Repräsentanten anderer Tierklassen bis jetzt, soviel uns bekannt, keine Mitteilungen veröffentlicht waren, machte sich die Meinung geltend, daß ihre Anwesenheit im Darne irgend eine Beziehung zur Ernährung des Tieres mit Milch habe, und dementsprechend entstand die Frage, ob nicht diese Bakterien eventuell eine besondere Rolle beim Verdauungsprozeß spielen. Wir haben oben am Anfang dieser Abhandlung darauf hingewiesen, in welchem Maße derartige Voraussetzungen der Wahrheit entsprechend erscheinen. Und wirklich haben die von Trussow¹⁾ ausgeführten Untersuchungen gezeigt, wie auch die in der Literatur vorhandenen Angaben anderer Autoren, daß sogar in 5—7-tägigen Milchkulturen, die im Brutschrank bei 37,5° C unter anaëroben Bedingungen gehalten wurden, die Milch nur unbedeutende Veränderungen erleidet. Es tritt eine unwesentliche Verminderung der Eiweißkörper (gegen 0,5 Proz.) ein, deren Moleküle sich wahrscheinlich spalten und hierdurch eine Vermehrung des Fett- und Säuregehaltes der Milch bedingen (letzteren jedoch nicht mehr als 1 Proz. nach Oxalsäure berechnet). Der

1) Op. cit.

Milchzucker bleibt unverändert, der gesamte Trockenrückstand der Milch vermindert sich.

Wenn nun auch die Rolle dieser Bakterien bei dem Verdauungsakte höchst zweifelhaft erscheint, so wird ihre eventuell nützliche Rolle doch durch die Tatsachen angedeutet, auf welche wir bei Beschreibung der Verfütterungsversuche der Hündchen mit Milchkulturen acidophiler Bakterien hingewiesen haben. Wir sahen, daß unter solchen Bedingungen bei den Hündchen die Darmflora sehr große Veränderungen erlitt und daß schließlich die acidophilen Bakterien alle anderen Mikroorganismen aus dem Darne verdrängten. Letzteres scheint darauf hinzudeuten, daß diese Bakterien die Rolle von Regulatoren der Darmflora spielen und unter bestimmten Bedingungen auf die anderen Mikroorganismen unterdrückend einwirken können, dabei vielleicht auch auf solche Bakterien, deren Anwesenheit im Darne nicht nur erwünscht, sondern auch für die Tiere sogar gefährlich ist.

Um eine solche Ansicht über die Rolle der acidophilen Bakterien als richtig betrachten zu können, ist noch eine ganze Reihe ergänzender Untersuchungen notwendig (ein Teil dieser Untersuchungen ist bereits in unserem Laboratorium begonnen), da bei den Versuchen der Fütterung der Hündchen mit Milchkulturen das Verdrängen aller anderen Mikroorganismen durch die acidophilen Bakterien aus dem Darne erst nach Einführung sehr großer Mengen von Kulturen in denselben aufzutreten begann. Es ist uns aber vollständig unbekannt, ob sich die acidophilen Bakterien unter natürlichen Bedingungen in solchen großen Massen im Darne ansammeln können, und ob dieses überhaupt notwendig ist, da eventuell die schädlichen Mikroorganismen, gegen welche die acidophilen Bakterien den Tieren als Schutz dienen sollen, bedeutend leichter unterdrückt werden, als die Mikroorganismen des normalen Darmes. Ebenso ist es noch vollständig unentschieden, ob sich nicht beim Zusammenwirken der acidophilen und der krankheitserregenden Bakterien vielleicht irgend welche neue, unvorhergesehene Faktoren zeigen, welche leicht bei den Versuchen mit Tieren, die der Infektion nicht unterworfen waren, unbemerkt bleiben konnten. So sahen wir z. B., daß die Faeces bei den mit Milchkulturen genährten Hündchen flüssiger wurden, bei denen aber, die 7—9-tägige Kulturen des *B. acidophilus* No. 2 erhielten, manchmal sogar ganz wässrig waren. Diese Erscheinung, wenn sie auch keinen Einfluß auf den Gesundheitszustand der Hündchen ausübte, weist doch auf den anormalen Zustand des Darmes hin, bei welchem vielleicht seine Empfindlichkeit für Infektion oder Intoxikation höher wird. Wenn ein solcher Zustand der Darmwände bei übermäßiger Vergrößerung der Anzahl acidophiler Bakterien auch unter natürlichen Bedingungen eintritt, oder dabei irgend welche noch nicht aufgeklärte Erscheinungen sich geltend machen, die die Empfänglichkeit des Tieres für krankheitserregende Ursachen verstärken, so müssen diese Bakterien nicht als Beschützer der Tiere, sondern als solche betrachtet werden, deren Anwesenheit im Darne durchaus nicht wünschenswert ist. Ihre große Verbreitung unter den verschiedenen Repräsentanten des Tierreiches könnte man dann dadurch erklären, daß sie in dem Darminhalte zufälligerweise ebensolche günstige Bedingungen für ihre Entwicklung finden, wie z. B. die Hefe in der Würze, und auch dadurch, daß diese Bedingungen im Darmkanal selbst bei den genetisch am weitesten voneinander entfernten Tieren nicht wesentlich verschieden sind.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Kolonie des *B. acidophilus* No. 1, gewachsen bei 37,5° C auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker in 2-tägiger Plattenkultur aus Faeces eines erwachsenen Menschen.

Fig. 2. Kolonie des *B. acidophilus*, gewachsen bei 37,5° C auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker in 4-tägiger Plattenkultur aus Faeces eines erwachsenen Menschen. Beide Kolonien bei 50-facher Vergrößerung.

Nachdruck verboten.

Ueber Komplementoide.

[Aus dem kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Von Dr. **Hans Sachs**, Mitglied des Institutes.

In einer vor mehreren Jahren erschienenen Arbeit¹⁾ haben Ehrlich und ich die Existenz der Komplementoide, die ja allerdings durch die Möglichkeit der Antikomplementierung durch inaktivierte Sera nicht mehr zweifelhaft war, direkt bewiesen. Wir haben gezeigt, daß Meerschweinchenblutkörperchen, die mit inaktiviertem Hundeserum digeriert sind, sich in aktivem Meerschweinchenserum nicht mehr lösen. Da bei gleichzeitigem Mischen von Meerschweinchenblut, inaktivem Hundeserum und aktivem Meerschweinchenserum Hämolyse eintritt, mußte geschlossen werden, daß das Komplement des Meerschweinchenserums zwar eine größere Avidität zum Hundeambozeptor hat als das Hundekomplementoid, daß aber nach vorheriger Vereinigung des letzteren mit dem Ambozeptor eine sekundäre Verfestigung eintritt, die dem nachträglich zugefügten Meerschweinchenkomplement den Zugang wehrt. Diese Erscheinung wurde mit dem Namen der „Komplementoidverstopfung“ belegt. Neuerdings hat Gay²⁾ in einer aus dem Institute Bordets in Brüssel hervorgegangenen Arbeit unsere Angaben vollauf bestätigt und die von uns erbrachte Beweiskette durch den Nachweis, daß das Meerschweinchenkomplement in der Tat in der Zwischenflüssigkeit vorhanden, also nicht gebunden worden ist, noch erhärtet. Trotzdem kommt Gay zu dem Schluß, daß Komplementoide in unserem Sinne nicht existieren, daß es sich vielmehr einfach um Komplemente handele, die durch die gewählte Inaktivierungstemperatur (51°) sowohl in ihrer Bindungsfähigkeit, als auch in ihrer hämolytischen Wirkung abgeschwächt sind. Für die Abnahme der Bindungsfähigkeit sucht man allerdings vergeblich nach einem Beweise. Indessen haben wir uns schon in unserer ersten Mitteilung dahin ausgesprochen, daß eine gewisse, wenn auch geringe Herabsetzung der Avidität bei der Komplementoidbildung auch in unserem Falle stattfindet, wovon ich mich in späteren Versuchen³⁾ noch dadurch überzeugen konnte, daß der gegenüber dem Meerschweinchenkomplement verstopfte Ambozeptor der Wir-

1) Ehrlich, P. und Sachs, H., Ueber den Mechanismus der Ambozeptorenwirkung. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 21.)

2) Gay, F. P., Observations on the single nature of haemolytic immune bodies, and on the existence of so-called „Complementoids“. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. No. 2.)

3) Ehrlich, P., Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung. Berlin (Hirschwald) 1904. p. 320.

kung des Hundekomplements noch zugänglich ist. Aber eine solche Aviditätsverminderung ist nicht mit der Zerstörung der haptophoren Gruppen identisch. Eine Aviditätsverminderung tritt stets bei der Inaktivierung der Komplemente ein, wie sich aus dem in den meisten Fällen unmöglichen Nachweise der Komplementoide im Reagenzglas ergibt. Daß aber die haptophoren Gruppen erhalten, also wirkliche Komplementoide entstanden sind, zeigt ja, wie bekannt, die stets gelingende Antikomplementherzeugung durch Injektion inaktivierter Sera. In unserem besonders günstig liegenden Falle ist nun die Herabsetzung der Avidität bei der Komplementoidbildung so gering, daß die Demonstration der Komplementoide im Reagenzglas durch das Verstopfungsphänomen möglich ist¹⁾. Aber Gay glaubt weiter aus seinen Versuchen schließen zu müssen, daß das von uns durch Erhitzen auf 51° inaktivierte Serum gar nicht inaktiv, sondern nur in seiner hämolytischen Wirksamkeit abgeschwächt ist. Zwar erwies es sich in seinen Versuchen für die übliche 5-proz. Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung unwirksam, aber bei Verwendung dünnerer Blutaufschwemmungen (3—0,5-proz.) oder gar der Sedimente von je 1 ccm 5-proz. oder dünnerer Aufschwemmungen soll es noch recht stark hämolytisch gewirkt haben. Bei einer nochmaligen Nachprüfung mußte also zunächst für das inaktivierte Serum festgestellt werden, ob es die von Gay gestellten Forderungen für die Inaktivität erfüllt. In meinen Versuchen hielt aber das $\frac{1}{2}$ Stunde auf 51° erhitzte Hundeserum auch den Gayschen Kriterien für die Inaktivität absolut stand.

Ich befolgte genau das von Gay geübte Verfahren und konnte feststellen, daß 1 ccm zu gleichen Teilen mit 0,85-proz. Kochsalzlösung verdünnten, bei 51° inaktivierten Hundeserums und selbst auch 1 ccm unverdünnten Hundeserums zu je 1 ccm 5-, 2,5-, 1-, 0,5-proz. Blutaufschwemmung oder zu den Sedimenten derselben zugesetzt, auch nicht die geringste hämolytische Wirkung auszuüben imstande war. Es ist ja möglich, daß sich verschiedene Hundesera in Bezug auf die Inaktivierbarkeit verschieden verhalten. Jedenfalls ist das von mir benutzte, auf 51° erhitzte Hundeserum vollständig inaktiv gewesen. Mit diesem Serum wurde nun der Verstopfungsversuch angestellt.

Je 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblut wurde mit absteigenden Mengen inaktiven Hundeserums bei 0°²⁾ und bei 37° $\frac{1}{2}$ Stunden digeriert, darauf wurden die Rörchen zentrifugiert und zu den von der Zwischenflüssigkeit befreiten Sedimenten je 0,3 ccm aktiven Meerschweinchenserums und $\frac{1}{2}$ ccm physiologische Kochsalzlösung gefügt. Die eingetretene Hämolyse ergibt sich aus folgender Tabelle.

1) Der von uns zuerst erbrachte Nachweis der Komplementoide im Reagenzglasversuche ist inzwischen übrigens auch anderen Forschern gelungen. So wies Fuhrmann (Sitzungsber. d. kaiserl. Akad. d. Wissensch. in Wien. 1903. Oktober) in einem alten, vom Kaninchen gewonnenen Rinderblutimmunsrum, das seine hämolytische Wirksamkeit verloren hatte, mittels der von uns angegebenen Methodik Komplementoide nach, und Muir und Browning (Proceedings of the Royal Society. Vol. LXXIV. 1904. 17. Mai) konnten sich von der Existenz der Komplementoide im inaktivierten Kaninchen- und Meerschweinchenserum auf einem neuen sehr originellen Wege überzeugen. Sie lösten Blutkörperchen, die mit einem reichlichen Ueberschuß von Ambozeptoren präpariert waren, durch die minimale Komplementmenge auf und setzten nun inaktives Serum (Komplementoid) zu. Dadurch waren die noch freien komplementophilen Gruppen der verankerten Ambozeptoren durch Komplementoid besetzt worden, so daß weiteres hinzugefügtes Komplement (aktives Serum) nicht mehr aufgenommen werden konnte.

2) Bei 0° wird, wie in den meisten Fällen, auch bei unserer Kombination nur der Ambozeptor, nicht das Komplement gebunden, die Komplementoidverstopfung muß daher ausbleiben.

Tabelle 1.

Mengen des bei 51° inaktivierten Hundeserums	Lösung der Sedimente bei Zusatz von 0,3 ccm Meerschweinchenserum nach Vorbehandlung bei:	
	A. 0°	B. 37°
ccm		
1,0	komplett	} 0
0,5	fast " komplett	
0,35	stark	
0,25	" 0	
0,15	" 0	
0	" 0	

Es ist also eine vollständige Komplementoidverstopfung eingetreten, obwohl das Serum nachweislich absolut inaktiv war. Der Versuch zeigt zur Genüge, daß es im Gegensatz zu den Ausführungen Gays Komplementoide im eigentlichen Sinne gibt, d. h. Komplementmodifikationen, deren zymotoxische Gruppen vollständig zerstört, deren haptophore Gruppen aber erhalten geblieben sind. Man ist also nach wie vor berechtigt, an den Komplementen eine labilere zymotoxische und eine stabilere haptophore Gruppe zu unterscheiden. Daß die Demonstration der Komplementoide im Reagenzglas bei der von uns herangezogenen Kombination so leicht gelingt, ist lediglich durch die besonders große Thermolabilität des Hundekomplements bedingt. Daß bei Erhitzung des Hundeserums auf höhere Temperaturen schließlich auch die haptophore Gruppe, ohne, wie die zymotoxische, zerstört zu werden, der gesetzmäßigen Aviditätsverminderung anheimfällt, ist selbstverständlich, und die Beobachtung von Gay, daß bei 56° inaktiviertes Hundeserum das Verstopfungsphänomen nur noch angedeutet — nach meinen Erfahrungen übrigens immer noch deutlich — gibt, bietet kein besonderes Interesse. Dies um so weniger, als der Ambozeptor des Hundeserums, wie ich in einer früheren Arbeit gezeigt habe, besonders thermolabil ist. Schon durch Erhitzen auf 56° wird er im Gegensatz zu der Angabe Gays, dem dies durch Verwendung eines Ambozeptorüberschusses entgangen zu sein scheint, in seiner Wirksamkeit erheblich herabgesetzt, wofür in folgender Tabelle noch ein Beispiel mitgeteilt sei.

Tabelle 2.

Mengen des inaktivierten Hundeserums	Hämolyse von 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblut, mit inaktivem Hundeserum 1½ Stunden bei 0° digeriert, darauf abzentrifugiert, Zusatz von 0,3 ccm Meerschweinchenserum. Inaktivierungstemperatur des Hundeserums	
	A. 51°	B. 56°
ccm		
1,0	komplett	komplett
0,5	"	stark
0,35	fast " komplett	mäßig
0,25	stark	Spur
0,15	" 0	0
0	" 0	0

Ueber den Einfluß der physiologischen Kochsalzlösung auf die hämolytischen Prozesse seien übrigens noch einige Bemerkungen gestattet. Gay hält die Verwendung der üblichen 5-proz. Blutaufschwemmung insofern nicht für einwandfrei, als die Hämolyse durch die Verdünnung mit Kochsalzlösung erheblich gehemmt werden soll. Nach

unseren Erfahrungen kommt der Kochsalzlösung der ihr von Gay vindizierte hemmende Einfluß bei den angewandten Verdünnungen allerdings nicht zu, und auch Bordet¹⁾ hat ja erst vor kurzem der physiologischen Kochsalzlösung sogar einen die Hämolyse befördernden Einfluß zugeschrieben, indem er sagt: „Que l'eau physiologique rende les globules peu résistants à l'action de traces de sérum hémolytique, c'est un fait couramment observé par les expérimentateurs.“ Speziell für das Hundeserum habe ich die von Gay beschriebene hemmende Wirkung der physiologischen Kochsalzlösung ebenfalls nicht nachweisen können. Mir stand zu diesem Versuche ein älteres Hundeserum zur Verfügung, dessen hämolytische Kraft für Meerschweinchenblut durch das längere Lagern schon an und für sich beträchtlich herabgesetzt war. Die Prüfung bei verschiedenen Temperaturen erhitzter Serumproben ergab das aus Tabelle 3 ersichtliche Resultat.

Tabelle 3.

Meerschweinchenblutmenge		Hämolytische Kraft von 0,5 ccm $\frac{1}{2}$ verdünnten Hundeserums, $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt auf:			
		a. 40°	b. 45°	c. 49°	d. 50°
1 ccm	5-proz.	mäßig	mäßig	0	} 0
1 "	2,5- "	stark	"	0	
1 "	1- "	komplett	komplett	0	
1 "	0,5- "	"	"	fast komplett.	
Sediment von	1 ccm 5-proz.	mäßig	wenig	0	
	1 " 2,5- "	stark	mäßig	0	
	1 " 1- "	komplett	komplett	0	
	1 " 0,5- "	"	"	fast komplett	

Wie die Tabelle zeigt, ist der Grad der Hämolyse bei geringerer Blutmenge stärker, was nicht wunderbar erscheint, wenn man neben der geringeren Blutkörperchenzahl noch den Verteilungsfaktor berücksichtigt. Die Blutkörperchensedimente wurden aber in der gleichen Weise gelöst, wie die nämlich in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmten Blutmengen. Ein irgendwie hemmender Einfluß der Kochsalzlösung konnte also nicht wahrgenommen werden.

Wenn sich aber auch ein solcher, wie in den Gayschen Versuchen, gelegentlich einmal geltend machen sollte, so wäre das noch kein Grund, von der bewährten und für ein exaktes Arbeiten besonders geeigneten Verwendung der 5-proz. Blutaufschwemmungen abzusehen. Denn wenn man unter stets gleichen Versuchsbedingungen arbeitet, dürfte die Unversehrtheit der 5-proz. Aufschwemmung ein genügendes Kriterium für die relative Inaktivität sein. Und eine absolute Inaktivität gäbe es ja, wenn die von Gay mitgeteilten Befunde eine allgemeine Gültigkeit haben sollten, überhaupt nicht. So soll sich selbst das bei 56° inaktivierte Hundeserum trotz seines nachweislich besonders labilen Komplements nach Gays Versuchen noch immer aktiv erwiesen haben.

Aber immerhin ist auch in seinen Versuchen bereits das bei 51° inaktivierte Hundeserum in seiner Wirksamkeit sehr erheblich herabgesetzt, und wenn man demgegenüber die aus dem erhaltenen Verstopfungsphänomen ersichtliche ausgesprochene Intaktheit der hapt-

1) Bordet, J., Les propriétés des antisensibilisatrices et les théories chimiques de l'immunité. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XVIII. 1904. N. 10. p. 614.)

phoren Gruppen der Komplemente in Betracht zieht, so scheint mir auch aus den Versuchen Gays der Schluß nicht berechtigt zu sein, daß haptophore und zymotoxische Gruppen bei der Inaktivierung der Komplemente in gleicher Weise geschädigt werden.

Jedenfalls begrüßen wir es mit Freude, daß die Tatsache der Komplementoidverstopfung auch aus der Schule Bordets eine volle Bestätigung erfahren hat. Sie ist mit der Sensibilisierungstheorie ebenso wenig vereinbar, wie die vor kurzem erschienene Arbeit von Bordet¹⁾ über die Antiambozeptoren, deren Wirkung nach unseren Ausführungen²⁾ gegen die komplementophile Ambozeptorgruppe gerichtet ist. Beide Phänomene finden aber in der Ambozeptorentheorie ohne weiteres ihre einfachste Erklärung, und so ist zu hoffen, daß dieser von beiden Seiten mit so viel Mühe und Sorgfalt geführte Streit nunmehr endgültig entschieden ist.

Nachdruck verboten.

Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke.

[Aus dem kgl. Institute für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Ehrlich).]

Von Dr. A. Böhme, Assistenten der bakteriologischen Abteilung.

Der Nachweis des Indols hat in der Bakteriologie sowohl theoretische wie praktische Bedeutung, theoretische bei der Beurteilung des Stoffumsatzes der Bakterien im allgemeinen, praktische besonders bei der Differentialdiagnose zwischen der Typhus-Paratyphusgruppe und Coli-Arten. Nach dem Vorgange von Kitasato³⁾ wird als Indolprobe in der Bakteriologie allgemein die von Baeyer⁴⁾ entdeckte sogenannte Nitrosoindolreaktion benutzt, und zwar in der Form, die ihr durch Salkowski⁵⁾ gegeben wurde: Zu der zu prüfenden Kultur wird 1 ccm einer 0,02-proz. Natriumnitritlösung und etwas konzentrierte Schwefelsäure gegeben, bei Anwesenheit von Indol färbt die Mischung sich rot. Andere zum Indolnachweis vorgeschlagene Reaktionen, so die mit Nitroprussidnatrium anzustellende Legalsche Reaktion, ferner die von Crisafulli⁶⁾ empfohlene Fichtenspahnreaktion erfreuen sich kaum in der Bakteriologie einer verbreiteten Anwendung, da ihnen Vorzüge vor der leicht ausführbaren Nitrosoindolreaktion wohl nicht zukommen, andererseits die Legalsche Reaktion auch mit anderen chemischen Stoffen, z. B. Kreatinin, positiv ausfällt, also zu Verwechslungen Anlaß geben kann.

Trotzdem sich die von Kitasato empfohlene Reaktion vielfach bewährt hat, erscheint es nicht unzweckmäßig, auf eine andere chemische Reaktion zum Nachweis des Indols hinzuweisen, die Ehrlichsche

1) Bordet, J., l. c.

2) Ehrlich, P. und Sachs, H., Ueber den Mechanismus der Antiambozeptorwirkung. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 19 u. 20.)

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. VII. p. 519.

4) Ann. d. Chem. u. Pharm. Suppl.-Bd. VII. p. 56.

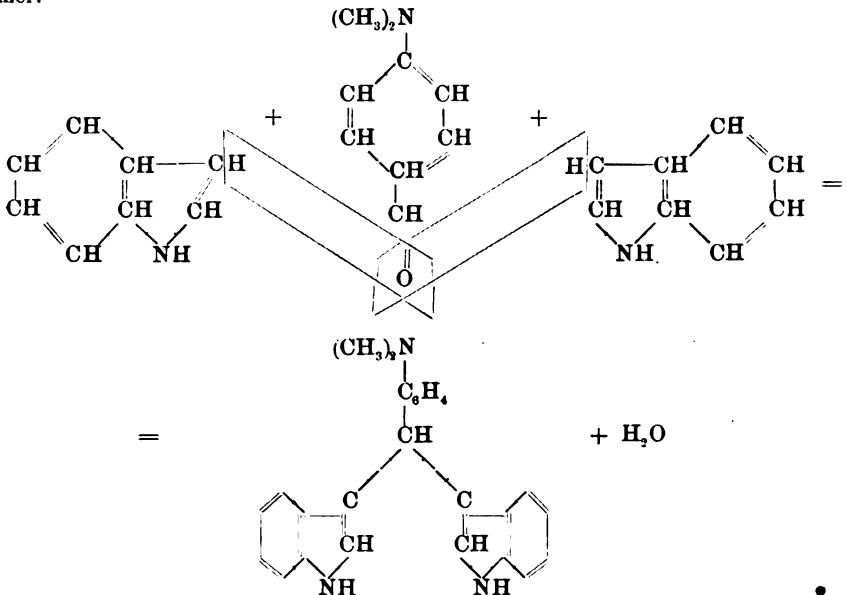
5) Virchows Arch. Bd. CX. p. 366.

6) Ref. Hyg. Rundsch. 1896.

Indolreaktion, die in mancher Richtung der bisher üblichen überlegen ist. Sie übertrifft diese an Feinheit und ist außerdem in ihrem Ausfall unabhängiger von den relativen Mengenverhältnissen der aufeinander wirkenden Stoffe. Schon Salkowski (l. c.), ebenso Lösener¹⁾ weisen darauf hin, daß bei wechselnder Menge Natriumnitrit die Reaktion verschieden ausfallen kann, daß ferner bei etwas stärkerer Indolkonzentration statt der Rotfärbung ein gelber Niederschlag auftreten kann. Auf diese Unterschiede der beiden Reaktionen wird noch später einzugehen sein.

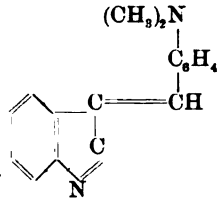
Im Jahre 1900 hat Ehrlich durch Pröschner²⁾ eine Harnreaktion bekannt gegeben, die später von ihm als Indolreaktion erkannt wurde: es ist die Dimethylamidobenzaldehydreaktion. Der Dimethylamidobenzaldehyd hat, wie die meisten Aldehyde, die Fähigkeit, sich mit Indol unter Wasseraustritt zu einem komplexen Körper, einem Rosindol, zu vereinigen, das in diesem Falle die Leukobase eines intensiv roten Farbstoffes darstellt und durch Oxydationsmittel leicht in diesen überzuführen ist.

Nach Emil Fischer³⁾ und Martin Freund und Lebach⁴⁾ vollzieht sich die Kondensation in der Weise, daß sich die Aldehydgruppe des Dimethylamidobenzaldehyds und die β -Gruppe des Indols unter Wasserabspaltung vereinigen. Dabei treten im allgemeinen 2 Indolmoleküle mit einem Aldehydmolekül zusammen, entsprechend der Formel:



Nach Freund und Lebach ist neben dieser Reaktion auch die Vereinigung nur eines Moleküls Indol mit einem Molekül Aldehyd zu einer ganz ähnlichen Leukobase möglich, aber nur unter anderen Versuchsbedingungen, nämlich bei Abwesenheit von Wasser. Im Indol muß dabei eine Umlagerung einer Doppelbindung statthaben, es reagiert in der sogenannten „Indoleninform“. Das entstehende Produkt wäre dann nach folgender Formel gebaut:

- 1) Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. 1895.
- 2) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI; ferner Ehrlich, Med. Woche. 1901. No. 15 und Freund und Lebach, Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. Bd. XXXVI.
- 3) Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. Bd. XIX, p. 2988.
- 4) Freund und Lebach, Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. Bd. XXXVI. p. 308.



Herr Prof. M. Neisser, der sich von der Brauchbarkeit der Reaktion für bakteriologische Zwecke durch Vorversuche überzeugt hatte, veranlaßte mich, die Reaktion nach dieser Richtung hin weiter zu prüfen.

Folgende Stammlösungen der Reagentien bewährten sich uns am besten:

- | | |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1) Paradimethylamidobenzaldehyd | 4 |
| Alkohol (96-proz.) | 380 |
| Salzsäure, konzentrierte | 80 |
| 2) Kaliumpersulfat in gesättigter wäßriger Lösung
(als Oxydationsmittel) | |

Zu etwa 10 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit (Bouillonkultur) werden 5 ccm der Lösung 1, dann 5 ccm der Lösung 2 zugesetzt, das Gemisch geschüttelt. Bei Anwesenheit von Indol tritt sofort oder bei geringerer Konzentration binnen weniger Minuten eine intensive Rotfärbung auf; durch Amylalkohol kann der entstehende Farbstoff ausgeschüttelt werden. Die Intensität der Färbung nimmt mitunter nach längerer Zeit wieder ab. Eine Beobachtungsdauer von 5 Minuten genügt in allen Fällen zur Feststellung der Reaktion.

Die Reaktion ist in der angegebenen Ausführung charakteristisch für das Indol (bezw. das α -Methylindol)¹⁾.

Versuche mit reinen alkoholischen (bezw. in größerer Verdünnung auch alkoholisch-wässrigen) Indollösungen überzeugen leicht von der Schärfe der Reaktion und ihrer Ueberlegenheit über die übliche Salkowski-Kitasatosche Reaktion. Während diese Indol nur bis zu einer Verdünnung von 1:100 000 anzeigt, tritt bei Anwendung der Ehrlichschen Reaktion noch in einer 10-fach größeren Verdünnung, bei 1:1 000 000, deutlichste Rotfärbung auf.

Bei stärkerer Indolkonzentration 1:100 bis 1:1000 fällt die Nitrosoindolreaktion abweichend aus, statt der Rotfärbung tritt ein gelber Niederschlag auf, erst ein weiterer Zusatz der Reagentien vermag die Rotfärbung hervorzurufen. Der Ausfall der Reaktion ist also abhängig von den relativen Mengenverhältnissen der aufeinanderwirkenden Substanzen. Die Ehrlichsche Reaktion zeigt diese Schwankungen nicht; je höher die Indolkonzentration ist, um so intensiver wird bei gleichen Reagentienmengen die Rotfärbung.

Die Prüfung der Ehrlichschen Reaktion auf ihre Brauchbarkeit

1) Andere Derivate des Indols, wie Skatol, Skatolaminoessigsäure (Martin Freund), ja auch Eiweiß, bezw. daraus entstehende Körper (E. Rohde [Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLIII]) können unter Umständen, besonders bei gleichzeitiger Anwendung konzentrierter Säure, sich ebenfalls mit Dimethylamidobenzaldehyd kondensieren und zur Bildung rotgefärbter Verbindungen Veranlassung geben. Bei Innehaltung der oben gegebenen Vorschriften ist aber eine Verwechslung mit Skatol, Skatolaminoessigsäure kaum zu befürchten; diese Stoffe geben vielmehr unter den genannten Bedingungen nach vorübergehender Rotfärbung eine intensive, aber flüchtige blaue Farbe.

für speziell bakteriologische Zwecke geschah mit eintägigen Bouillonkulturen. Wir überzeugten uns, daß Bouillon allein, auch nach längerem Stehen im Brutschrank, die Reaktion nicht zeigt, ebensowenig Peptonwasser.

Es tritt allerdings mitunter eine Andeutung eines rosa Farbtones auf, der aber mit dem deutlichen Rot, das auch noch eine Indolverdünnung 1:1000000 gibt, gar nicht zu verwechseln ist, sich auch nicht ausschütteln läßt. Die Prüfung geschah zunächst den Bakterien der Typhus- und Coli-Gruppe gegenüber, zu deren Differenzierung die Indolreaktion am häufigsten angewandt wird. Die Resultate der für die einzelnen Stämme mehrfach ausgeführten Prüfungen stimmten, wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich, völlig mit unseren Erwartungen überein:

Typhus (7 Stämme)	0	Psittacosis (1 Stamm)	0
Paratyphus B (4 Stämme)	0	Fleischvergiftungsbacillen (4 Stämme)	0
Paratyphus A (1 Stamm)	0	Dysenterie (3 Stämme)	0
Schweinepest (4 Stämme)	0	Faecalis alcaligenes	0
Mäusetyphus (2 Stämme)	0		

Bacterium coli

aus Säuglingsstühlen (4 Stämme)	+
aus pathologischen Prozessen vom Menschen (3 Stämme)	+
aus den Darmentleerungen 8 verschiedener Tierarten (9 Stämme)	+
<hr/>	
aus pathologischen Prozessen vom Menschen (4 Stämme)	0
aus dem Darminhalt einer Katze	0

Die Bakterien der Typhus-, Paratyphus- (Hogcholera-), Dysenterie-Gruppe zeichneten sich also auch dieser Gruppe gegenüber sämtlich durch den Mangel der Indolbildung aus. Zu bemerken ist allerdings, daß Typhuskulturen häufiger einen eben angedeuteten rosa Schimmer annehmen, aber kaum stärker als sterile Bouillon gelegentlich auch. Eine Verwechslung mit dem positiven Ausfall der Reaktion, wie er sich bei indolbildenden Coli-Arten oder ganz schwachen künstlichen Indollösungen (1:1000000) zeigt, erscheint ausgeschlossen.

Unter einer größeren Reihe von Coli-Kulturen der verschiedensten Herkunft zeigte sich eine nicht unerhebliche Anzahl, die nicht Indol bildete. Diese Beobachtung entspricht durchaus den sonstigen Ergebnissen der Coli-Forschung, die die Existenz eines *Bact. coli* „*anindolicum*“ (Lembke) mit sonstigen typischen Coli-Eigenschaften schon häufiger festgestellt hat (Lembke, Roux, Widal u. a.)¹⁾. Bei den indolbildenden Coli-Arten fiel die Ehrlichsche Reaktion stets deutlicher und schöner aus als die mit Natriumnitrit und Schwefelsäure.

Während in allen bisher erwähnten Fällen sich — abgesehen von der Intensität der Reaktion — eine völlige Uebereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Ehrlichschen und der bisher gebräuchlichen Indolreaktion erwies, führte der Vergleich bei dem *Bacillus* der Geflügelcholera zu einem ausgesprochenen Gegensatz. Die bisherige Methode ergab keine sichere Rotfärbung, bei Anwendung der Ehrlichschen Reaktion trat bei allen 7 geprüften Stämmen deutlichste Indolreaktion auf (5 von diesen Stämmen verdanken wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Ruppel-Höchst, 1 Stamm war von

1) Zitiert nach Escherich und Pfaundler: *Bact. coli commune*, in: *Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen*. Bd. II.

Král bezogen, einer in der bakteriologischen Abteilung bei Gelegenheit einer Hühnercholeraepidemie gezüchtet). Die Literaturangaben über das Vermögen der Geflügelcholera bacillen, Indol zu bilden, sind schwankend, einer der neuesten Untersucher, Lignières¹⁾, gibt jedenfalls an, daß Geflügelcholera bacillen kein Indol bilden und daß entgegengesetzte Behauptungen unrichtig seien. Nach dem Ausfall der Ehrlich'schen Reaktion ist jedoch daran festzuhalten, daß den Geflügelcholera bacillen Indolbildung zukommt. Ob die Differenz im Ergebnis der beiden Reaktionen nur an der größeren Schärfe der Ehrlich'schen Reaktion liegt oder an anderen Ursachen, wurde bisher nicht festgestellt.

Auf unsere Bitte hin hat sich die Firma E. Grübler & Co.-Leipzig bereit erklärt, die beiden gebrauchsfertigen und haltbaren Lösungen in den Handel zu bringen.

Nach Abschluß meiner Arbeit erhielt ich Kenntnis von einer Arbeit, welche Haenen im Bulletin de la société royale des sciences médicales de Bruxelles im Juni 1905 über den gleichen Gegenstand veröffentlicht hat. Auch er schlägt die Ehrlich'sche Reaktion, wenn auch in anderer Ausführung, an Stelle der gebräuchlichen Indolreaktion vor. Untersuchungen mit dem Bacillus der Hühnercholera werden nicht mitgeteilt.

Nachdruck verboten.

Ueber die Beziehungen zwischen Bakterienagglutination und Ausflockungserscheinungen der Kolloide.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institut in Wien
(Vorst. Prof. Dr. R. Paltauf).]

Von Dr. **Otto Porges**.

Zur Zeit der Entdeckung des Agglutinationsphänomens durch Gruber⁽¹⁾ u. Durham war das bezüglich der Ausflockungserscheinungen ermittelte Tatsachenmaterial noch ein sehr geringes; daher kam es, daß zunächst grobmechanische Vorstellungen zur Erklärung des Vorganges herangezogen wurden. Man dachte an ein Klebrigwerden der Bakterienhüllen²⁾ [Gruber (1, 2), teilweise auch Nicolle (3)], an eine Beteiligung der Geißeln [Dineur (4)], an eine Bewegungs lähmung [Pfeiffer und Kolle (5)] etc. Die Theorie von Bordet (6) faßte zwar die Ausflockung der mit Agglutinin verbundenen Bakterien als eine rein physikalische Erscheinung auf, über die wesentliche Phase des Vorganges aber, über den Wirkungsmechanismus des Agglutinins, sagte sie nichts aus. Paltauf (7) hat dann die Kraussche (8) Entdeckung der spezifischen Niederschlagsbildung mit der Agglutination in Zusammenhang gebracht und damit dargetan, daß die Zellenstruktur oder irgend eine Organisation mit dem Vorgange nichts zu tun hat, sondern daß das Wesen vielmehr in einer Art Koagulation eines Bakterienbestandteils zu erblicken ist. Eine weitere Ergründung wurde erst durch die Fortschritte der physikalischen Chemie der Kolloide ermöglicht. Zangger (9) und Landsteiner und Jagić (10) machten als die ersten auf gewisse Analogieen zwischen kolloidalen Reaktionen und Immunkörperreaktionen aufmerksam.

1) Cf. Handbuch Kolle-Wassermann.

2) Es wird hier vornehmlich die Bakterienagglutination erörtert.

Seither wurden die Ausflockungserscheinungen und ihre Beziehung zur Agglutination vielfach bearbeitet, und jüngst erst brachten Zangger (11) sowie Pauli (12) eine ausführliche Zusammenstellung der diesbezüglich bekannten Tatsachen. In nachfolgender Untersuchungsreihe sollen einige Fragen, die sich aus einer physikalisch-chemischen Betrachtungsweise des Agglutinationsvorganges ergeben, eine experimentelle Bearbeitung erfahren, und damit zu den Grundlagen einer kolloidalen Agglutinationstheorie ein Beitrag geliefert werden.

I. Ueber die Ursachen des Suspensionszustandes der Bakterien, sowie über die Einwirkung von Salzen und Kolloiden auf die Bakterien.

Bevor die Bedingungen der spezifischen Bakterienagglutination untersucht werden können, ist es notwendig, die Ursachen ihres Suspensionszustandes in Betracht zu ziehen.

Der Suspensionszustand der Bakterien wurde früher vielfach als eine selbstverständliche, nicht erst erklärungsbedürftige Tatsache aufgefaßt und mit der Eigenbewegung der Bakterien oder aber mit der großen Reibung, die die kleinen Teilchen beim Sedimentieren erst überwinden müßten, motiviert. Ließ sich die erstere Erklärungsmöglichkeit schon durch die Erfahrung zurückweisen, daß bewegungslose, ja daß abgetötete und stark veränderte Bakterien noch suspendiert bleiben, so wird die Bedeutung der letzteren durch die Beobachtungen der sogenannten „Spontanagglutination“ erschüttert. Wie sich jeder, der mit Agglutinationsversuchen beschäftigt ist, gelegentlich überzeugen kann, gibt es Bakterienstämme, die in physiologischer Kochsalzlösung oder Bouillon „spontan“ ausflocken. Nicolle (13), Hamburger (14) u. a. konnten Spontanagglutination durch Züchtung in verdünnten agglutinierenden Immunsereis erzeugen; ich selbst machte gelegentlich die Beobachtung, daß ein Typhusstamm, der eine haltbare Suspension gab, nach der 8. Passage durch Bouillon, die den 20. Teil agglutinierendes Immunsereis enthielt, für einige auf gewöhnlichem Agar fortgezüchtete Generationen Spontanagglutination zeigte. Kirstein (15) erzielte eine spontan ausflockende Rasse durch Kultivierung auf eiweißfreien Nährböden. Alle diese Beobachtungen erfordern die Annahme eines bestimmten, die Suspension verursachenden Faktors, der in den „spontan“ ausflockenden Kulturen unwirksam oder vermindert ist. Neisser und Friedemann (16) sowie Bechhold (17), die über die Ausflockung der Bakterien eingehende Untersuchungen ausgeführt haben, kommen durch ihre Versuche zu der Vermutung, daß das Bakterieneiweiß diesen fällungshemmenden Faktor darstellt, dessen Wirksamkeit sie mit der bekannten fällungshemmenden Eigenschaft der Gelatine analogisieren.

Meine eigenen Versuche über die Ursachen der Inagglutinabilität erhitzter Typhusbakterien führten zu dem Ergebnis, daß gewisse Veränderungen des Bakterienproteins (z. B. Erhitzen auf 80 °) die Stabilität der Suspension bedeutend erhöhen, daß die Zerstörung des Proteins bis zu einem gewissen Grade „Spontanagglutination“ herbeiführen kann. Kocht man Bakterien in schwach saurer Lösung, so beobachtet man nach wenigen Minuten (die Zeitdauer ist bei verschiedenen Bakterien verschieden), daß die Suspension nach dem Neutralisieren bei Gegenwart von geringen Mengen von Salzen zusammenflockt. Diese Tatsachen rechtfertigen die Annahme, daß der Suspensionszustand der Bakterien durch ihr Eiweiß bedingt ist, das die übrigen,

der Menge nach zurücktretenden Bestandteile (Chitin und andere Gerüstsubstanzen) in Schwebelage erhält¹⁾. Ist diese Annahme richtig, wird es gestattet sein, die Bakterienaufschwemmung mit einer Eiweißsuspension in Parallele zu setzen und die Ausflockung der Bakterien mit der Ausflockung der Eiweißkörper zu vergleichen.

Der Suspensionszustand der Eiweißkörper ist im Gegensatz zu vielen anorganischen Kolloiden durch die Salze der Leichtmetalle nur schwer zu beeinflussen, erst hohe Salzkonzentrationen wirken fällend. Ähnliche Verhältnisse waren bei Bakterien suspensionen zu vermuten. Diesbezüglich liegen die Untersuchungen von Neisser und Friedemann (16), sowie Bechhold (17) vor, welche fanden, daß normale Bakterien durch keine Konzentration von NaCl, Na₂SO₄, MgSO₄, NaNO₃ ausgeflockt werden. [Aus einer persönlichen Unterredung mit Herrn Dr. Bechhold entnahm ich, daß sich diese Angaben auf Konzentrationen beziehen, bei denen Eiweißfällung nicht in Betracht kommt; Herr Dr. Bechhold gab aber der Ueberzeugung Ausdruck, daß Salzkonzentrationen, die eine Eiweißfällung bewirken, sicherlich auch Bakterien auszuflocken (auszusalzen) im stande sein dürften.] Für den hier vorliegenden Gegenstand war es von Wichtigkeit, die Einwirkung von Salzkonzentrationen, die Eiweißfällung verursachen, zu untersuchen.

Es stellte sich dabei heraus, daß alle untersuchten Bakterien von Ammonsulfat, Typhusbakterien und Choleravibrionen, auch von Magnesiumsulfat, die letzteren sogar mitunter von Kochsalz ausgefällt werden. Bei der Ermittlung der Fällungsgrenzen brachte ich die von Hofmeister eingeführte Methodik in Anwendung. Es ergaben sich dabei folgende Beziehungen:

Tabelle I.

Es wird jedesmal dieselbe Menge der betreffenden Bakterienaufschwemmung mit einer derartigen Menge von Aqua dest. versetzt, daß nach dem Hinzufügen des entsprechenden Quantum konzentrierter Ammonsulfatlösung gleiches Volumen resultiert. Der Versuch ist mit einer Aufschwemmung von Typhusagarkultur angestellt.

Sättigungsprozent der Aufschwemmung an (NH₄)₂SO₄.

Aufschwemmung	20	30	40	50	60
unverdünnte Aufschwemmung	⊕	geringes Sediment, dichte diffuse Trübung	Bodensatz, obenstehende Flüssigk. trüb	vollständ. Ausflockung	vollständ. Ausflockung
3-fach verdünnte Aufschwemmung	⊕	Spur von Sediment	Bodens., dichte Trübung in obenstehender Flüssigkeit	vollständ. Ausflockung	vollständ. Ausflockung
30-fach verdünnte Aufschwemmung	⊕	⊕	partielle Ausflockung	vollständ. Ausflockung	vollständ. Ausflockung

Wie aus Tabelle I zu ersehen ist, steigt die untere Ausflockungsgrenze mit der Verdünnung der Aufschwemmung in geringem Maße, während die obere Ausflockungsgrenze für alle Verdünnungen der Bakterienaufschwemmung konstant bleibt. Ein gleiches Verhalten hat Hofmeister (19) für die Salzfällung der Eiweißkörper festgestellt. Die Ausflockung ist vollständig reversibel, d. h. durch Verminderung der Konzentration der Ammonsulfatlösung gelingt es, die

1) Bei der Gruppe der Säurefesten, die in beträchtlicher Menge Wachskörper enthalten, vielleicht auch noch bei einigen anderen Gruppen liegen andere Verhältnisse vor.

Bakterien wieder vollständig zu suspendieren, ein Verhalten, das mit den bei der Eiweißfällung festgestellten Tatsachen wieder übereinstimmt. Daraus dürfte sich wohl die Vermutung ableiten lassen, daß der Wesensvorgang bei beiden Erscheinungen derselbe ist. Damit ergab sich auch der Gedanke, aus der Aussalzbarkeit der Bakterien ein Kriterium für die Stabilität ihrer Suspension zu gewinnen.

Wie schon oben erwähnt wurde, konnte ich die Beobachtung machen, daß auf 65—90° erhitze Bakterien inagglutinabel werden, sich aber nach längerem Erhitzen auf 100° durch ihr spezifisches Immuneserum wieder ausflocken lassen. Als Ursache für die Ausflockungshemmung wurde festgestellt, daß das in den Bakterien befindliche modifizierte Protein die Stabilität der Suspension erhöht. Die Aussalzung mit Ammonsulfat ermöglicht es nun, für diese Anschauung weitere Anhaltspunkte zu gewinnen.

Tabelle II.

Eine dichte Aufschwemmung von Typhusagarkulturen wird in 3 Portionen abgeteilt, die erste nativ, die zweite nach einstündigem Erhitzen auf 80°, die dritte nach einstündigem Erhitzen auf 100° zur Bestimmung der Fällungsgrenze verwendet.

Sättigungsprozente der Aufschwemmung an $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Kultur	30	40	50	60
normal	ϕ	Ausflockung, obenstehende Flüssigkeit trüb	vollständige Ausflockung	vollständige Ausflockung
1 Stunde auf 80° erhitzt	ϕ	ϕ	Spur von Bodens., obensteh. Flüssigkeit dicht getrübt	vollständige Ausflockung
1 Stunde auf 100° erhitzt	ϕ	Spur von Bodensatz	Ausflockung, obenstehende Flüssigkeit trüb	vollständige Ausflockung

Wie aus Tabelle II zu ersehen ist, wird die native Kultur am leichtesten, die auf 80° erhitze am schwersten ausgesalzen, was mit den Beobachtungen bezüglich der Agglutinabilität vollständig übereinstimmt.

Weiterhin ergab sich die Möglichkeit, durch die Aussalzung das Schwebevermögen verschiedener Bakterienspecies zu ermitteln. Wir wissen, daß einzelne Bakterien leicht zu agglutinieren sind, während gewisse Gruppen durch ihr Immuneserum überhaupt nicht ausgeflockt werden. Die diesbezüglichen Versuche sind in Tabelle III verzeichnet.

Tabelle III.

Sättigungsprozente der Aufschwemmung an $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Kultur	20	30	40	50	60	70
Cholera	Bodensatz	unvollständ. Ausflock.	vollständ. Ausflock.	vollständ. Ausflock.	vollständ. Ausflock.	vollständ. Ausflock.
Typhus	ϕ	ϕ	unvollständ. Ausflock.	vollständ. Ausflock.	vollständ. Ausflock.	vollständ. Ausflock.
B. coli	ϕ	ϕ	Bodensatz	fast vollst. Ausflock.	vollständ. Ausflock.	vollständ. Ausflock.
B. pneum. Friedländer	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	unvollständ. Ausflock.	vollständ. Ausflock.

Der vorstehende Versuch ergibt, daß die Salzfällungsgrenzen in der Reihe Cholera, Typhus, Coli, Friedländer

steigen. Dieselbe Reihe ergibt sich hinsichtlich des Widerstandes gegenüber den ausflockenden Kräften eines Immunserums.

Bezüglich des Bac. Friedländer konnte ich, wie an anderer Stelle (20) mitgeteilt wurde, ermitteln, daß die Kultur nach Beseitigung der ausflockungshemmenden Proteinhüllen leicht agglutiniert wird. Tabelle IV zeigt, daß auch hier die bessere Agglutinierbarkeit mit der leichteren Aussalzbarekeit parallel geht.

Tabelle IV.

Friedländeragaraufschwemmung. Sättigungsprozente der Aufschwemmung an $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Vorb. der Kultur	40	50	60	70
Mit dem 4. Teile einer $\frac{1}{4}$ Norm. HCl $\frac{1}{2}$ Stunde auf 80° erh., dann neutralisiert	Spur von Ausflockung	unvollständige Ausflockung	vollständ. Ausflockung	vollständige Ausflockung
normale Kultur	∅	∅	unvollständige Ausflockung	vollständige Ausflockung

Der verschiedene Grad der Stabilität von Bakteriensuspensionen könnte nun entweder durch differente physikalisch-chemische Beschaffenheit oder aber durch verschiedene Mengen der Proteine bedingt sein. Daß die einzelnen Bakterienarten verschiedene Mengen von Proteinen produzieren, lehrt uns schon der Vergleich des zart wachsenden Cholera-vibrio mit dem von einer dichten Proteinhülle umgebenen Bac. Friedländer. Wie schon oben erwähnt wurde, gelingt es, die Bakterien durch Erhitzen in saurer Lösung derartig zu verändern, daß sie „spontan“ agglutinieren, d. h. daß sie schon von physiologischer Kochsalzlösung ausgeflockt werden. Die Dauer und Temperatur des Erhitzens, die zu einem derartigen Zustande führt, ist nun bei den einzelnen Bakterien-species verschieden, und zwar zeigt es sich hier, daß beim Cholera-vibrio ein derartiger Zustand am raschesten und schon bei niedrigerer Temperatur herbeigeführt wird, während beim Bac. Friedländer die stärkste Vorbehandlung notwendig ist. Cholera-vibrionen werden oft sogar schon durch längeres Kochen in neutraler Lösung zur Spontanagglutination gebracht.

Alle diese Befunde scheinen dafür zu sprechen, daß die Agglutinabilität der Bakterien von der Menge der von ihnen produzierten Proteine abhängig ist. Ob noch andere Faktoren für die Agglutinabilität von Belang sind, entzieht sich bisher jeder Beurteilung.

Bevor es möglich ist, die Agglutinationsreaktion einer Erörterung zu unterziehen, muß noch die ausflockende Wirkung von Schwermetallsalzen und kolloidalen Substanzen auf die Bakterien besprochen werden. Die diesbezüglich unternommenen eigenen Versuche konnten die in anderen Arbeiten festgestellten Tatsachen vollauf bestätigen. Auch die Schwermetallsalze und kolloidale Substanzen wirken auf die Bakterien ähnlich wie auf ihre Eiweißkörper ein. Die Reaktionen der Kolloide untereinander sind in neuester Zeit vielfach untersucht worden, wobei sich bemerkenswerte Resultate ergaben. So haben namentlich Neisser und Friedemann (16) sowie Bechhold (17), Biltz (23) u. a. die interessante Tatsache festgestellt, daß bei der Einwirkung der Kolloide aufeinander ein für die Fällung optimales Mengenverhältnis besteht, wäh-

rend Ueberschuß des einen oder des anderen Kolloides die Fällung aufhebt. Biltz (24) hat auch durch zahlreiche Versuche bewiesen, daß die Menge, mit welcher ein Kolloid in dem entstandenen Niederschlage enthalten ist, mit der Menge, in der es zugesetzt wird, wächst, was schon vorher Galeotti (21) für die des Schwermetalles im Schwermetallsalz Eiweißniederschlag festgestellt hatte. Die Untersuchungen von Henri (25) und Girard-Mangin zeigen nun, daß auch die Fällung der Bakterien durch kolloidales Eisenoxyd nach diesen Verhältnissen vor sich geht. Von größter Wichtigkeit für den hier verhandelten Gegenstand ist es aber, daß die Bakterien mit dem Agglutinin in ähnlicher Weise reagieren, eine Analogie, die besonders Landsteiner und Biltz (24) und Jagič (10) hervorgehoben haben. Das von Eisenberg und Volk (26) ermittelte Bindungsgesetz zwischen Bakterien und Agglutinin besagt, daß das Agglutinin in um so größerer Menge von den Bakterien absorbiert wird, in je höherer Konzentration es auf dieselben einwirkt. Eisenberg und Volk sowie Bail (27) haben ferner festgestellt, daß agglutinierende Immusera durch kurzes Erhitzen durch Einwirkung von Säuren und Alkalien etc. in gewisser Weite geschädigt worden sind, ein Agglutinationsoptimum bei mittlerer Konzentration erkennen lassen.

Die Agglutinationsreaktion zeigt also in gewisser Hinsicht Ähnlichkeiten mit der Einwirkung von Leichtmetallsalzen auf die Bakterien, in anderer Hinsicht mit der der Schwermetallsalze und Kolloide.

II. Die Rolle der Salze¹⁾ bei der Agglutination.

Wie aus den Untersuchungen von Bordet (6) sowie von Joos (28) bekannt ist, vollzieht sich der Ausflockungsvorgang bei der Agglutination unter Mitwirkung von Salzen. Da die Vereinigung von Bakterien und Agglutinin, wie die oben genannten Autoren nachweisen konnten, auch ohne Salze ungestört erfolgt, so läßt sich an den mit Agglutinin beladenen Bakterien die Salzwirkung gewissermaßen isoliert beobachten. Ueber den Reaktionsmodus der Salze liegen die Untersuchungen von Bordet sowie Joos vor, aus denen sich die wichtige Tatsache ergibt, daß die Ausflockung der Agglutininbakterien durch Salze nur von der Konzentration nicht aber von der absoluten Menge der auf sie einwirkenden Salzlösung abhängt und demnach durch Verdünnung der Lösung rückgängig gemacht werden kann, Verhältnisse, die mit den bei der Aussalzung der Eiweißkörper geltenden Gesetzen übereinstimmen. Dementsprechend mußte es von Interesse sein, die Mengenverhältnisse zwischen Bakterien, Agglutinin und Salz bei der Agglutination zu bestimmen. Tabelle V bringt einen derartigen Versuch.

Tabelle V.

Bei dem Versuche wurde eine Aufschwemmung von Typhusagarkultur in destilliertem Wasser sowie Typhusferdeimmenserum verwendet. Beide wurden nach Toluolzusatz 3 Tage gegen strömendes Leitungswasser, 2 Tage gegen destilliertes Wasser im Pergamentschlauche dialysiert. Das Serum wurde vor der Dialyse mit destilliertem Wasser auf das 5fache, die Bakterien nach der Dialyse auf das 10fache verdünnt. Das Außenwasser war nach der Dialyse Cl-frei, das unter $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Zusatz koagulierte Serum gab ein Cl-freies Filtrat. Die bei dem Versuche angenommenen Serumverdünnungen stellen nur relative, untereinander vergleichbare Werte dar, da die wirkliche Verdünnung durch diffundiertes Wasser auf einen viel höheren Betrag gebracht wurde. Bei den einzelnen Versuchen kam auf 1 ccm Bakterienaufschwemmung und 1 ccm Serumverdünnung $\frac{1}{1}$, ccm einer entsprechenden Salzlösung.

1) Die nachfolgenden Untersuchungen beziehen die Bezeichnung Salze auf die Neutralsalze der Alkalimetalle sowie des Magnesiums.

Serumverdünnung.

Gehalt an NaCl	1/10	1/30	1/50	1/100	1/300	1/1000	1/3000	1/5000	1/10000	
∅	+	Spur	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	1
0,0002-Normallösung	+	part.	Spur	∅	∅	∅	∅	∅	∅	2
0,002 - "	+	+	+	+	part.	Spur	∅	∅	∅	3
0,02 - "	+	+	+	+	+	+	+	part.	Spur	4
0,2 - "	+	+	+	+	+	+	+	part.	Spur	5
0,04 - "	+	+	+	+	part.	Spur	∅	∅	∅	6
2,6 - "	+	+	+	+	+	+	+	part.	Spur	7

Aus diesem Versuche geht als allgemeine Regel hervor, daß mit steigender Menge des zugesetzten Agglutinins die zur Agglutination erforderliche Salzmenge abnimmt. Es könnte vielleicht der Einwand erhoben werden, daß dieses Resultat durch die in den Bakterien oder im Serum trotz sorgfältigster Dialyse zurückbleibenden Salzmenge vorgetäuscht worden ist. Dieser Einwand läßt sich durch folgende Rechnung entkräften: Unter der Voraussetzung, daß das Minimum von Salz, des eben noch Agglutination erzeugt, überall gleich ist, müßte bei der Serumverdünnung $\frac{1}{50}$ in Reihe 2 dieselbe Salzmenge vorhanden sein wie bei der Serumverdünnung $\frac{1}{1000}$ in Reihe 3. Ist x die bei der Dialyse des Serums zurückgebliebene Salzmenge bei 50facher Serumverdünnung, m die hinzugesetzte Salzmenge in Reihe 2, so gilt die Gleichung:

$$x + m = \frac{x}{20} + 10 m$$

woraus sich ergeben würde: $x = \frac{20 \cdot 9}{19} m = \frac{180}{19} m < 10 m$.

x ist kleiner als 10 m. Unter diesen Voraussetzungen müßte bei Hinzufügung einer Salzmenge von 20 m (Reihe 6) bis zur äußersten wirksamen Serumverdünnung (das ist bis zur 10000fachen) noch Agglutination auftreten. Da aber, wie der Versuch ergibt, die Agglutination nur bis zur 1000fachen Serumverdünnung erfolgt, so ist die Voraussetzung, daß das zur Agglutination ausreichende Salzminimum überall dasselbe ist, unrichtig, und der Satz, daß mit steigender Menge¹⁾ des Agglutinins die zur Agglutination eben noch erforderliche Salzkonzentration abnimmt, erscheint damit bewiesen.

Ist nun die Salzfällung der mit Agglutinin beladenen Bakterien mit der Aussalzung der Eiweißkörper in Parallele zu setzen, oder ist hier der Wesensvorgang ein differenter? Eine teilweise Beantwortung dieser Frage war durch Versuche zu erhoffen, die ein Urteil über das Fällungsvermögen verschiedener Salzionen gestatten.

Für die Aussalzung der Eiweißkörper sind nämlich von Hofmeister (19), sowie später von Pauli (29) bestimmte Gesetzmäßigkeiten bezüglich des Einflusses der verwendeten Ionen festgestellt worden. Wie wir aus den Untersuchungen von Joos, sowie von Friedberger (30) wissen, lassen sich zur Agglutinationsreaktion die verschiedensten Salze heranziehen. Eine Entscheidung der vorliegenden Fragen hatten diese Autoren nicht ermittelt, da sie keine äquimolekularen Salzmenge verwendeten. Neisser und Friedemann (16), sowie Bechhold (17)

1) Dies bezieht sich selbstverständlich bloß auf die in diesem Versuche zur Verwendung gelangten Agglutininmengen. Bei Ueberschreitung eines Optimums, z. B. bei unverdünntem Agglutinin, dürfte aus später zu erörternden Gründen wiederum eine höhere Salzkonzentration erforderlich sein.

haben dann weiter ihre Untersuchungen über den Einfluß der Salze mit äquimolekularen Mengen angestellt, jedoch sind ihre Resultate zu einem Vergleiche mit den Ergebnissen bei der Aussalzung der Eiweißkörper nicht zu gebrauchen, da von ihnen nur eine kleine Anzahl von Leichtmetallsalzen untersucht worden ist. Meine eigenen Versuche hatten das in Tabelle VI verzeichnete Ergebnis.

Tabelle VI.

Je 1 ccm sorgfältig dialysierter Serumverdünnung (ungefähr auf das 100-fache verdünnt) wird mit 1 ccm dialysierter Bakterien versetzt, dazu je $\frac{1}{2}$ ccm entsprechender Salzlösung hinzugefügt.

Salz	Geringste Salzkonzentration, bei der noch Agglutination auftrat
NaCl	$\frac{1}{500}$ -Normallösung
KCl	$\frac{1}{500}$ "
NH ₄ Cl	$\frac{1}{750}$ "
MgCl ₂	$\frac{1}{7500}$ "
NaNO ₃	$\frac{1}{500}$ "
KNO ₃	$\frac{1}{500}$ "
NH ₄ NO ₃	$\frac{1}{500}$ "
Mg(NO ₃) ₂	$\frac{1}{5000}$ "
Na ₂ SO ₄	$\frac{1}{1000}$ "
K ₂ SO ₄	$\frac{1}{1500}$ "
(NH ₄) ₂ SO ₄	$\frac{1}{1200}$ "
MgSO ₄	$\frac{1}{10000}$ "
Asparagin	$\frac{1}{250}$ "

Betrachten wir zunächst die Reihenfolge der Anionen bei gleichem Kation, so zeigen sich für die Wirkung von Cl, NO₃ und SO₄ nur kleine Differenzen, so daß sich ihr Füllungsvermögen als annähernd gleich annehmen läßt¹⁾. Ebenso ist das Ausflockungsvermögen von Na, K, NH₄ bei gleichem Anion ungefähr dasselbe. Dagegen ist das Mg ungefähr 10mal so wirksam als die übrigen Metallionen. Es ergibt sich daraus, daß die Wertigkeit des Kation für das Ausflockungsvermögen von ausschlaggebender Bedeutung ist, was schon Neisser und Friedemann sowie Bechhold in wertvollen Untersuchungen festgestellt hatten. Da das Magnesiumnitrat und Magnesiumchlorid trotz zureichender Löslichkeit nicht imstande sind, eine normale Bakteriensuspension auszusalzen, so würde sich der Schluß ergeben, daß der Wesensvorgang bei der Aussalzung und bei der Salzfällung von Agglutininbakterien ein differenter ist, trotzdem die bei beiden Erscheinungen zu beobachtende Reversibilität der Ausflockung Analogien erkennen läßt.

Im Anschluß an diese Versuche wurde auch die von Joos, sowie Friedberger beschriebene fallende Wirkung von Nichtelektrolyten untersucht. Sehr stark fallend erwies sich Asparagin, sowie Leucin, schwach fallend wirkt Traubenzucker und Milchzucker. Es erscheint jedoch zweifelhaft, ob diese Substanzen in der zur Anwendung gelangten Form als Nichtleiter zu betrachten sind, denn die käuflichen, als rein geltenden Substanzen zeigten alle gegen Phenolphthalein saure Reaktion. Zu Serum zugesetzt, bewirkte das Asparagin erst Trübung durch ausgeschiedenes Globulin, bei größerer Menge Aufhellung bis zu vollstän-

1) Eine exakte Bestimmung des Grenzwertes ist so schwer durchführbar, daß jedenfalls nur große Differenzen zu berücksichtigen sind.

diger Klarheit, genau so, wie man dies bei Zusatz von stark verdünnter Essigsäure beobachten kann.

In Kombination mit an sich nicht fällenden Salzkonzentrationen wirkte das Asparagin auch fällend auf eine Mastixsuspension ein. Das durch eine Spur von Lauge neutralisierte Leucin wirkte unverändert fällend auf Agglutininbakterien.

III. Die Rolle des Agglutinins bei der Agglutination.

Nunmehr soll die Wirkungsweise des Agglutinins auf die mit hinreichenden Salzmengen versehenen Bakterien in Betracht gezogen werden. Diesbezüglich ergaben sich, wie schon bei der Wirkung von Kolloiden auf Bakterien hervorgehoben wurde, bemerkenswerte Analogien zu kolloidalen Reaktionen. Das von Eisenberg und Volk (26) ermittelte Bindungsgesetz gestaltet sich, wie schon erwähnt wurde, ähnlich den Regeln, die bei der gegenseitigen Absorption von Kolloiden Geltung haben.

Eine zweite Analogie, die des für die Fällung optimalen Mengenverhältnisses der reagierenden Substanzen, kann nicht ohne weitere Erklärung aufgestellt werden, da nach Eisenberg und Volk erst modifizierte agglutinierende Sera eine optimale Fällungskonzentration erkennen lassen. Eisenberg und Volk selbst beziehen diese Erscheinung auf einen komplexen Bau des Agglutinins im Sinne Ehrlichs und schreiben ihm eine stabilere bindende und eine labilere fällende Gruppe zu. Das seiner fällenden Gruppe durch Einwirkung von Hitze oder chemischen Agentien beraubte Agglutinin (Agglutinoid) hat nach ihrer Anschauung eine höhere Affinität zu den Bakterien als das unveränderte Agglutinin, so daß bei Anwendung von hohen Serumkonzentrationen nur die in großer Menge vorhandenen nicht fällenden Agglutinoide zu einer Verbindung mit den Bakterien gelangen. Ähnliche Ansichten hat auch, unabhängig von Eisenberg und Volk, Bail (27) ausgesprochen, nur sind nach seiner Anschauung fällende und bindende Gruppe des Agglutinins getrennt im Serum vorhanden. Wassermann (31) schließt sich den Anschauungen von Eisenberg und Volk an und unterscheidet außer Proagglutinoiden noch Synagglutinoide.

Die nachfolgenden Untersuchungen sollen nun zeigen, ob es gelingt, auch diese Erscheinungen mit kolloidalen Reaktionen zur Deckung zu bringen.

Schon Volk und de Waele (32) fanden, daß oft ganz frische Sera in höherer Konzentration schlechter agglutinieren als bei mittlerer Verdünnung. Es gelingt nun, wie ich mich überzeugen konnte, bei jedem agglutinierenden Serum diese Erscheinung zu demonstrieren, wenn man die Agglutination möglichst langsam vor sich gehen läßt. Schon bei genauer Beobachtung bei Zimmertemperatur findet man am Anfang Stadien, in denen bloß bei einer bestimmten optimalen Verdünnung Ausflockung eingetreten ist, während nach der Seite sowohl der höheren als auch der geringeren Verdünnung die Agglutination erst später erfolgt. Die Annahme, die Verhältnisse bei durch Hitze oder andere Agentien modifizierten Seris einfach als eine Steigerung der schon in unveränderten Seris zu beobachtenden Erscheinungen aufzufassen, schien mir ungezwungener, als mit Eisenberg und Volk daran festzuhalten, daß schon frische Sera Veränderungen durchgemacht haben. War diese Annahme richtig, so mußten sich bei der Fällung von Kolloiden ähnliche

Verhältnisse ausfindig machen lassen. Nach mehrfachen vergeblichen Versuchen gelang dies auch in der Tat. Neisser und Friedemann, sowie Bechhold fanden, daß Gelatine, Blutserum und andere eiweißartige Kolloide in Kombination mit an sich nicht fallenden Salzmengen in niedriger Konzentration auf eine Mastixsuspension fallend, in höherer Konzentration fällungshemmend wirken. Man erhält so, wenn man zu derselben Menge von Mastixsuspension absteigende Verdünnungen von Serum bei Gegenwart von geringen Salzmengen¹⁾ hinzufügt, eine Reihe, die innerhalb einer bestimmten Verdünnungsbreite Fällung zeigt. Wird zu diesem Versuche erhitztes Serum verwendet, so tritt bei hohen Serumkonzentrationen dort Hemmung auf, wo man mit nicht erhitztem Serum noch Ausflockung verursachen konnte. Die Ausdehnung dieser Hemmungszone steigt mit dem Erhitzungsgrade. Eine Vernichtung der fallenden Eigenschaften des Serums durch Erhitzen ist allerdings nicht möglich, was wohl in speziellen Verhältnissen begründet ist. Nachstehende Tabelle liefert für diese Versuche ein Beispiel.

Tabelle VII.

Fällung von Mastixsuspension durch normales Pferdeserum (Mastixsuspension: 4 Teile 1-proz. alkoholischer Lösung, 6 Teile Aqu. dest.).

Art des Serums	Serumverdünnung						
	1/10	1/40	1/200	1/1000	1/4000	1/20000	1/40000
5 Minuten auf 75° erhitztes Serum	0	Spur	+	+	+	+	0
Nicht erhitztes Serum	+	+	+	+	+	+	0

Kontrolle: 1 ccm Mastixsuspension + 1 ccm physiol. NaCl-Lösung — keine Ausflockung.

In derselben Weise ließ sich nun ein Versuch nachahmen, den Kraus und v. Pirquet in einem verwandten Gebiete, dem der Bakterienpräzipitation, angegeben haben. Kraus und v. Pirquet (33) fanden, daß ein auf 62° erhitztes präzipitierendes Immenserum das homologe Bakterienfiltrat nicht nur nicht mehr präzipitiert, sondern sogar vor der Ausflockung durch frisches Serum schützt. Ihr Versuch gestaltete sich folgendermaßen:

5 ccm Cholerafiltrat + 0,5 ccm erhitztes Choleraserum — nach 10 Stunden kein Niederschlag
 + 0,5 ccm nicht erhitztes Choleraserum — nach 10 Stunden kein Niederschlag
 + 10 ccm Cholerafiltrat — nach 10 Stunden typischer Niederschlag

Kontrolle: 5 ccm Cholerafiltrat + 0,5 ccm nicht erhitztes Choleraserum — nach 10 Stunden typischer Niederschlag.

Einen analogen Versuch mit Mastix und Serum bringt Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

1 ccm Mastixsuspension + 1 ccm 5-fach verdünntes Serum erhitzt — keine Ausflockung
 + 1 ccm 5-fach verdünntes Serum nicht erhitzt — keine Ausflockung
 + 4 ccm Mastixsuspension — vollständige Ausflockung

Kontrolle: 1 ccm Mastixsuspension + 1 ccm 5-fach verdünntes Serum nicht erhitzt — vollständige Ausflockung.

Wie ist nun die durch das Erhitzen erfolgte Abnahme der ausflockenden Kraft zu erklären: Es liegt nahe, hierfür die bei höheren

1) Bei alkoholreicher Mastixsuspension ist, wie noch dargelegt werden wird, kein Salzzusatz erforderlich.

Temperaturen vor sich gehenden physikalisch-chemischen Zustandsänderungen des ausflockenden Agens verantwortlich zu machen. Es leuchtet ohne weiteres ein, daß die Ausflockung zweier sich fällender Kolloide in ihrem Wirkungsbereich von der Stabilität ihrer Suspension abhängig ist. So z. B. ist die Ausflockung einer Agglutininbakterienverbindung von der Agglutinabilität der Bakterien abhängig. Umgekehrt muß auch die Stabilität der Agglutininsuspension für die Ausflockung von Belang sein. Es wäre demnach anzunehmen, daß durch das Erhitzen die Stabilität der Agglutininlösung erhöht wird, wodurch der Ausflockungsbereich gegen das Optimum zu eingeengt werden müßte. Bei der Mastixausflockung ist die bekanntermaßen schon vor der Koagulation erfolgende physikalisch-chemische Zustandsänderung der wirksamen Eiweißkörper die Ursache der Erweiterung der „Hemmungszone“. Da nun das Agglutinin physikalisch oder chemisch an die Eiweißkörper des Serums gebunden ist, so müßte auch bei der Agglutination eine Veränderung der Eiweißkörper für die ausflockenden Eigenschaften des Serums von Bedeutung sein. Ist diese Annahme richtig, so muß durch Hintanhaltung der bei der Erwärmung erfolgenden Zustandsänderungen auch die Erscheinung der Einengung der Agglutinationsbreite behoben werden können. Nun liegt bereits eine diesbezügliche Beobachtung von E. P. Pick (34) vor, der fand, daß bei Zusatz von gesättigter Harnstofflösung zu einem agglutinierenden Immuns Serum nicht nur die Koagulation, sondern auch die Inaktivierung des Agglutinins durch Erhitzung hintangehalten wird. Nach Eisenberg und Volk (26) haben hohe Salzkonzentrationen einen ähnlichen Einfluß. Wie aus den Untersuchungen von Blum (35) und L. Schwarz (36) hervorgeht, vermag Formaldehyd die Koagulation der Eiweißkörper zu verhindern. Ich selbst (18) fand, daß die durch Erhitzung herbeigeführte Inagglutinabilität der Bakterien noch Formaldehydzusatz viel langsamer und bei viel höherer Temperatur eintritt. Untersuchungen von Seligmann (37) stellen seine konservierende Wirkung gegenüber der Hitzeschädigung für die Milchfermente fest. Nachstehende Tabelle gibt eine Darstellung meiner Versuche über die Einwirkung des Formaldehyds bei der Erhitzung eines agglutinierenden Immuns Serums.

Tabelle IX.

Agglutination von Typhusbakterien mit Typhuspferdeimmuns Serum.

Vorbehandlung des Serums	Serumverdünnung				
	1/10	1/50	1/200	1/1000	1/5000
5-fach verdünntes Serum mit dem 50. Teile Formalin 1 Stunde auf 73° erhitzt	+	+	⊕	⊕	⊕
5-fach verdünntes Serum zu gleicher Zeit 1 Stunde auf 73° erhitzt	⊕	⊕	+	⊕	⊕

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, wird durch geringe Mengen von Formaldehyd die Bildung einer Hemmungszone in hoher Konzentration vollständig hintangehalten, es nimmt nur mit steigender Erhitzung die Agglutininmenge ab. Nachstehende Versuche demonstrieren die Wirkung verschiedener Mengen von Formaldehyd (s. Tab. X).

In hoher Konzentration wirkt also der Formaldehyd auf das Serum koagulierend und läßt die Hemmungszone zum Vorschein treten. In hoher Konzentration wirkt aber der Formaldehyd schon in der Kälte koagulierend und kann, wie Eisenberg und Volk gefunden haben, dem Serum zugesetzt, die Hemmungszone hervorrufen.

Tabelle X.

Je 1 ccm eines auf das 5-fache verdünnten Pferdetyphusimmunserums wird mit 1 ccm der betreffenden Formalinverdünnung versetzt und darauf 1 Stunde im Wasserbade auf 72° erhitzt. Hierauf wird auf Agglutination geprüft.

Mischung	Serumverdünnung					Beschaffenheit der Serummischung
	1/70	1/100	1/400	1/2000	1/10000	
1 ccm 5-fach verdünntes Serum + 1 ccm Formalin	∅	Spur	∅	∅	∅	Nach kurzer Zeit in der Kälte trüb, nach dem Erhitzen koaguliert
1 ccm 5-fach verdünntes Serum + 1 ccm 20-fach verdünntes Formalin	+	+	part.	∅	∅	klar
1 ccm 5-fach verdünntes Serum + 1 ccm 100-fach verdünntes Formalin	+	+	+	Spur	∅	klar

Zur Befestigung der hier entwickelten Anschauungen soll noch gezeigt werden, daß nicht nur Erhitzung des Serums, sondern auch andere die Ausflockung erschwerende Momente die Hemmungszone des Serums in Erscheinung treten lassen. Wird nämlich die Agglutinabilität der Bakterien durch geringes Erhitzen geschädigt, oder mit anderen Worten, wird auf diese Weise die Stabilität ihres Suspensionszustandes erhöht, so kann nur dort Ausflockung eintreten, wo das Optimum der fällenden Kraft liegt. Nachstehender Versuch bringt dies zur Anschauung.

Tabelle XI.

Agglutination von Typhusbakterien mit Typhuspferdeimmunserum.

Vorbehandlung der Kultur	Serumverdünnung							Beobachtet nach
	1/3	1/10	1/50	1/200	1/1000	1/5000	1/20000	
1 Stunde auf 60° erhitzt	∅	Spur	+	+	+	part.	Spur	15 Minuten
1 " " 60° "	+	+	+	+	+	+	part.	2 Stunden
1 " " 60° "	∅	Spur	part.	+	part.	Spur	∅	15 Minuten
1 " " 60° "	+ ¹⁾	+	+	+	+	part.	∅	2 Stunden
1 " " 65° "	∅	∅	∅	Spur	∅	∅	∅	15 Minuten
1 " " 65° "		+ ¹⁾	∅	+	part.	∅	∅	24 Stunden

Die Agglutination wurde nach dem Vorgange von Weil in einem auf 50° temperierten Wasserbade vorgenommen.

Wie aus dem Versuche zu ersehen ist, nimmt die Hemmungszone zu, ohne daß das Serum irgendwie verändert worden wäre.

Zusammenfassend ergibt sich aus vorstehenden Versuchen der Schluß, daß die Agglutination an ein Optimum der Konzentrationen gebunden ist, das oft erst nach Verminderung der ausflockenden Kräfte in Erscheinung tritt.

Ist nun das Agglutinin als ein kolloidales Fällungsmittel für die Bakterien anzusehen, so muß es auch die Reaktionseigentümlichkeiten zeigen, die zwei fällende Kolloide bei kombinierter Einwirkung auf ein drittes Kolloid erkennen lassen. Wird nämlich ein Kolloid A mit einem Ueberschusse eines in niedriger Konzentration fällenden anderen Kolloides B versetzt, so kann es durch an sich sicher fällende Mengen

1) Hier hatte sich ein massiger Niederschlag gebildet, der vermutlich auf Präzipitation der von den Bakterien durch Erhitzung losgelösten präzipitablen Substanz zu beziehen ist.

eines dritten Kolloides (C) nicht mehr ausgeflockt werden und gehorcht auch bezüglich der Fällung durch Leichtmetallsalze nunmehr den Gesetzen, die für B gelten. Wie Neisser und Friedemann, sowie Bechhold, denen wir die Kenntnis zahlreicher Details auf diesem Gebiete verdanken, sich ausdrücken, macht es den Eindruck, als ob das Kolloid A in diesem Falle vollständig im Kolloid B verschwunden wäre. In dem Gebiete der Agglutination existiert nun bereits ein hierher gehöriger Versuch. Weil (38), der die ausflockende Wirkung der Gelatine auf die Bakterien studierte, fand nämlich, daß mit Agglutinoid (d. h. mit einem nicht mehr fällenden Ueberschusse von Agglutinin) besetzte Bakterien durch an sich ausflockende Mengen von Gelatine nicht mehr agglutiniert werden. Wie ich mich ferner durch eigene Versuche überzeugen konnte, weisen mit einem nicht mehr fällenden Ueberschusse von Agglutinin versetzte Bakterien die Salzfüllungsgrenzen des Serumglobulins und nicht die ihnen selbst zukommenden höheren Fällungswerte auf. Hierher gehört auch folgender Versuch: Typhusbakterien werden mit einem nicht mehr fällenden Ueberschuß von Eisenchlorid¹⁾ versetzt. Sie erweisen sich nunmehr gegenüber allen Immunserumverdünnungen als inagglutinabel. Nur bei Verwendung von konzentriertem Serum kommt es zu einer gegenseitigen Fällung von Eiweiß und Eisenhydrat. Hier ist auch die durch Serum bewirkte Hemmung der Bakterienausflockung mit Vesuvium anzuführen, die ich gelegentlich beobachten konnte. Bei Berücksichtigung der Reaktionsverhältnisse der Kolloide lassen sich derartige Kombinationen noch in größerer Zahl ausfindig machen.

Nach den hier beigebrachten Versuchen ist also wohl kein Hindernis mehr vorhanden, die Wirkungsweise des Agglutinins mit der eines fällenden Kolloides vollständig zu identifizieren. Die von Eisenberg und Volk für das Agglutinin aufgestellte Vorstellung eines komplexen Baues ist zur Erklärung der Vorgänge nicht mehr notwendig.

Die hier entwickelte Vorstellung kann auch für mannigfache Beobachtungen hinsichtlich der Wirkungsweise agglutinierender Immunsera eine Erklärung geben. So z. B. hatte Lipschütz (39), festgestellt, daß ein Serum verschiedenen Bakterienstämmen gegenüber eine verschieden große „Hemmungszone“ zeigt, ein Befund, der von Scheller (Centralbl. f. Bakt. etc. 1904) bestätigt und erweitert wurde. Diese Erscheinung mag wohl dahin erklärt werden, daß es sich um Stämme von verschiedener Agglutinabilität handelte, die dann, wie dies oben für Bakterien verschiedener Erhitzungsstufen gezeigt wurde, eine Agglutinationszone von wechselnder Breite erkennen lassen.

IV. Beziehungen zwischen Salzen und Agglutinin.

Nachdem nun in den voranstehenden Versuchen die Wirkungsweise des Agglutinins und der Salze getrennt beobachtet wurde, ergibt sich nunmehr die Frage, welche Bedeutung ihr Zusammenwirken hat.

Wie schon erwähnt wurde, ist die notwendige Mitwirkung der Salze keineswegs für die Agglutination spezifisch, sondern Neisser und Friedemann, sowie Bechhold haben festgestellt, daß Eiweiß, Gelatine, Blutegelextrakt etc. in ihrer Einwirkung auf Mastixsuspension einer ähnlichen Unterstützung der Salze bedürfen. Sie sind geneigt, die

1) Die saure Reaktion der Eisenchloridlösung kann die Agglutination nicht behindern, da Säure auf Bakterien fällend wirkt.

Erforderlichkeit der Salze als spezifisch für Fällung durch elektrisch-amphotäre Kolloide anzusprechen und vermuten, daß durch das Salz erst eine entsprechende elektrische Ladung des fällenden Kolloides zustande kommt.

Nun konnte schon Biltz den Nachweis erbringen, daß Eisenchlorid auf ein elektronegatives Kolloid stärker fällend wirkt, als die entsprechende Menge von kolloidalem Eisenoxydhydrat, und zog daraus den Schluß, daß Elektrolyte die gegenseitige Ausflockung zweier Kolloide unterstützen. Daß dieser Satz allgemeine Gültigkeit hat, beweist auch nachfolgender Versuch:

Tabelle XII.

Je 1 ccm Kieselsäureverdünnung + 1 ccm Eisenoxydverdünnung + 1 ccm Salzlösung bezw. destilliertes Wasser.

Eisenoxydverdünnung	Kieselsäureverdünnung				Zusatz
	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{200}$	
$\frac{1}{5}$	+ farblose Flüssigkeit	+ braune Flüssigkeit	⊖	⊖	$\frac{1}{10}$ -Normallösung von NH_4NO_3
$\frac{1}{5}$	+ gelbe Flüssigkeit	Trübung	⊖	⊖	destilliertes Wasser
$\frac{1}{20}$	+ farblose Flüssigkeit	+ farblose Flüssigkeit	+ farblose Flüssigkeit	⊖	$\frac{1}{10}$ -Normallösung von NH_4NO_3
$\frac{1}{20}$	+ gelbe Flüssigkeit	Bodensatz gelbe Flüssigkeit	⊖	⊖	destilliertes Wasser

Kontrolle: 1 ccm $\frac{1}{5}$ Eisenoxydhydrat + 1 ccm $\frac{1}{10}$ Normallösung von NH_4NO_3 : ⊖
 1 ccm $\frac{1}{20}$ Eisenoxydhydrat + 1 ccm $\frac{1}{10}$ Normallösung von NH_4NO_3 : ⊖
 1 ccm Kieselsäure 2-fach, 10-fach, 40-fach, 200-fach verdünnt + 1 ccm $\frac{1}{10}$ Normallösung von NH_4NO_3 : ⊖

Wie hier zu sehen ist, wird durch Salz die Fällung bedeutend verstärkt. Es drängt sich nun die Vermutung auf, daß möglicherweise bei jeder Fällung der Kolloide untereinander eine geringe Menge Salz erforderlich ist. Die käuflichen kolloidalen Substanzen enthalten alle nachweisbare Mengen von Salzen, und vermutlich ist sogar der Solzustand, wie Spiro (40) hervorhebt und für das kolloidale Eisenoxyd beweist, ohne Salze überhaupt nicht haltbar. Andererseits läßt sich, wie ich für die Mastixausflockung durch Serum fand, die zur Ausflockung erforderliche Salzmenge auf ein Minimum herabdrücken. Alkoholreichere Mastixsuspensionen werden nämlich im Gegensatz zu alkoholarmen Suspensionen in breitem Umfang durch sorgfältig dialysiertes Serum ausgefällt. Eine derartige Suspension stellte ich mir durch Eingießen von 4 Volumsteilen 1-proz. alkoholischer Mastixlösung in 6 Volumsteile von destilliertem Wasser her. In ähnlicher Weise erweist sich eine derartige Suspension gegenüber der ausflockenden Wirkung von Leichtmetallsalzen als viel weniger stabil wie eine alkoholarme Suspension, wie Bechhold nachwies. Elektrolyte können also eine durch Kolloide verursachte Ausflockung in größerem oder geringerem Maße verstärken, beziehungsweise überhaupt in Erscheinung treten lassen.

Diese Erfahrung vermittelt uns das Verständnis für einige von

Neisser und Friedemann sowie von Bechhold angegebenen Versuche. Diese Autoren fanden, daß Bakterien, die mit Ferrisulfat, Uranylacetat etc. vorbehandelt waren, sich durch Waschen mit destilliertem Wasser wieder suspendieren lassen, jedoch auf Zusatz von geringen Salz-mengen leicht auszuflocken sind. Es handelt sich in diesem Falle um Bakterien, die mit geringen, an sich nicht ausflockenden Mengen eines kolloidalen Fällungsmittels beladen sind und erst unter Vermittelung von Salzen zur Ausflockung gebracht werden. In diesem Sinne ist der Vergleich, den diese Autoren zwischen Agglutininbakterien und den auf die angegebene Weise vorbehandelten Bakterien ziehen, vollständig zutreffend.

Ist nun im Vorangehenden der Beweis erbracht, daß unter gewissen Bedingungen sowohl das Salz als auch das kolloidale Fällungsmittel allein den Ausflockungsvorgang herbeizuführen vermag, so ist doch ihr Zusammenwirken nicht als einfache Summe ihrer Einzeleffekte aufzufassen. Dies wird uns ohne weiters klar, wenn wir bedenken, daß ein ganz geringer Bruchteil einer an sich ausflockenden Salzkonzentration in Kombination mit wieder einem kleinen Bruchteil einer an sich ausflockenden Agglutininmenge¹⁾ bereits vollständige Agglutination der Bakterien hervorrufen kann. Geht man ferner über eine bestimmte Agglutininverdünnung hinaus, so kann man erst bei einer Salzkonzentration Ausflockung erzielen, die auch ohne Agglutinin die Bakterien niederschlagen würde. Wie Eisenberg und Volk (26) gezeigt haben, können sogar größere Salz-mengen dort die Serumagglutination hintanhaltend, wo sie in verdünnter Salzlösung noch erfolgt.

Durch eigene Versuche gelang es mir, etwas Aehnliches für die Ausflockung von Mastixsuspension mittelst einer Kombination von Serum und Salz nachzuweisen. Die diesbezüglichen Versuche führten dann noch zu anderen Beobachtungen und sind noch nicht zum Abschluß gebracht, weshalb hier ihre ausführliche Mitteilung unterlassen werden soll.

Für eine Ungleichartigkeit der Wirkung von Salz und kolloidalem Fällungsmaterial würden dann noch andere Erscheinungen sprechen. Wie bereits erwähnt wurde, erweisen sich auf 80° erhitzte Bakterien nicht nur als inagglutinabel, sondern sie haben auch höhere Salzfällungsgrenzen. Erhitzte Bakterien lassen sich auch, wie Weil (38) gefunden hat, nicht mehr durch Gelatine ausflocken; ich selbst kann die Beobachtung hinzufügen, daß für sie auch Gummilösung, deren agglutinierende Wirkung Trumpp beschrieben hat, unwirksam ist. (Gelatine sowie Gummi bedürfen ebenfalls bei der Ausflockung der Salze.)

Dagegen erweisen sich kolloidale Fällungsmittel, die auch ohne erkennbare Mitwirkung von Salzen auszuflocken vermögen, wie Eisenoxydhydrat, Vesuvin u. a. als ebenso wirksam wie normalen Bakterien gegenüber. In ähnlicher Weise sind die durch Immuns Serum nicht fällbaren Kapselbakterien durch Eisenoxydhydrat, Vesuvin, Schwermetallsalze etc. leicht auszuflocken.

V. Theoretisches über den Ausflockungsvorgang.

Im Vorangehenden ist gezeigt worden, daß die Erscheinungen bei der spezifischen Bakterienagglutination nirgends von den Tatsachen abweichen, die bei der Ausflockung kolloidaler Substanzen beobachtet worden

1) Es wird hier die Annahme gemacht, daß bei einer optimalen Agglutinin-konzentration der Grenzfall eintritt, bei dem die Agglutination ohne Salz vor sich geht, was nach den vorangehenden Auseinandersetzungen naheliegender erscheint.

sind. Dementsprechend ist anzunehmen, daß der Ausflockungsmechanismus der Agglutination seine Erklärung findet in der Definition der bei der Ausflockung kolloidaler Substanzen wirksamen Kräfte.

Die Ursachen der Ausflockungserscheinungen sind nun erst zum geringsten Teile klargelegt. Das diesbezüglich bekannte Tatsachenmaterial ist vorwiegend in den letzten Jahren ermittelt worden, und Vorstellungen hypothetischen Inhalts müssen dort das Verständnis unterstützen, wo die experimentelle Erforschung noch nicht gelungen ist.

Der Ausflockungsvorgang bei der gegenseitigen Fällung von Kolloiden läßt sich nach Biltz (23) in zwei Einzelvorgänge zerlegen, in die „Adsorption“ und in die eigentliche Präzipitation. Eine ähnliche Betrachtungsweise hatte schon vorher Bordet (6) auf den Agglutinationsvorgang angewandt. Die „Adsorption“, oder wie sie gewöhnlich bezeichnet wird, die „Bindung“ des Agglutinins, wird von einem Teil der Autoren als chemischer, von einem anderen als physikalischer Vorgang aufgefaßt. Während Ehrlich die Spezifität der „Bindung“ als einen Beweis für einen chemischen Vorgang anspricht, sucht Arrhenius (41) den Nachweis zu erbringen, daß das von Eisenberg und Volk ermittelte Bindungsgesetz ein Ausdruck des Verteilungssatzes¹⁾ ist. Biltz (24, 42) sieht sich durch die Besonderheiten der quantitativen Verhältnisse veranlaßt, die gegenseitige Bindung der Kolloide einer besonderen Kategorie von Verbindungen, den Adsorptionsverbindungen zuzurechnen, eine Anschauung, der sich auch Landsteiner (43), der den Vorgang früher als eine Art Salzbildung auffaßte (46), anschließt. Die Frage hat viel Ähnlichkeit mit dem Streite über den Wesensvorgang der Färbung, wie sich überhaupt die Kolloidbindung in vielen Punkten mit einer Färbung vergleichen läßt. Eine der Wittschen (44) Färbungstheorie oder mehr den Spiroschen Anschauungen über kolloidale Absorption nachgebildete Vorstellung könnte uns auch eine präzise Zusammenfassung aller Einzelerscheinungen bieten, ohne sich mit irgend welchen Tatsachen im Widerspruche zu befinden. Die gegenseitige Bindung der Kolloide wäre darnach eine Art Lösungsvorgang, bei dem das im Ueberschusse vorhandene Kolloid das Lösungsmittel für das an Menge zurücktretende bildet, wobei eine Inhomogenität des Systems vorausgesetzt wird. Setzen wir z. B. zu einer großen Menge einer Lösung des Kolloides A eine geringe des Kolloides B, so verschwindet B fast vollständig aus der freien Flüssigkeit und löst sich in den suspendierten Teilchen des Kolloides A. B ist dadurch allen Reaktionen, die eine Lösung in der freien Flüssigkeit voraussetzen, entzogen; A spielt die Rolle des „schützenden“ Kolloides. Diese Vorstellung bringt die „Schutzwirkungen“ der Kolloide dem Verständnis näher. Bei steigendem Zusatz von B zu A erreicht die Konzentration von B in A eine bestimmte Grenze, bei der unter gewissen Bedingungen eine Ausflockung der Teilchen von A, die B enthalten, eintritt. Genau dieselben Erscheinungen ergeben sich, wenn das Kolloid B im Ueberschusse vorhanden ist, wenn sich also A in B löst. Diese Betrachtungsweise erklärt uns das Auftreten eines Fällungsoptimums bei bestimmten Mengenverhältnissen.

Die Vorstellung eines Verteilungsvorganges ergibt sich schon aus der Beobachtung, daß z. B. Bakterien ihr gebundenes Agglutinin an Kochsalzlösung nur in ganz geringem Maße abgeben, an neu hinzu-

1) Arrhenius ist geneigt, hier die Verteilung zwischen zwei Lösungsmitteln für einen chemischen Prozeß zu halten.

gefügte Bakterien aber ebensoviel verlieren, als sie selbst zurückbehalten. Ein derartiger Versuch läßt sich leicht mit erhitzten und normalen Bakterien durchführen, da sich die inagglutinablen erhitzten Bakterien von der agglutinierten normalen Kultur wieder trennen lassen¹⁾.

Bezüglich der eigentlichen Ausflockung ist zu beachten, daß sich die Einzelvorgänge verschieden gestalten, je nachdem die Fällung durch Salze der Alkalimetalle oder der Schwermetalle und durch kolloidale Substanzen hervorgerufen wurde, wie dies besonders Pauli (22) betont, und wie es im Vorangehenden wiederholt erörtert wurde. Diesen Tatsachen wird nur ein Teil der dieses Gebiet betreffenden Theorien gerecht. Von einer ausführlichen Auseinandersetzung dieser Theorien soll hier um so mehr Abstand genommen werden, als sie in vielen in der letzten Zeit erschienenen Arbeiten, so von Neisser und Friedemann, Landsteiner und Jagič (46), Billitzer (47) und anderen erörtert sind. Ein Teil dieser Theorien sieht die Ursache des Ausflockungsvorganges in einer elektrischen Zustandsänderung, so diejenige von Hardy (48), Bredig (49), Wetham (50), Neisser und Friedemann sowie Bechhold. Die Tatsachen, auf denen die Vorstellungen dieser Forscher basieren, sind durch die Untersuchungen von Picton and Lindner (51) begründet, die gefunden haben, daß Kolloide, die sich ausflocken, im elektrischen Strome eine entgegengesetzte Wanderungsrichtung zeigen. Hardy (48) konnte dann nachweisen, daß ausgeflockte Kolloide elektrisch neutral sind, woraus sich ergibt, daß es bei der Ausflockung zu einer elektrischen Entladung kommt. Andere Theorien, so die von Spiro (52), Freundlich (53), Billitzer (47) messen der elektrischen Zustandsänderung keine für den Vorgang wesentliche oder entscheidende Bedeutung bei. Nach Billitzer sind die Ausflockungserscheinungen durch zwei Faktoren bedingt, durch die Teilchengröße und ihre elektrische Ladung. Die Spirosche Theorie bezieht sich lediglich auf die Aussalzung, die als ein Entmischungsvorgang aufgefaßt wird. Welche Rolle die Oberflächenspannung, ferner die Quellung der suspendierten Kolloidteilchen (Spiro [57]) bei dem Ausflockungsvorgange spielt, entzieht sich vorläufig jeder Beurteilung. Daß derartige Einflüsse speziell bei der Agglutination eine Bedeutung haben, macht der verschiedene Grad der Agglutinabilität bei den durch Hitze modifizierten Bakterien wahrscheinlich. Jedenfalls sind weitere Untersuchungen über die Agglutinationsreaktion gleichbedeutend mit der Erforschung der Ausflockungserscheinungen der Kolloide, speziell der Eiweißkörper. In diesem Sinne erfährt die von Paltau (7) aufgestellte und von Kraus (55) experimentell gestützte Agglutinations-

1) Die Annahme eines Lösungsvorganges soll nur eine gute Uebersicht über alle beobachteten Einzel Tatsachen bieten, ohne daß damit eine endgültige Anschauung ausgesprochen sein soll. Die von Landsteiner und Reich (43) festgestellte unvollständige Reversibilität der Agglutininbindung, die von diesen Autoren als Beweis gegen die Annahme eines Lösungsvorganges hingestellt wird, kann wohl im sekundären eigentlichen Ausflockungsvorgang, bei dem der Solzustand in einen Gelzustand übergeht, ihre Ursache haben. Werden doch die Eiweißkörper den irreversiblen Kolloiden zugerechnet, d. h. ihr Hydrogel ist nicht vollständig wieder in das Hydrosol überzuführen. Wie Landsteiner und Reich festgestellt haben, ist die Kieselsäurebindung durch rote Blutkörperchen fast vollständig irreversibel, was diese Autoren selbst mit der irreversiblen Koagulation der Kieselsäure begründen. Gegen die Annahme einer Adsorption spricht endlich eine jüngst aus dem Hofmeisterschen Laboratorium erschienene Arbeit von Dauwe (54), der auf dem verwandten Gebiete der Fermentbindung die Vorstellung einer Absorption und Adsorption experimentell geprüft hat.

theorie eine neue Bestätigung, die zu dem allgemeinen Satz berechtigen dürfte: Präzipitation (Fällung) eines Bakterienbestandteils ist die Ursache der Bakterienausflockung.

Literatur.

- 1) Gruber u. Durham, Münch. med. Wochenschr. 1896.
- 2) Gruber, Münch. med. Wochenschr. 1899.
- 3) Nicolle, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898.
- 4) Dineur, Bull. de l'acad. Belg. 1898.
- 5) Pfeiffer u. Kollé, Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. p. 129.
- 6) Bordet, Ann. de l'inst. Pasteur. 1896 u. 1899.
- 7) Paltauf, Wiener klin. Wochenschr. 1897. (Bericht über die Sitzung d. k. k. Ges. d. Aerzte v. 30. April 1897.)
- 8) Kraus, Wiener klin. Wochenschr. 1897.
- 9) Zangger, Antrittsvorlesung, Zürich 1902.
- 10) Landsteiner u. Jagič, Münch. med. Wochenschr. 1903.
- 11) Zangger, Centralbl. f. Bakt. Referate. 1905.
- 12) Pauli, Wandlungen in der Pathologie durch Fortschritte der allgemeinen Chemie. Wien (M. Perles) 1905.
- 13) Nicolle, Soc. de biolog. 12. Dez. 1898.
- 14) Hamburger, Wiener klin. Wochenschr. 1903.
- 15) Kirstein, Zeitschr. f. Hyg. 1904.
- 16) Neisser u. Friedemann, Münch. med. Wochenschr. 1904.
- 17) Bechhold, Zeitschr. f. physik. Chemie. 1904.
- 18) Porges, Zeitschr. f. exper. Pathologie u. Therapie. 1905.
- 19) Hofmeister, Archiv f. exper. Path. u. Pharmak. 1888. No. 24 u. 1889. No. 25.
- 20) Porges, Wiener klin. Wochenschr. 1905.
- 21) Galeotti, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XL. p. 492. Bd. XLII.
- 22) Pauli, Beitr. z. chem. Physiologie u. Path. Bd. VI. 1905.
- 23) Biltz, Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. 1904.
- 24) —, Nachr. d. d. Ges. d. Wissensch. Göttingen 1904. Heft 2.
- 25) Henri u. Girard-Mangin, Compt. rend. Soc. Biol. Bd. LVI, LVII.
- 26) Eisenberg u. Volk, Zeitschr. f. Hygiene. 1902.
- 27) Bail, Archiv f. Hygiene. 1902.
- 28) Joos, Zeitschr. f. Hygiene. 1902.
- 29) Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd III. 1902. Bd. V. 1904.
- 30) Friedberger, Centralbl. f. Bakt. 1903.
- 31) Wassermann, Zeitschr. f. Hygiene. 1903.
- 32) Volk u. De Waele, Wiener klin. Wochenschr. 1902.
- 33) Kraus u. Pirquet, Centralbl. f. Bakt. 1902.
- 34) Pick, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. II. 1902.
- 35) Blum, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXII. 1896.
- 36) Schwarz, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI. 1900.
- 37) Seligmann, Zeitschr. f. Hygiene. 1905.
- 38) Weil, Centralbl. f. Bakt. 1904.
- 39) Lipschütz, Centralbl. f. Bakt. 1904.
- 40) Spiro, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. V. 1904.
- 41) Arrhenius, Mitteil. d. kaiserl. Reichsgesundheitsamtes. Bd. XX.
- 42) Biltz, Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. XLVIII. 1904.
- 43) Landsteiner u. Reich, Centralbl. f. Bakt. 1905.
- 44) Witt, Färberzeitung. 1891.
- 45) Spiro, Ueber physikalische und physiologische Selektion. [Habilitationsschrift.] Straßburg. 1897.
- 46) Landsteiner u. Jagič, Münch. med. Wochenschr. 1904.
- 47) Billitzer, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. XLV. 1903 u. Bd. LI. 1905.
- 48) Hardy, Journ. of Physiol. Vol. XXIV. 1899.
- 49) Bredig, Anorganische Fermente. Leipzig 1901.
- 50) Whetham, Phil. Mag. Vol. XLVIII. p. 474.
- 51) Picton u. Lindner, Journ. of the Chem. Soc. Vol. LXXI. 1897.
- 52) Spiro, Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. Bd. IV. 1903.
- 53) Freundlich, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. XLIV.
- 54) Dauwe, Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. Bd. VI. 1905.
- 55) Kraus, Zeitschr. f. Heilkunde. 1902.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Hämolysinbildung.

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. Dr. J. Bang und Prof. Dr. J. Forssman in Lund (Schweden)

Wenn man einem Versuchstier artfremde Erythrocyten injiziert, so wird hierdurch im Tiere eine Hämolysinbildung ausgelöst. Versucht man, diesen komplizierten Prozeß zu analysieren, so begegnet man gleich der Frage, welcher oder welche Bestandteile der injizierten Blutkörperchen sind hierbei wirksam, denn daß nicht die Blutkörperchen als solche notwendig sind, sieht man ganz klar z. B. aus den gelungenen Versuchen, Hämolysine durch Injektion von wasserhämolyisiertem Blute oder von Stromata zu erzeugen. Mit experimentellen Untersuchungen, um die obengenannte Frage aufzuklären, sind wir seit dem Herbst 1903 beschäftigt; an dieser Stelle wollen wir einige der wichtigsten Resultate mitteilen, uns die ausführliche Beschreibung in einer demnächst erscheinenden Publikation vorbehaltend.

Wie gesagt, war es anzunehmen, daß nur eine oder vielleicht einige Bestandteile der Blutkörperchen das wirksame Agens bei der Hämolysinbildung ausmachen würden.

Von den Bestandteilen, die von diesem Gesichtspunkt aus untersucht werden sollten, schienen uns die Lipoidstoffe in erster Reihe zu stehen. Und dies, weil erstens die Mehrheit der chemisch genau bekannten Hämolysine, wie Aether, Chloroform etc., die Lipoide auflösen und vielleicht eben dadurch Hämolyse hervorrufen, zweitens, weil hauptsächlich die Lipoide der gewöhnlichen Ansicht nach die Blutkörperchenmembran bilden, deren Beschädigung notwendig ist, um Hämolyse zu erzeugen.

Schon unsere ersten Versuche ergaben auch, daß das eingetrocknete Aetherextrakt aus Blutkörperchen vom Ochs bezw. Pferd und Meer-schweinchen eine typische, spezifische Hämolysinbildung bewirkt, eine Tatsache, die wir durch zahlreiche Versuche sichergestellt haben. Auch das Aetherextrakt der Stromata übt dieselbe Wirkung aus. Weiter haben wir feststellen können, daß die Hämolysinbildung überhaupt eine Funktion der lipoiden Substanzen der Erythrocyten ist. Andere Bestandteile sind hierbei nicht wirksam. Die so erhaltenen hämolytischen Sera agglutinieren nicht.

Nach Ehrlichs Seitenkettentheorie versteht man bekanntlich unter Rezeptoren die Stellen der Blutkörperchen, wo sich das Hämolysin verankert. Nach Ehrlich sind es auch eben diese Rezeptoren, welche die Hämolysinbildung veranlassen. Selbstverständlich mußten dann auch unsere Lipoidstoffe diesen Rezeptoren entsprechen, was wir experimentell zu beweisen versuchten, indem wir zuerst das Hämolysin mit Aetherextrakt mischten und nachher das Blut zufügten. Wenn das Aetherextrakt die Rezeptoren enthielt, mußte also das Hämolysin hierdurch neutralisiert werden, was auch in der Tat der Fall war.

Unsere Aufgabe war dann weiter, die Rezeptoren zu isolieren und durch die chemische Analyse dieselben zu charakterisieren.

Bei den Untersuchungen hierüber haben wir verschiedene Lipoidstoffe aus den Blutkörperchen rein dargestellt und geprüft. Von solchen wären hier zu erwähnen: Cholesterin, Lecithin, verschiedene noch nicht

in Blutkörperchen gefundene Phosphatide und ein Cerebrosid, die wir nach Thudichum dargestellt haben. Alle diese waren jedoch ohne hämolysinbildende Wirkung.

Weiter haben wir durch Anwendung verschiedener Lösungsmittel die Darstellung versucht, indem wir immer als Indikator die Hämolysinsbildung bezw. die Neutralisation des aktiven Serums benutzten. Es hat sich erwiesen, daß die hämolysinbildende Substanz (der „Immunisator“) in Aceton, Alkohol (von 100 Proz., 90 Proz., 80 Proz. und 70 Proz.) und nach Reinigung mit Aceton auch in Aether unlöslich ist, während dieselbe in kochendem Benzol und Chloroform löslich ist.

Das Kochen bei 100° verträgt der Immunisator sogar bei schwacher alkalischer oder salzsaurer Reaktion der Lösungs- oder Aufschwemmungsmittel.

Bei diesen Versuchen hat sich die prinzipiell wichtige Tatsache herausgestellt, daß der Immunisator keine neutralisierende Wirkung auf das aktive Serum übt, indem die neutralisierende Substanz, der Neutralisator, in Aceton und Alkohol löslich ist und somit durch Fraktionisierung, z. B. mit Aceton — bei einer bestimmten Versuchsanordnung — quantitativ vom Immunisator sich trennen läßt. Auch der Neutralisator ist kochbeständig.

Beide sind für die verschiedenen Blutarten spezifisch. Der Neutralisator des Ochsenblutes neutralisiert am stärksten das Ochsenblut-hämolysin, der des Pferdeblutes oder des Meerschweinchenblutes das Pferdeblut-hämolysin bezw. das Meerschweinchenblut-hämolysin. Auf der anderen Seite bewirkt die Injektion eines Immunisators die Bildung eines Hämolysins, das ebenso spezifisch ist wie dasjenige, welches man durch Injektion von Blutkörperchen erhält.

Nach Ehrlich bildet die Eigenschaft des Blutkörperchens, einen Ambozeptor zu verankern, die Hauptbedingung für das Gelingen, den Ambozeptor durch Injektion des Blutkörperchens bei einem Versuchstiere hervorzurufen. Es ist ja ganz genau derselbe Prozeß, nur hier in vitro, dort im Tierkörper sich abspielend, und es ist ja auch ein und derselbe Bestandteil des Blutkörperchens, der in beiden Fällen wirkt. Dies ist die Grundvoraussetzung der Ehrlichschen Theorie. Aber nach dem, was wir oben vorgebracht haben, ist sie augenscheinlich bei der Ambozeptorbildung nicht zutreffend, denn die Bindung des Ambozeptors und die Eigenschaft, Bildung von Ambozeptoren zu bewirken, sind zweifelsohne Funktionen verschiedener Stoffe des Blutkörperchens. Der von uns dargestellte Neutralisator bindet den Ambozeptor, ruft aber nach Injektion keine Ambozeptorbildung hervor, was der Immunisator macht, der dagegen nicht bindet. Mit diesen Tatsachen läßt sich, wie einleuchtet, die Ehrlichsche Theorie nicht vereinigen.

Augenblicklich sind wir damit beschäftigt, unsere Arbeit mit Untersuchungen über andere Zellgruppen und über Bakterien zu erweitern, in der Hoffnung, auch dort ähnlichen Verhältnissen zu begegnen, wie denjenigen, die wir bei den roten Blutkörperchen schon gefunden haben.

Nachdruck verboten.

Ueber die Immunisierung mit Exsudaten und Bakterienextrakten.

[Aus dem kgl. Institute für Infektionskrankheiten zu Berlin (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Gaffky).]

Von Dr. J. Citron.

Zu den wichtigsten und zugleich schwierigsten Aufgaben, an deren Bewältigung die moderne Bakteriologie arbeitet, gehört es zweifellos, wirksame Schutzimpfungsmethoden gegen die pathogenen Mikroorganismen zu finden. Die bisher am meisten geübten Methoden, mit Hilfe abgetöteter, abgeschwächter oder vollvirulenter lebender Kulturen zu immunisieren, die uns so überaus wertvolle Resultate gebracht haben, reichen nicht in allen Fällen aus. Es gibt Bakterienarten, die für gewisse Tiergattungen so hochvirulent sind, daß die kleinste Dosis, ja selbst vielleicht ein einziges lebendes Bakterium ausreicht, um den Tod des infizierten Tieres unrettbar herbeizuführen. Gegen derartige Mikroben, wie z. B. die Erreger der hämorrhagischen Septikämie, kleinen empfänglichen Versuchstieren, wie Kaninchen, einen wirksamen Schutz zu gewähren, gelingt mit Hilfe von abgetöteten oder abgeschwächten Kulturen sehr schwer, nach einigen Autoren überhaupt nicht. Die Wirkungsweise dieser Bakterienarten, die Bail als Ganzparasiten im Gegensatz zu den wenig virulenten Halbparasiten und den avirulenten Saprophyten bezeichnet, erklärt dieser Autor damit, daß sie besondere Angriffsstoffe, Aggressine, im Tierkörper entwickeln, die die Schutzkräfte des Organismus lahmlegen, so daß die Bakterien sich ungehindert vermehren können.

Wassermann und Citron (Dtsche med. Wochenschr. 1905) haben nun in einer früheren Mitteilung gezeigt, daß diese vermeintlichen „Aggressine“ nichts mit dem lebenden Körper zu tun haben, sondern daß sie nur gelöste Bakteriensubstanzen sind, die man mit Leichtigkeit in vitro herstellen kann. Wir haben den Nachweis gebracht, daß der Grundversuch Bails, nämlich die Virulenzsteigerung unter tödlichen Dosen, sich mit den artefiziellen Aggressinen, d. h. den Bakterienextrakten, in gleicher Weise anstellen läßt.

Immerhin dürfte die virulenzsteigernde Eigenschaft der Bakterienextrakte allein noch nicht ausreichen, um jeden Zweifel an der Identität der gelösten Bakteriensubstanzen mit den Aggressinen endgültig zu beseitigen. Dies vermag erst die Immunitätsprüfung.

Bail und seine Mitarbeiter Weil, Kikuchi, Hoke und Salus haben nämlich in einer Reihe von Arbeiten gezeigt, daß es mit Hilfe der „Aggressine“ gelingt, Tiere aktiv zu immunisieren, und daß das Serum dieser Tiere wiederum zur passiven Immunisierung dienen kann. Besondere Beachtung verdient die Arbeit von Edm. Weil, dem es mit Hilfe der Aggressinmethode gelang, Kaninchen gegen die zu den hämorrhagischen Septikämieerregern gehörigen Bakterien der Hühnercholera zu immunisieren. Die glückliche Lösung dieser schwierigen Aufgabe konnte als eine starke Stütze der Aggressintheorie angesehen werden und bedurfte daher dringend der Nachprüfung. Ich habe daher auf Veranlassung von Herrn Prof. A. Wassermann und auf dessen Abteilung diese Versuche mit den Schweineseuchebacillen, einem anderen Vertreter dieser Bakterien-

gruppe, welcher eine gleiche Virulenz für die Laboratoriumstiere mit einer wesentlich höheren wirtschaftlichen Bedeutung verbindet, nachgeprüft¹⁾. Die Virulenz meiner Kultur war so hoch, daß die subkutane Injektion von $\frac{1}{10000}$ Oese Agarkultur ein Kaninchen mittlerer Größe innerhalb 24 Stunden tötete. Gegen diese Kultur habe ich mit Hilfe einer einzigen oder mit wenigen wiederholten Injektionen der bakterienfreien, sterilen Exsudate Kaninchen zur 1000—10000fach tödlichen Dosis sicher immunisieren können. Die verwendeten Exsudate stammten fast stets aus der Pleura von Kaninchen, welche der Infektion erlegen waren. Die Exsudate wurden in der von Bail und seinen Mitarbeitern angegebenen Weise behandelt.

Tabelle I.

1. Kaninchen.	7. Juni.	2,5 ccm Schweineseucheexsudat subkutan
	16. "	2,0 "
	1. Juli.	Infektion: $\frac{1}{10}$ Oese Schweineseuche IV subkutan
	10. "	Tier ist munter und hat ein lokales Infiltrat an der Infektionsstelle
2. Kaninchen.	1. Juli.	Infektion: $\frac{1}{10000}$ Oese Schweineseuche IV subkutan
(Kontrolle)	2. "	†

In ganz entsprechender Weise habe ich dann Meerschweinchen gegen die Bakterien der Hogcholera immunisiert, eine Bakterienart, die für Meerschweinchen so pathogen ist, daß die subkutane Injektion von $\frac{1}{300}$ Oese Agarkultur in wenigen Tagen den sicheren Tod herbeiführt.

Tabelle II.

1. Meerschweinchen.	18. Mai.	2,0 ccm Hogcholeraexsudat subkutan
	30. "	Infektion: $\frac{1}{10}$ Oese Hogcholera subkutan
	2. Juni.	Leicht krank. Mäßig großes Infiltrat
	3. "	Munter
	10. Juli.	Munter
2. Meerschweinchen.	30. Mai.	Infektion: $\frac{1}{100}$ Oese Hogcholera subkutan
(Kontrolle)	2. Juni.	Sehr schwer krank. Ganz kleines Infiltrat
	3. "	†

Nach diesen Versuchen, die in ausführlicher Form in der „Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten“ publiziert werden sollen, kann die Möglichkeit, mit Hilfe der „Aggressine“ zu immunisieren, keinem Zweifel mehr begegnen.

Damit ist aber nicht die von Bail aufgestellte Aggressinimmunitätstheorie bewiesen, sobald es nämlich gelingt, mit den artefiziellen Aggressinen, d. h. wässerigen resp. serösen Bakterienextrakten die gleichen Erfolge zu erzielen. Die folgenden Versuche zeigen, daß dies der Fall ist.

Tabelle III.

1. Kaninchen.	16. Juni.	2,5 ccm Schweineseuche — destilliertes Wasser — Extrakt
	4. Juli.	Infektion: $\frac{1}{1000}$ Oese Schweineseuche IV subkutan
	10. "	Munter
2. Kaninchen.	4. Juli.	Infektion: $\frac{1}{10000}$ Oese Schweineseuche IV subkutan
(Kontrolle)	5. "	†

Tabelle IV.

1. Meerschweinchen.	24. Mai.	4,0 ccm Hogcholera — dest. Wasser — Extrakt subkutan
	6. Juni.	Infektion: $\frac{1}{10}$ Oese Hogcholera intraperitoneal
	10. Juli.	Tier ist munter
2. Meerschweinchen.	6. Juni.	Infektion: $\frac{1}{10}$ Oese Hogcholera intraperitoneal
(Kontrolle)	7. "	tot aufgefunden

1) Die Schweineseuche ist eine Krankheit, die in Deutschland in ständiger Zunahme begriffen ist und der im Jahre 1903 von 73 655 erkrankten Tieren 52 169, = 70,8 Proz., zum Opfer fielen.

Hiermit ist der Beweis in einer schlüssigen Form geführt, daß die Aggressine in den Bakterienextrakten enthalten sind, und es ist nun selbstverständlich, daß ebenso wie eine aktive Immunisierung mit den Bakterienextrakten möglich ist, dieses auch bei der passiven Immunisierung zutrifft, d. h. die Antiaggressine sind identisch mit den Antikörpern, die nach der Immunisierung mit Bakterienextrakten entstehen.

Diese lehren die folgenden Tabellen.

Die Aggressinimmunität ist demnach keine Immunität sui generis.

Tabelle V.

Mäuseversuch mit Serum, gewonnen von Kaninchen, die mit Aggressin vorbehandelt waren.

	Datum	Normales Kaninchen-serum	Antiaggressin	Infektionsdosis	Ausgang
1. Maus	13. Mai	—	—	$\frac{1}{10\,000}$ Oese Schweineseuche subkutan	† nach 2 Tg.
2. "	13. "	1,0 ccm (24 Std. vorher) subkut.	—	$\frac{1}{5000}$ Oese Schweineseuche subkutan	† nach 2 Tg.
3. "	13. "	—	1,0 ccm (24 Std. vorher) subkut.	$\frac{1}{5000}$ Oese Seuche subkutan	Bleibt am Leben
4. "	13. "	0,2 ccm (24 Std. vorher) subkut.	—	$\frac{1}{5000}$ Oese Seuche subkutan	† nach 2 Tg.
5. "	13. "	—	0,2 ccm (24 Std. vorher) subkut.	$\frac{1}{5000}$ Oese Seuche subkutan	Bleibt dauernd a. Leben

Tabelle VI.

Mäuseversuch mit Antikörpern, gewonnen von einem Kaninchen, das 2 Injektionen eines wässrigen Schweineseuchenextraktes bekommen hat.

	Datum	Antikörperserum	Infektionsdosis	Ausgang
1. Maus	27. Juni	—	$\frac{1}{1000}$ Oese Seuche subkutan	† nach 2 Tagen
2. "	27. "	0,5 ccm (24 Std. vorher) subkutan	$\frac{1}{1000}$ Oese Seuche subkutan	† nach 11 Tagen
3. "	27. "	0,2 ccm (24 Std. vorher) subkutan	$\frac{1}{1000}$ Oese Seuche subkutan	Bleibt am Leben
4. "	27. "	0,1 ccm (24 Std. vorher) subkutan	$\frac{1}{1000}$ Oese Seuche subkutan	† nach 3 Tagen

Nachdruck verboten.

Zur Reinigung des Trinkwassers mittels Ozon.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Utrecht.]

Von Prof. Dr. C. Eijkman.

Als Mitglied eines Ausschusses aus dem Zentralen Gesundheitsrat in Holland, der damit beauftragt wurde, die Reinigung des Trinkwassers mittels Ozon sowohl von der bakteriologisch-chemischen als von der technisch-ökonomischen Seite zu studieren, fand ich Veranlassung, den Einfluß der Temperatur des Wassers auf den bakteriologischen Effekt der Ozonisierung näher ins Auge zu fassen. Es fiel nämlich die für

die Untersuchungen beabsichtigte Zeit in die kältere Jahreszeit, und es erhob sich die Frage, ob und inwieweit die zu erhaltenden Resultate auch für die wärmere Jahreszeit Geltung haben würden. In der betreffenden Literatur habe ich keine diesbezüglichen Angaben finden können. Es ist aber für andere chemischen Desinfectantia aus Untersuchungen von Henle¹⁾, Behring²⁾ u. a. bekannt, daß deren Wirkung bei höherer Temperatur, auch wenn diese die physiologischen Grenzen nicht überschreitet und mithin an sich nicht schädlich ist, bedeutend zunehmen kann. Die Erklärung dieser Tatsachen dürfte nach Henle einerseits auf der durch die niedrigen Temperaturen herabgesetzten chemischen Aktivität der desinfizierenden Substanzen beruhen; andererseits aber auch aller Wahrscheinlichkeit nach auf der durch die Kälte bedingten Verminderung des Stoffwechsels der Mikroorganismen, welche natürlich einer Aufnahme der umgebenden Flüssigkeit in das Innere der Bakterien hinderlich ist.

Es ist nun allerdings anzunehmen, daß die schädigende Einwirkung des Desinficiens durch die höhere Temperatur gefördert wird, indem bekanntlich sowohl die Reaktions- wie die Diffusionsgeschwindigkeit mit steigendem Wärmegrad zunehmen. Andererseits aber möchte ich doch bezweifeln, ob in der Tat die Vermehrung des Stoffwechsels bei optimaler Temperatur die Bakterien empfindlicher macht gegen chemische Einwirkungen. Ist es ja aus Behrings Untersuchungen bezüglich der entwicklungshemmenden Wirkung chemischer Agentien bekannt, daß bei dem Temperaturoptimum wachstumschädigende Faktoren von den Bakterien leichter überwunden werden. Dies macht es vielmehr wahrscheinlich, daß, wenigstens was die vegetativen Formen anbetrifft, auch die Resistenz gegen die abtötende Wirkung bei optimaler Temperatur erhöht ist, aber daß wir dies nur darum nicht bemerken, weil zu gleicher Zeit die chemische Aktivität des Desinficiens gesteigert ist. Wenn diese Betrachtung richtig ist, so wäre es denkbar, daß in gewissen Fällen die chemische Aktivität weniger von der Temperatur beeinflußt würde als die Resistenz, so daß mithin die abtötende Wirkung bei dem Temperaturoptimum nicht nur nicht verstärkt, sondern sogar abgeschwächt sein könnte. Es wäre daher voreilig, den Schluß zu verallgemeinern, daß die Wirkung der Desinfectantia mit der Temperatur steigt. Jeder Stoff oder wenigstens jede Gruppe von chemisch zusammengehörigen Stoffen wird in dieser Beziehung für sich untersucht werden müssen.

Speziell was desinfizierende Gase, wie Ozon, anbetrifft, kommt noch der Umstand hinzu, daß mit steigender Temperatur die Löslichkeit geringer wird und weiter, daß im Wasser Stoffe vorkommen, die Ozon verbrauchen und dadurch die Bakterien mehr oder weniger gegen die Einwirkung des Desinficiens schützen können, ohne daß sich voraussagen läßt, in welchem Sinne sich dieses gegenseitige Verhältnis ändern wird bei Veränderung der Temperatur. Wie schnell die Löslichkeit des Ozons in Wasser bei höherer Temperatur abnimmt, geht aus Untersuchungen von Carius und von Schöne hervor, wonach der Absorptionskoeffizient betrug:

für 1—2,5° C	a = 0,635
„ 16,5° „	a = 0,373
„ 18,2° „	a = 0,366 ³⁾

1) Arch. f. Hyg. Bd. IX. 1889.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. IX. 1890.

3) Berichte d. deutschen chem. Gesellsch. 1873. p. 806 u. 1224.

Man ersieht hieraus, daß innerhalb der erwähnten Grenzen der Absorptionskoeffizient mit steigender Temperatur bis fast auf die Hälfte des bei niedriger Temperatur gefundenen Betrages herabsinkt. Wenn man nun weiter erwägt, daß für die Sterilisierung mittels Ozons hauptsächlich Oberflächenwasser in Betracht kommt, und daß gerade dieses je nach den Jahreszeiten bedeutende Temperaturunterschiede aufweist, größer sogar als $1-18,2^{\circ}$, so wird eine spezielle Untersuchung betreffs des Einflusses der Temperatur des Wassers auf die Abtötung der darin enthaltenen Bakterien nicht überflüssig erscheinen. Ich bediente mich dazu einer Laboratoriumseinrichtung. Mittels Gebläse wird ein kontinuierlicher Luftstrom zunächst durch eine mit konzentrierter Schwefelsäure beschickte Waschflasche und dann durch einen Berthelotschen Effluveapparat hindurchgeleitet, der als Ozonisator wirkt. Die durch die stillen Entladungen der von einem kräftigen Induktorium gelieferten Hochspannungselektrizität ozonierte Luft wird nun mittels eines gabelförmig sich verteilenden Bleirohres nach den beiden zur vergleichenden Prüfung dienenden Sterilisierungsgefäßen geführt. Es sind dies Reagirröhrchen, die mit dem zu sterilisierenden Wasser etwa 3 cm hoch gefüllt sind und worin die ozonisierte Luft mittels eines bis an den Boden reichenden Glasröhrchens hineingeblasen wird. Zur Verhinderung des Ueberschäumens sind die Probegefäße oben mit einer Erweiterung versehen, im übrigen sind sie aber nicht mehr als 1,2 cm weit. Weil also die Flüssigkeitssäule in den Sterilisierungsgefäßen relativ schmal ist im Vergleich zu der Größe der aufsteigenden Luftblasen und ein kräftiger Luftstrom hindurchgeleitet wird, ist vollauf Gelegenheit gegeben zur Aufnahme von Ozon durch das Wasser. Dies hat den Vorteil, daß Unterschiede in der Menge der durch die beiden Gefäße geführten Luft, die wohl nicht ganz zu vermeiden sind, irrelevant werden. Es wird ja in beiden Gefäßen das Wasser für die gegebene Temperatur und Partiärdruck des Ozons mit diesem Gas gesättigt gehalten. Was mehr als die zur Sättigung nötige Menge zugeführt wird, kann vom Wasser nicht aufgenommen werden.

Nachdem die ozonisierte Luft schon während einiger Zeit durch die beiden Sterilisierungsgefäße hindurch geschickt worden war, wurde das in denselben enthaltene Wasser gleichzeitig mit den zu untersuchenden Mikroben geimpft und dann von Zeit zu Zeit mittels gleichgroßer Platinösen (5 mg) Proben entnommen. Hiervon wurden Plattenkulturen in Form von Agarrollröhrchen angelegt und bei 37° gestellt. Von Bouillonkulturen wurde abgesehen, weil man dabei nicht die successive Abnahme der Keimzahl verfolgen kann. Die sofort nach der Impfung entnommenen Proben ergaben immer mehr als 100 Kolonien.

Nachdem bei den ersten Versuchen der Ozongehalt sich als so groß herausgestellt hatte, daß die Bakterien fast momentan abstarben, wurde durch Abschwächung des Induktionsstroms der Ozongehalt so viel herabgesetzt, daß wenigstens einige Minuten verliefen, bevor alle Keime abgetötet waren, weil sonst ein etwaiger Einfluß der Temperatur auf die sterilisierende Wirkung des Ozons nicht zu Tage treten könnte.

Zunächst wurden Versuche gemacht mit *B. pyocyaneus* als Repräsentant der nicht sporenbildenden pathogenen Bakterien. Es wurde dazu eine 24-stündige Agarkultur (bei 37° gezüchtet) benutzt, die in durch Hitze sterilisiertes Grabenwasser suspendiert wurde.

Um dem nachteiligen Einfluß des plötzlichen Ueberganges aus einem Medium mit höherem in ein solches mit niederem osmotischen Druck

zu entgehen, war der Agarnährboden ohne Hinzufügung von Kochsalz zubereitet.

Außer mit *B. pyocyaneus* wurden Untersuchungen angestellt mit Subtilis-Sporen und schließlich mit den saprophytischen, in Grabenwasser vorhandenen Keimen. Die Ergebnisse der Versuche finden sich in nachstehender Tabelle. Es sei dazu noch bemerkt, daß die Menge der durchgeführten Luft und deren Ozongehalt bei den unterschiedenen Versuchen variierte; daher kommt es, daß auch für das nämliche Versuchsobjekt die Zeitdauer der Abtötung sehr verschieden ist.

Weil es sich um vergleichende Untersuchungen handelte, wobei nur die Temperatur verschieden war und die übrigen Versuchsbedingungen jedesmal möglichst gleich gehalten wurden, haben wir es nicht für nötig erachtet, die Menge und den Ozongehalt der durchgeführten Luft zu bestimmen.

Tabelle.

No. des Versuchs	Versuchsobjekt	Temp. des Wassers	Zeit der Einwirkung der ozon. Luft nach Minuten						Bemerkungen
			1	3	5	7	9	11 Min.	
1	B. pyocyaneus in durch Hitze steril. Grabenwasser do.	11°	+	+	—	—	—	—	1) 1 Kolonie
		26°	+	+	—	+ ¹⁾	—	—	
2	do. do.	4°	+	+	+	—	—		
		23°	+	+	+	—	—		
3	do. do.	3°	+	+	+	+ ¹⁾	—	1) 1 Kolonie 2) 20 Kolonien	
		23°	+	+	+	+ ²⁾	—		
4	Subtilis-sporen in durch Hitze steril. Grabenwasser do.	3°	+	+	+	—	—		
		23°	+	+	+	—	—		
5	do. do.	3°	+	+	+	+	—		
		23°	+	+	+	+	—		
6	do. do.	3°	+	+	+	+	+ ¹⁾	1) 3 Kolonien 2) 1 Kolonie	
		21°	+	+	+	+ ¹⁾	—		
7	Keimreiches Grabenwasser ¹⁾ do.	3°	+	+	—	—	—	1) + 200 Kol. im Kontrollröhrchen, also etwa 40000 pro cem 2) 1 Kolonie	
		23°	+	+	+ ²⁾	—	—		

Es tritt also kein deutlicher Einfluß der Temperatur des Wassers auf die keimtötende Wirkung des Ozons zu Tage. Die konstatierten Unterschiede sind zu gering und zu unbeständig, um denselben Bedeutung beizumessen. Für die überwiegende Mehrheit der Keime läßt

sich sagen, daß die Schnelligkeit, womit sie abgetötet werden, von der Temperatur unabhängig sich erweist. Folglich scheinen die eingangs erwähnten, mit der Temperatur aber nicht im gleichen Sinne sich ändernden Faktoren (Absorption, chemische Aktivität, Resistenz) sich in ihrem Einfluß auf den desinfektorischen Effekt so ziemlich aufzuheben. Es ist dies ein Resultat, das nicht voraussehen und von vornherein sogar nicht zu erwarten war.

Für die Praxis der bakteriologischen Trinkwasserreinigung mittels Ozon dürfte mithin die Temperatur des Wassers ohne Belang sein.

Nachdruck verboten.

Ueber eine rasche Färbungsmethode von *Spirochaete pallida*.

[Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Kgl. Universität zu Siena, geleitet von Prof. Dr. Barduzzi.]

Mitteilung.

Von

Dr. Francesco Simonelli,
Assistenten an der Klinik u. Privatdoz.
für Dermosyphilopatie.

und

Dr. Ivo Bandi,
Mitdirektor des Toskaner Serumtherap.
Instituts und Privatdoz. für Hygiene.

Die bis jetzt bei den primären und sekundärenluetischen Manifestationen zum Nachweis der neuerdings von Schaudinn und Hoffmann (1) beschriebenen Spirochäte angewendeten Färbungsmethoden verlangen eine ziemlich lange Zeit zu ihrer Ausführung, sonst erhält man nicht immer überzeugende Präparate, da man bisher großen Schwierigkeiten begegnen mußte beim Färben dieses Keimes, welcher eben deshalb von Schaudinn und Hoffmann als „*Spirochaete pallida*“ bezeichnet wurde.

Unter den seltenen zur Untersuchung dieser Spirochäte vorgeschlagenen Färbungsmethoden müssen wir die folgenden aufzählen:

- 1) Die Färbungsmethode mit Azurblau (2);
- 2) die Färbungsmethode von Marino (3);
- 3) die Färbungsmethode von Giemsa (4);
- 4) die Färbungsmethode von Reitmann (5);
- 5) die Färbungsmethode von van Ermengem (6).

1) Methode mit Azurblau. Dieses Verfahren ist das am wenigsten gebrauchte.

Das Präparat wird in Alkohol und Aether zu gleichen Teilen fixiert, dann in die Färbungsflüssigkeit 16—24 Stunden eingetaucht, wird an der Luft getrocknet und in Cederöl montiert.

2) Methode mit dem Blau Marinos. Dieses Verfahren, obwohl es vor allen anderen rascher ist, ist jedoch nicht vorzuziehen, weil die Spirochäte von Schaudinn und Hoffmann dabei ganz blaß gefärbt bleibt, und sie ist mithin schwer zu unterscheiden. Das Blau Marinos ist eine Mischung von Methylenblau, Natriumkarbonat und Eosin in Methylalkohol.

Diese Lösung kann 2 Monate lang aufbewahrt werden, wenn man reinen Methylalkohol dazu verwendet und die Ausdünstung verhindert.

Die Präparate können zuvor entweder durch Hitze oder mit Alkohol

und Aether zu gleichen Teilen fixiert werden, die Färbungslösung kann jedoch auch direkt als Fixiermittel dienen, wegen des Alkohols, den sie enthält.

Auf das schon fixierte Präparat gießt man ein wenig der Marino-Flüssigkeit und läßt sie ungefähr 3 Minuten einwirken.

Nach Entfernung des Blauüberschusses läßt man auf die Oberfläche des Objektträgers einige Tropfen einer sehr verdünnten wässerigen Eosinlösung (0,05 g Eosin in 1 l destillierten Wassers) herabfallen, und nach 2 Minuten wird es mit Wasser ausgewaschen, an der Luft ausgetrocknet und in Balsam montiert. Die Einwirkung des Marino-Blaus kann dadurch verstärkt werden, indem man nach Eingießung der verdünnten Eosinlösung die Präparate in einen Ofen von 56° C setzt.

3) Methode von Giemsa. Durch dieses Verfahren werden die besten Resultate erzielt, weshalb es am meisten gebraucht wird.

Die Objektträger oder Deckgläser, auf die das zu untersuchende Material gebracht wurde, läßt man an der Luft austrocknen, fixiert dann 10 Minuten in absolutem Alkohol und setzt sie hierauf 16—24 Stunden in die folgende frisch hergestellte Mischung:

a) 12 Teile von Eosinlösung (2,5 ccm einer 1-proz. Eosinlösung in 100 ccm destillierten Wassers),

b) 3 Teile von Blau I (1-proz. wässrige Lösung),

c) 3 Teile von Blau II (wässrige Lösung 0,8 pro Mille).

Nach kurzer Ausspülung mit destilliertem Wasser werden die Gläser ausgetrocknet und mit Cederöl montiert.

Anstatt der hier erwähnten Färbemischung kann man auch diejenige von der Firma Grübler (7) schon vorbereitete und im Handel befindliche anwenden.

4) Methode von Reitmann. Dieses wenig gebrauchte Verfahren ist nur eine Modifikation der Slavoschen Methode zur Färbung der Bakterienwimpern.

Die Präparate werden in absolutem Alkohol 10 Min. fixiert; dann werden sie mit destilliertem Wasser ausgewaschen, in eine 2-proz. Phosphorwolframsäurelösung 5 Min. gebracht, mit destilliertem Wasser ausgespült, dann in 70-proz. Alkohol gesetzt und dann wieder mit destilliertem Wasser ausgespült. Wenn der Oberflächenteil des Deckglases oder des Objektträgers, der frei von dem zu untersuchenden Material ist, trocken ist, dann werden die Präparate warm in die Ziehlsche Flüssigkeit gebracht. Sie werden schließlich mit laufendem Wasser ausgewaschen, mit 70-proz. Alkohol so lange behandelt, bis sie die Farbe verlieren, ausgetrocknet und in Balsam montiert.

5) Methode von van Ermengem. Dieses besonders für die Färbung der Bakterienwimpern empfohlene Verfahren wurde von einigen Forschern zur Färbung der Spirochäten von Schaudinn und Hoffmann mit scheinbar gutem Erfolge angewandt.

Man setzt das Gläschen 1 Minute zu 50° C oder 30 Minuten in das folgende frisch hergestellte kalte Bad:

8 ccm einer 2-proz. wässrigen Osmiumsäurelösung,

16 ccm einer 10-proz. wässrigen Tanninlösung,

1 Tropfen kristallisierte Essigsäure.

Mit Wasser und mit absolutem Alkohol ausspülen. Hierauf wird das Gläschen für 1—2 Minuten in das Silberbad gebracht:

1 g kristallisiertes Silbernitrat,

200 ccm destilliertes Wasser.

Man bringt das Gläschen 1 Minute, ohne Fixierung desselben, in das Reduktionsbad:

5 g Gallussäure,
3 g Tannin,
10 g Natronacetat,
350 ccm destilliertes Wasser.

Ohne es auszuwaschen, bringt man das Präparat wieder in das Silberbad, rührt es so lange in demselben, bis sich das Bad schwarz gefärbt hat.

Auswaschen, austrocknen und in Balsam montieren.

Aus dieser Zusammenstellung der für die Untersuchung der *Spirochaete pallida* bis jetzt empfohlenen Färbungsmethoden ergibt sich also deutlich, daß zur Erzielung überzeugender Präparate eine ziemlich lange Zeit notwendig ist, und daß bei Anwendung rascherer Verfahren es nicht immer möglich ist, den von Schaudinn und Hoffmann beschriebenen Keim zum Vorschein zu bringen.

Die zahlreichen und langwierigen, von uns mit verschiedenen Farbelösungen und mit verschiedenen Mordentia zur möglichst praktischen Ausführung des Nachweises von *Spirochaete pallida* angestellten Untersuchungen führten uns zu der Ueberzeugung, daß die beste, sowohl hinsichtlich der Schnelligkeit der Ausführung, wie hinsichtlich der Deutlichkeit der Präparate, bisher bekannte Färbungsmethode diejenige von May Grümwald (8) hergestellte ist.

Zur Ausführung dieser schon von einem von uns (9) für die rasche Färbung des Gonococcus zu diagnostischen Zwecken empfohlene Methode muß man sich zunächst die Färbungsflüssigkeit folgenderweise bereiten.

In je 1 l destillierten Wassers wird gesondert 1 g Eosin (von der Firma Dr. G. Grübler & Co. bezogen) und 1 g Methylenblau (von der Firma Meister Lucius & Brüning bezogen) gelöst. Dann werden beide Lösungen zusammengemischt und für einige (2—5—7) Tage in Ruhe belassen. Hierauf filtriert man alles und benutzt den auf dem Filter zurückgebliebenen Niederschlag, den man mit destilliertem Wasser so lange ausspült, daß die filtrierende Flüssigkeit klar wird. Dann läßt man den gesammelten Rückstand in der Umgebungstemperatur austrocknen; man macht davon dann eine gesättigte Lösung in reinem Methylalkohol.

Die Manipulationen zur Färbung sind äußerst einfach:

1) Das Deckgläschen oder der Objektträger, auf den man das zu untersuchende Material gebracht hat (Strichpräparate), läßt man an der Luft austrocknen;

2) man gießt auf das Präparat für wenige (4—10) Sekunden einige Tropfen der färbenden Flüssigkeit;

3) das Deckgläschen wird dann rasch mit destilliertem Wasser ausgespült und in Balsam montiert.

Es ist wohl zu bemerken, daß, falls man sehr überzeugende Präparate der *Spirochaete pallida* erzielen will, die Färbungszeit nicht länger als 5—10 Sekunden sein muß und die Ausspülung sehr rasch geschehen muß; in diesem Fall erhält man eine ziemlich intensive Färbung der Spirochäten, die zwischen den beinahe vollkommen farblos gebliebenen histologischen Elementen deutlich hervortreten. Will man hingegen eine scharfe Kontrastfärbung erzielen, so braucht man nur um einige Sekunden die Einwirkung der Färbungsflüssigkeit zu verlängern

und dann reichlich mit destilliertem Wasser solange auszuwaschen, bis auf dem Präparat eine schwache diffuse Rosafärbung auftritt.

Kaum hatten wir diese kurze Mitteilung zu Ende geführt, als wir uns infolge von weiteren Untersuchungen überzeugen mußten, daß die der *Spirochaete* von Schaudinn und Hoffmann zugeschriebene Schwierigkeit in der Farbaufnahme nur als eine einfache Einbildungserscheinung sich darstellt.

Denn wir konnten sowohl bei den an der Luft getrockneten Präparaten, wie bei jenen durch Hitze oder absoluten Alkohol fixierten, durch Behandlung derselben für wenige Sekunden mit schwach erwärmten äthyl- oder methylalkoholischem Lösungen von Fuchsin (vorzugsweise von dem phenolalkoholischen Ziehls) von Genvianviolett oder von Methylenblau beobachten, daß die von Schaudinn und Hoffmann beschriebene *Spirochaete* die oben erwähnten Farben immer mehr oder minder intensiv aufweist. Wenn man aber Kontrastfärbungen erzielen will, dann ist die Universalfärbung vorzuziehen.

Siena, den 28. Juli 1905.

Literatur.

- 1) Schaudinn und Hoffmann, Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte. Bd. XXII. 1905.
- 2) Presse médicale. 24 mai 1905.
- 3) Ibidem.
- 4) Giemsa, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. p. 429, und Bd. XXXII. p. 307.
- 5) Reitmann, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 25. p. 197.
- 6) van Ermengem, Zitiert nach „Tecnica microbiologica e sieroterapica“ von Dr. A. Besson; italienische Uebersetzung von Dr. E. Bertarelli. Torino (Unione Tipografica Editrice) 1903.
- 7) Giemsa, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. 1904. p. 308.
- 8) May Grümwald, Centralbl. f. Med. 1902.
- 9) Simonelli, J., Di un metodo rapido di colorazione del gonococco a scopo diagnostico. Siena (Tipografia Cooperativa) 1905.

Nachdruck verboten.

L'agar ordinaire, comme milieu de culture du gonocoque.

[Institut pour la recherche des maladies infectieuses à Berne. Directeur: Mr le Prof. Dr. Tavel.]

Par le Dr. med. Th. Vannod, Médecin-chirurgien à Berne.

Avec 10 tabelles.

La question de la croissance du gonocoque sur de l'agar ordinaire a déjà fait couler beaucoup d'encre, a soulevé bien des polémiques et pourtant elle n'a pas encore été résolue d'une façon décisive et satisfaisante. Nous désirons apporter dans le débat quelques considérations et quelques recherches personnelles faites au laboratoire bactériologique de Berne, en 1904 et 1905.

A notre avis, Neisser s'est trop avancé quand il disait à la Société des dermatologues allemands, en 1899¹⁾, en parlant des cultures gonococciques sur agar ordinaire: „Alles, was wächst, sind sicher

1) Neisser, Verhandlungen der deutschen dermatologischen Gesellschaft. 1899. p. 133.

keine Gonokokken.“ En effet, l'on sait qu'autrefois-déjà, Bum m¹⁾, Krause²⁾, Leistikow³⁾ avaient obtenu des cultures de gonocoques sur des milieux ordinaires; en 1892, Wertheim⁴⁾, en 1898, Busch⁵⁾, en 1901, Nicolaysen⁶⁾ faisaient les mêmes constatations. En juin 1900 paraissait dans le Centralblatt für Bakteriologie un article très intéressant de Thalmann⁷⁾, où il démontrait la possibilité de cultiver le gonocoque sur de l'agar ordinaire possédant un certain degré d'acidité; il employait comme réactif la phénolphtaléine et se servait des $\frac{2}{3}$ de la quantité totale de soude caustique nécessaire pour la neutralisation complète de l'agar. Ce milieu présentait d'excellentes dispositions pour la croissance du gonocoque, mais avait l'inconvénient de ne pas se prêter aux réinoculations ultérieures. Il en était de même avec le bouillon ordinaire qui était neutralisé avec le 70 % de la quantité totale de soude caustique nécessaire à la neutralisation complète; c'était un très bon milieu de culture.

En février 1902 paraît dans le Centralbl. f. Bakteriol. la monographie du Dr. Wildbolz⁸⁾, de Berne, qui conclut aussi à la possibilité de cultiver le gonocoque sur de l'agar ordinaire. S'appuyant sur 20 observations de cultures-mères de gonocoques, Wildbolz constate que les gonocoques peuvent se cultiver sur de l'agar et du bouillon sans sérum. Alors que Thalmann obtenait des cultures abondantes sur agar provenant directement du pus gonorrhéique, mais ne pouvant facilement se réinoculer, Wildbolz ne réussit que 2 fois à cultiver sur agar ordinaire des gonocoques provenant d'une culture-mère d'agar-sérum (1^{ère} génération); il n'obtenait des réinoculations positives sur agar ordinaire qu'après 4 à 5 générations ou même plusieurs générations (dans un cas après 62 générations) d'agar-sérum. L'agar ordinaire de Wildbolz était préparé selon les règles habituelles, et comme réactif de neutralisation il se servait de papier tourne-sol; ses milieux étaient faiblement alcalins. Il y eut pourtant de grandes différences dans la croissance des gonocoques. Certaines sortes d'agar donnaient de très belles cultures avec agar-sérum alors que l'agar simple ne donnait pas trace de croissance et vice versa. Il ne croit pas que cela provienne de différences dans la réaction du milieu, mais il croit que la façon de cultiver est dépendante de l'agar, et il termine en déclarant que les grandes difficultés rencontrées à obtenir des cultures de 1^{ère} génération sur agar simple constituent un point important pour le diagnostic différentiel.

Au mois de juin 1902, nous trouvons dans le Centralbl. f. Bak-

1) Bum m, Beitrag zur Kenntnis der Gonorrhöe. (Arch. f. Gynäkol. 1884) und Der Gonococcus Neisser. Wiesbaden (F. Bergmann) 1885.

2) Krause, Die Mikrokokken der Blenorrhöe neonatorum. (Centralbl. f. prakt. Augenheilk. 1882.)

3) Leistikow, Die Bakterien bei den venerischen Krankheiten. (Charité-Annalen 1882 und Berlin. klin. Wochenschrift 1882.)

4) Wertheim, Die ascendierende Gonorrhöe beim Weibe. (Arch. f. Gynäkol. Bd. XLII. 1892.)

5) Busch, Cultivation of the Gonococci. (Medic. news. Vol. LXXII. 1898. Baumgartens Jahresberichte 1898.)

6) Nicolaysen, Bemerkungen über das Verhalten des Gonococcus zum Agar. (Ref. Münch. med. Wochenschrift 1901.)

7) Thalmann, Züchtung der Gonokokken auf einfachen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII. 1900. No. 24.)

8) Wildbolz, Zur Biologie der Gonokokken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. 1902. No. 4.)

teriologie une critique du travail de Wildbolz par Thalmann¹⁾. Ce dernier déclare que le point capital pour la culture du gonocoque sur agar ordinaire repose dans l'application d'une réaction déterminée. Quand le milieu nutritif (agar ordinaire) est devenu franchement alcalin avec le papier tourne-sol, nous avons déjà un terrain de culture favorable aux gonocoques, et ses capacités augmentent avec l'adjonction de soude caustique successivement jusqu'à un optimum, puis redescend à 0, lorsque l'agar est encore neutre à la réaction de la phénolphtaléine. Thalmann estime que le point optimum s'obtient en employant les $\frac{2}{3}$ de la quantité totale de soude caustique nécessaire à la neutralisation avec la phénolphtaléine. Il termine en disant qu'une réaction absolument et identiquement alcaline avec le papier tourne-sol ne peut pas être atteinte avec cette méthode (papier tourne-sol).

Dans le même journal Wildbolz²⁾ répond aux critiques de Thalmann; s'il a employé des milieux dont la réaction au papier tourne-sol était légèrement alcaline, c'est qu'il voulait prouver que la croissance du gonocoque était possible sur des milieux ordinaires d'agar et de bouillon, tels qu'on les emploie pour la croissance d'autres bactéries. Il n'a pas suivi les indications de Thalmann, non par ignorance de l'importance de la réaction, mais d'une façon voulue.

La querelle entre ces deux auteurs repose, à notre avis, sur un malentendu. Quand Wildbolz dit que l'agar de Thalmann est un milieu de culture qui se distingue des autres milieux employés jusqu'ici par sa réaction acide, il commet une erreur, comme le fait remarquer déjà Lipschütz, dans sa communication d'août 1904. En effet, Thalmann emploie exclusivement la phénolphtaléine pour titrer ses milieux; ainsi, l'agar de Thalmann réagit „acide“ à la phénolphtaléine, mais est „alcalin“, au papier tourne-sol. Il faut bien mettre les points sur les i.

Wassermann³⁾ a essayé le procédé de Thalmann et a suivi exactement les données prescrites par l'auteur; il a eu par-ci par-là une faible croissance de gonocoques, mais pour lui cette méthode est absolument impraticable pour le diagnostic et la réinoculation des cultures de gonocoques. Il admet qu'en inoculant la sécrétion purulente gonorrhéique sur de l'agar ordinaire, on dépose en même temps un peu d'albumine, qui aide beaucoup à la croissance du microorganisme; de même pour une 2^{ème} réinoculation (2^{ème} génération), car on transporte encore dans le second tube suffisamment d'albumine non coagulée par les traces de pus que l'on inocule. Cela confirmerait l'opinion de Thalmann lui-même qui dit que les gonocoques poussent facilement en 1^{ère} génération sur de l'agar ordinaire, mais qu'il est difficile de les réinoculer.

En 1903, Baermann⁴⁾, à la clinique de Neisser, a entrepris aussi une série d'essais pour contrôler les données de Thalmann; il conclut en disant que les expériences de Thalmann sont sujettes à

1) Thalmann, Zur Biologie der Gonokokken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. 1902. No. 14.)

2) Wildbolz, Erwiderung auf die Mitteilung von Herrn Dr. Thalmann. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1902. No. 4.)

3) Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. (Von Prof. Kolle und Prof. Wassermann. Bd. III. 1903. p. 166.)

4) Baermann, Ueber Züchtung von Gonokokken auf Thalmannschem bezw. gewöhnlichem Agar. (Zeitschr. f. Hygiene. 1903.)

caution et qu'il y a culture de gonocoques seulement grâce à la sécrétion transportée sur l'agar. Par contre, il confirme les données de Wildbolz.

En résumé, d'après Wassermann, on peut conclure que le gonocoque a besoin, pour sa croissance, de milieux artificiels avec albumine non coagulée et que les milieux ordinaires pour bactéries, spécialement l'agar, le glycerine-agar, le sérum sanguin de Löffler, la gélatine et le bouillon ne donnent ordinairement aucune croissance, sauf pour les générations avancées, comme Wildbolz et Urbahn¹⁾ l'ont prouvé.

Enfin, en 1904, paraît dans le *Centralbl. f. Bakteriol.* un travail de Lipschütz²⁾, qui étudie la détermination de réaction des milieux favorables aux gonocoques. Pour ses essais de neutralisation, il s'est servi de liquides humains (hydrocèle et ascite). Ils étaient franchement alcalins au papier tourne-sol; comme réactif de neutralisation, il s'est servi de la teinture neutre de lackmus. Il prouve l'importance de la réaction alcaline de la façon suivante: dans un certain nombre d'éprouvettes remplies de liquide d'hydrocèle et d'agar, dans la proportion de 1 à 3, il ajoute en doses toujours plus fortes une solution stérile à 5% de phosphate de soude acide (Natr. hydrophosphate), de façon à diminuer toujours plus le degré d'alcalinité; la réaction était devenue neutre au papier tourne-sol et enfin acide; la croissance des gonocoques était toujours plus faible et cessait enfin complètement avec une réaction nettement acide au papier tourne-sol, tandis que les contrôles montraient une culture abondante.

En résumé, nous nous trouvons devant 2 écoles; celle des auteurs qui ne mettent pas d'importance à la réaction des milieux (Wildbolz, spécialement) et celle de ceux qui voient dans la qualité de la réaction la condition essentielle de croissance du gonocoque. Alors que Finger, Ghon et Schlagenhauer³⁾ déclarent que le gonocoque ne supporte pas facilement un certain degré d'alcalinité, alors qu'il prospère parfaitement avec des milieux acides, la réaction étant faite avec le papier tourne-sol; d'autres, comme Thalmann et Lipschütz, ont observé que le coque de Neisser se développe mal avec une réaction acide et neutre au papier tourne-sol, tandis que la culture s'obtient parfaitement avec une réaction alcaline.

Ainsi, on est encore loin d'être d'accord et c'est ce qui nous a engagé à étudier la question de près. Dans la préparation de nos milieux à gonocoques (ascite-agar, Wassermann, Lipschütz), nous nous servions auparavant de la phénolphtaléine comme réactif de neutralisation de l'agar; c'est la méthode employée à l'Institut bactériologique de Berne. Nous avons été frappé de constater à maintes reprises que le gonocoque ne se cultivait pas sur des milieux fraîchement préparés, alors que d'autres bactéries ou coques s'y développaient parfaitement. Nous avons alors changé notre technique et employé exclusivement le papier tourne-sol comme réactif. A partir de ce moment, nous n'avons jamais eu d'échecs dans la préparation de nos milieux. C'est alors que nous avons commencé à cultiver le gonocoque sur de l'agar ordinaire.

1) Urbahn, Ein Beitrag zur Gonokokkenlehre. (*Archiv f. Augenheilkunde.* Bd. XLIV.)

2) Lipschütz, Ueber einen einfachen Gonokokkennährboden. (*Centralbl. f. Bakt.* Bd. XXXVI. 1904. No. 5.)

3) Finger, Ghon und Schlagenhauer. Beiträge zur Biologie des Gonococcus und zur pathologischen Anatomie des gonorrhöischen Prozesses. (*Archiv f. Dermat. u. Syph.* Bd. XXVIII. 1894.)

Nous l'avons préparé comme on le fait d'habitude: 500 grammes de viande de bœuf, coupée en petits morceaux et débarrassée de toute graisse et de tout tendon, est placée dans un ballon contenant 1 litre d'eau et macérée pendant quelques heures (7 à 8 h.), puis stérilisée à 115° pendant 1/2 heure et filtrée ensuite. L'agar y est ajouté en proportion de 1,5 pour 100 de bouillon, de même que le peptone (1 %) et le sel de cuisine (0,5 %). Le tout est cuit pendant quelques minutes, puis neutralisé avec du carbonate de soude à 10 % jusqu'à ce que le papier tourne-sol ne montre qu'une très légère réaction alcaline. Le mélange est refroidi à 55°, puis éclairci avec 2 blancs d'œufs et cuit pendant 1/4 d'heure; enfin, il est filtré et réparti dans les éprouvettes. Cette façon de procéder nous a donné un milieu excellent pour la culture du gonocoque. Déjà auparavant, après la publication des travaux de Thalmann et de Wildbolz, nous avions essayé de cultiver le gonocoque sur des tubes d'agar ordinaire préparés par le concierge de l'Institut: nous n'avions jamais observé de croissance quelconque de gonocoques, soit en se servant de pus gonorrhéique directement, soit en réinoculant des cultures d'agar-sérum à générations d'âges variés. Ajoutons que l'agar du concierge est neutralisé avec du carbonate de soude et titré, pour l'alcalinité, avec de la phénolphtaléine (légère coloration rose).

Nous avons alors comparé l'agar fabriqué par nous-même et l'agar fabriqué par le concierge (l'agar-agar était toujours le même); ils ne se distinguent que par le réactif de neutralisation employé. Alors que notre agar a donné presque toujours de fort belles cultures de gonocoques et de belles séries de générations, comme nous le verrons plus loin, l'agar ordinaire du concierge, beaucoup plus alcalin que le nôtre, n'a jamais montré trace de culture. Cette observation va à l'encontre des conclusions de Wildbolz, qui prouvait en 1902 que la croissance des gonocoques était possible sur des milieux ordinaires d'agar, tels qu'on les emploie pour la croissance d'autres microorganismes. L'agar du concierge, impropre au gonocoque, était employé en même temps à l'Institut pour les besoins des différents services et était un excellent milieu de culture pour les autres bactéries.

Nous avons procédé à une série d'essais de cultures de gonocoques sur agar ordinaire:

1° en inoculant directement du pus gonorrhéique;

2° en réinoculant les cultures d'agar ordinaire sur d'autres agars semblables;

3° en inoculant sur agar ordinaire des cultures d'autres milieux.

1° Agars ordinaires inoculés avec du pus gonorrhéique.

Il était admis jusqu'ici que le point important du diagnostic différentiel entre certains groupes de coques (le *Meningococcus intracellularis*, spécialement) et le gonocoque était l'absence de croissance de ce dernier sur agar ordinaire. Nombreux sont les auteurs qui ont prouvé le contraire, mais on admettait que la réinoculation de cet agar (1^{ère} génération) sur d'autres agars ne pouvait réussir que rarement et au plus jusqu'à la 2^{ème} génération. La croissance gonococcique sur agar ordinaire était due, selon Wassermann et d'autres, à la présence de l'albumine non coagulée transportée dans le tube d'agar avec la sécrétion purulente. Le résultat de nos observations ne confirme pas cette théorie. En effet,

la plupart de nos cultures d'agar ordinaire, inoculées avec du pus gonorrhéique, ont pu se réinoculer facilement et former une série de générations sur agar ordinaire.

Nous avons toujours inoculé la sécrétion purulente de nos gonorrhéiques sur les 3 milieux suivants :

1° sur ascite-agar,

2° sur milieu de Lipschütz (solution d'albumine d'œuf et agar),

3° sur agar ordinaire.

Nous avons aussi essayé de cultiver sur gélatine et sur pommes de terre; nos résultats ont toujours été négatifs.

Nous avons fait en sorte d'inoculer toujours la même quantité de sécrétion purulente sur les différents milieux. Si nous examinons les 14 cas de gonorrhée dont nous nous sommes servi pour inoculer nos milieux, nous constatons chaque fois des cultures abondantes sur agar ordinaire et sur les milieux de Lipschütz, moins fortes dans plusieurs cas sur ascite-agar. La rapidité de croissance a été le plus intense sur les milieux de Lipschütz, puis sur l'agar ordinaire et en troisième lieu sur l'ascite-agar. Les cultures ont toujours été contrôlées, d'abord microscopiquement avec la décoloration au Gram, puis en les réinoculant sur d'autres milieux (c'est-à-dire d'agar ordinaire sur Lipschütz ou ascite-agar et inversement). Dans deux cas où la sécrétion purulente renfermait des gonocoques avec staphylocoques ou diplostreptocoques, l'agar ordinaire et le milieu de Lipschütz donnaient une forte poussée de gonocoques et quelques colonies de staphylocoques ou de diplostreptocoques alors que l'ascite-agar ne donnait que des colonies de staphylocoques et de diplostreptocoques. Dans deux cas où le malade n'avait pu se rendre à l'Institut bactériologique, nous avons inoculé les 3 milieux habituels à notre consultation, à 2 h. de l'après-midi; à 4 h., soit 2 heures après, nous transportions les tubes à l'étuve de l'Institut. Les deux fois, l'agar ordinaire et le milieu de Lipschütz donnèrent de très belles cultures de gonocoques, l'ascite-agar resta stérile. Ainsi, nous pouvons en conclure que des 3 milieux indiqués, c'est l'agar ordinaire et le Lipschütz qui se sont montrés les plus favorables à la culture du gonocoque.

2° Réinoculation des cultures d'agar ordinaire.

Dans deux cas, nous n'avons pu réinoculer qu'une seule fois (c'est-à-dire produire 2 générations) nos cultures-types d'agar (Stammkultur). Ceci était dû à une infection secondaire et non à la qualité de l'agar. En général, nous avons obtenu une série de générations, variant entre 5, 8, 10 jusqu'à 30 générations. Les cultures étaient réinoculées tantôt tous les 2 jours, tantôt tous les 4 jours, 8 jours etc. Le 5 décembre 1904, nous inoculions de la sécrétion purulente gonorrhéique sur un tube d'agar ordinaire et de la culture abondante apparue après 24 heures, nous réinoculions tous les 2, 5, 7 et même 9 jours sur d'autres agars ordinaires et nous obtenions ainsi, jusqu'au 31 mars 1905, 30 générations successives de cultures pures de gonocoques. On ne nous objectera pourtant pas qu'on ait pu transporter chaque fois de l'albumine non coagulée, avec des traces de pus! Quant à la vitalité des cultures, nous avons obtenu de très belles croissances, très abondantes, en les réinoculant après 15 jours, après 21 et 28 jours.

3° Réinoculation sur agar ordinaire de cultures provenant d'autres milieux.

Contrairement à ce qu'a observé Wildbolz, nous n'avons pas remarqué qu'il faille accoutumer le gonocoque à cultiver d'abord sur des agars-sérum avant d'en obtenir des cultures sur agar ordinaire. Nous avons toujours pu réinoculer, dès les premières générations, des cultures gonococciques provenant de milieux de Lipschütz, ou d'ascite-agar sur de l'agar ordinaire, excepté, naturellement, les deux cas infectés à la 2^{ème} génération. Nous n'avons pas constaté de différences bien marquées entre la croissance sur agar ordinaire des cultures de 2^{ème}, de 5^{ème} ou de 10^{ème} génération de Lipschütz ou d'ascite-agar. Cependant, nous avons observé que les cultures d'agar simple provenant des jeunes générations (1^{ère}, 2^{ème} au 5^{ème} génération) d'autres milieux donnaient une série de générations moins nombreuses que celles provenant de générations plus anciennes (20^{ème}, 30^{ème} ou 55^{ème} génération). Alors que les premières ne fournissaient que 5 ou 6 générations, les autres en donnaient 10 ou 12; nous n'avons jamais pu cultiver plus longtemps, tandis que Wildbolz pouvait obtenir plus de 40 générations successives sur agar simple d'une culture ascite-agar à la 8^{ème} génération. Nous avons remarqué, comme Wildbolz, que certaines cultures (ascite-agar ou Lipschütz) qui donnaient des résultats positifs sur agar ordinaire dès les premières générations perdaient subitement, sans cause apparente, leur pouvoir de cultiver sur agar simple et le reprenaient après quelques générations. Ainsi, telle culture de 8^{ème} génération, par exemple, donnera une belle croissance sur agar ordinaire alors qu'on ne réussira pas avec la 9^{ème} ou la 10^{ème}, pour retrouver à la 11^{ème} ou 12^{ème} génération le pouvoir de cultiver sur agar ordinaire.

Soit pour l'inoculation directe du pus gonorrhéique, soit pour la réinoculation d'autres milieux sur agar ordinaire, on devrait prendre en considération, non pas seulement le degré d'alcalinité de l'agar, point très important, mais il faut apparemment aussi faire la part des différentes variétés de gonocoque. En effet, on est frappé de voir que les gonocoques cultivent d'une façon très variée; tel pus gonorrhéique donnera sur agar simple ou ascite-agar une croissance très rapide, au bout de quelques heures, alors qu'un autre écoulement inoculé nécessitera 24 ou plutôt 48 h. avant qu'on remarque, sur des milieux analogues, un début de culture. La période de la maladie, disons l'âge de la suppuration doit avoir aussi une certaine influence sur le gonocoque qui cultivera plus ou moins rapidement selon le degré d'acuité de la maladie ou la virulence du microbe.

De l'influence de la réaction de l'agar ordinaire sur les cultures de gonocoques.

Nous avons déjà dit plus haut quelle importance nous mettions à la réaction de nos milieux d'agars. En constatant la différence si frappante qui existait entre nos milieux d'agar ordinaire et ceux préparés par le concierge de l'Institut (l'agar-agar étant toujours le même), nous avons jugé intéressant d'étudier jusqu'à quel degré d'alcalinité ou d'acidité nos milieux étaient aptes à cultiver le gonocoque. Pour cela, nous avons pris des tubes d'agar, préparés à des époques différentes, légèrement alcalinisés et leur avons ajouté un certain nombre de gouttes d'une solution normale de soude caustique à 10% ou à 20%, puis

d'une solution de Natr. carbonic. à 2,5 % et à 10 %, enfin avec une solution normale d'acide chlorhydrique à 20 %. Nous avons procédé à nos expériences en inoculant les tubes d'agar ordinaire, tantôt avec du pus gonorrhéique directement, tantôt en réinoculant nos tubes avec des cultures d'agar ordinaire ou de milieux de Lipschütz.

Nous nous servirons, pour simplifier, des abréviations suivantes:

Cultures: très abondantes	=	▲▲▲
„ abondantes	=	▲▲
„ moyennes	=	▲
„ faibles	=	+
„ très faibles	=	++
„ nulles	=	—

1^{ère} série. Tubes d'agar ordinaire, faiblement alcalins au papier tourne-sol, préparés le 15 février 1905. Inoculés le 22 février avec une culture d'agar ordinaire du 20/II:

22/II	1°	Agar ordinaire (contrôle):	23/II	▲▲▲
„	2°	„ „ + 3 gouttes de solution normale de NaOH à 10%:	„	▲▲▲
„	3°	„ „ + 5 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	„	▲▲
„	4°	„ „ + 6 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	„	▲
„	5°	„ „ + 10 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	„	+ 24/II <
„	6°	„ „ + 15 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	„	+
„	7°	„ „ + 20 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	„	—
„	8°	„ „ + 3 „ „ „ „ „ „ HCl à 20%:	„	▲
„	9°	„ „ + 5 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	„	++
„	10°	„ „ + 10 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	„	—

Nous avons dressé des tabelles dont les lignes verticales indiquent, à leur sommet, le nombre d'heures nécessaires à la croissance (0, 24, 48), à leur base, le nombre de gouttes employées. Les lignes horizontales indiquent la qualité de la culture.

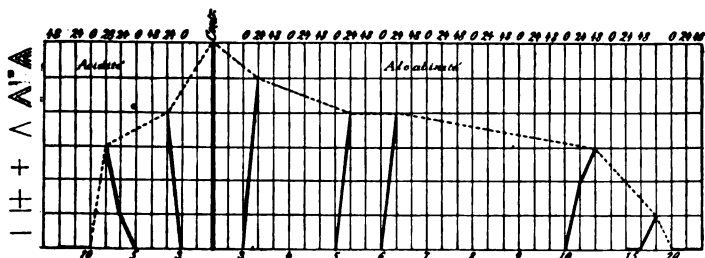


Tabelle No. 1.

On remarque que nos tubes d'agar supportent beaucoup mieux un excès d'alcalinité qu'une adjonction d'acide.

II^{ème} série. Tubes contenant 8 c. c. d'agar ordinaire, préparés le 20/II 1905, ayant une réaction faiblement alcaline au papier tourne-sol, nulle à la phénolphtaléine.

Pour obtenir la réaction alcaline avec la phénolphtaléine, il faut pour chaque tube: 1° Avec une solution normale de soude caustique à 20%: 8 gouttes pour le commencement de la réaction et 14 gouttes pour que la réaction soit complète (liquide restant coloré en rose).

2° Avec une solution de carbonate de soude à 10%: 2 gouttes pour le commencement de la réaction et 8 gouttes pour la réaction complète. Les tubes d'agar reçoivent, les uns un certain nombre de gouttes de la solution normale de soude caustique à 20%,

les autres du carbonate de soude, d'autres enfin des gouttes d'une solution normale d'acide chlorhydrique à 20%. Ils sont inoculés le 1^{er} mars avec une culture pure d'agar ordinaire du 27/II.

a) Avec solution normale de NaOH à 20%.

1°	1/III	Agar ordinaire (contrôle):							2/III	▲▲▲
2°	"	"	+	5	gouttes de NaOH normal à 20%:	"	"	"	"	"
3°	"	"	+	7	"	"	"	"	"	▲▲▲
4°	"	"	+	8	"	"	"	"	"	▲▲▲
5°	"	"	+	10	"	"	"	"	"	+
6°	"	"	+	12	"	"	"	"	"	—
7°	"	"	+	14	"	"	"	"	"	—

b) Avec solution normale de HCl à 20%.

8°	1/III	Agar ordinaire	+	5	gouttes de HCl normal à 20%:	2/III	▲
9°	"	"	+	10	"	"	—
10°	"	"	+	15	"	"	—
11°	"	"	+	20	"	"	—

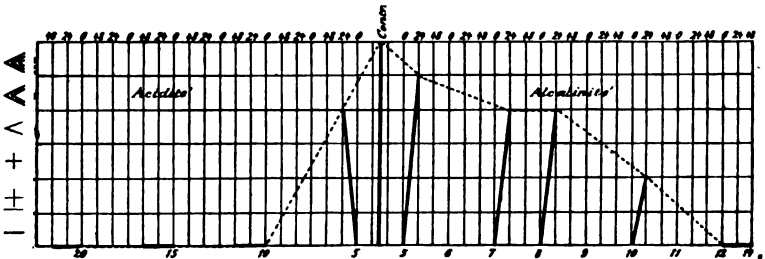


Tabelle No. 2.

c) Avec carbonate de soude à 10%.

3/III	Agar ordinaire (contrôle):				4/III	▲
"	"	"	+	2	gouttes Natr. carb.:	▲ 5/III ▲
"	"	"	+	4	"	— " —
"	"	"	+	6	"	— " —
"	"	"	+	8	"	— " —
"	"	"	+	10	"	— " —

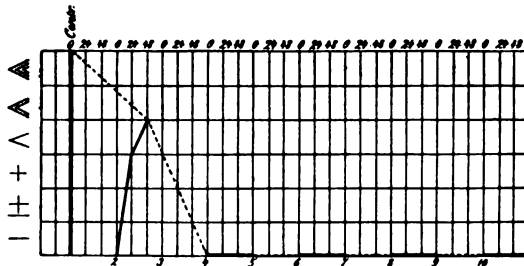


Tabelle No. 3.

Contre épreuve des séries a et b.

a) Avec solution normale de NaOH à 20%.

1°	3/III	Agar ordinaire (contrôle):						4/III	▲▲▲
2°	"	"	+	5	gouttes de NaOH:	"	"	"	▲▲▲
3°	"	"	+	7	"	"	"	"	▲
4°	"	"	+	8	"	"	"	"	▲
5°	"	"	+	10	"	"	"	"	5/III +
6°	"	"	+	12	"	"	"	"	+
7°	"	"	+	14	"	"	"	"	—

b) Avec solution normale de HCl à 20‰.

8°	3/III	Agar ordinaire	+	5	gouttes de	HCl:	4/III	△
9°	"	"	"	+ 10	"	"	"	—
10°	"	"	"	+ 15	"	"	"	—
11°	"	"	"	+ 20	"	"	"	—

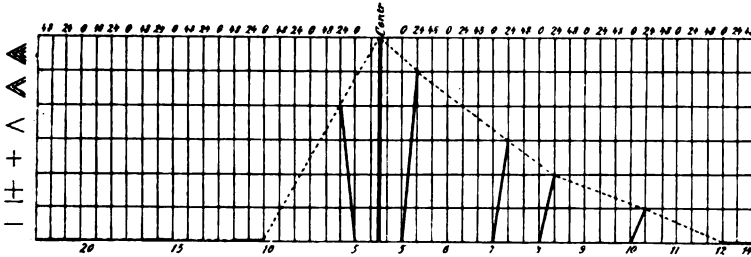


Tabelle No. 4.

Nous voyons, dans cette série, que nos tubes supportent beaucoup plus facilement l'adjonction de gouttes alcalines que d'acides. Alors qu'avec ces dernières, on ne remarque plus de culture avec 10 gouttes, nous constatons avec le même nombre de gouttes d'une solution normale de soude caustique à 20‰ une culture faible. L'apparition d'une légère réaction à la phénolphtaléine fait diminuer l'abondance de la culture et la réaction complète l'abolit absolument.

III^{ème} série. Tubes contenant 8 et 6 c. c. d'agar ordinaire, préparé en janvier et en février 1905 et neutralisé avec du carbonate de soude à 2,5‰.

A. Les tubes de 8 c. c. d'agar ordinaire préparé en janvier ont une réaction neutre au papier tourne-sol, nulle à la phénolphtaléine. Il faut y ajouter 20 gouttes de la solution de Natr. carb. pour avoir une légère réaction à la phénolphtaléine et 35 gouttes pour la réaction complète.

B. Agar ordinaire, préparé en février 1905, légèrement alcalin au papier tourne-sol, réaction nulle à la phénolphtaléine.

a) Tubes de 6 c. c. d'agar ordinaire: il faut 9 gouttes de Natr. carbonic. pour une légère réaction à la phénolphtaléine et 28 gouttes pour une réaction complète.

b) Tubes de 8 c. c. d'agar ordinaire: il faut 10 gouttes pour une légère réaction à la phénolphtaléine et 35 gouttes pour la réaction complète.

L'inoculation des tubes a été faite avec une culture pure d'agar ordinaire, âgée de 48 heures.

Tubes A (de janvier 1905) avec Natr. carb. à 2,5‰.

1°	7/III	Agar ordinaire	(contrôle):	9/III	△				
2°	"	"	+ 5	gouttes de	Natr. carb.:	"	<	10/III	△
3°	"	"	+ 10	"	"	"	+	"	+
4°	"	"	+ 15	"	"	"	—	"	±
5°	"	"	+ 20	"	"	"	—	"	—
6°	"	"	+ 25	"	"	"	—	"	—
7°	"	"	+ 30	"	"	"	—	"	—
8°	"	"	+ 35	"	"	"	—	"	—
9°	"	"	+ 40	"	"	"	—	"	—

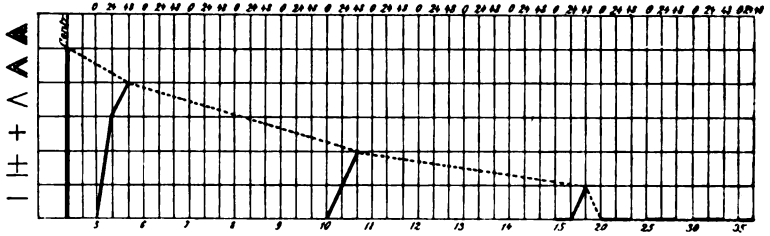


Tabelle No. 5.

Tubes B (de février 1905) avec Natr. carb.

a) Avec 6 c. c. d'agar ordinaire.

1° 7/III Agar ordinaire (contrôle):				9/III			
2°	"	"	+ 5	gouttes de Natr. carb.:	"	▲▲	
3°	"	"	+ 8	"	"	"	+ 10/III <
4°	"	"	+ 9	"	"	"	"
5°	"	"	+ 12	"	"	"	"
6°	"	"	+ 15	"	"	"	"
7°	"	"	+ 20	"	"	"	"
8°	"	"	+ 25	"	"	"	"
9°	"	"	+ 28	"	"	"	"

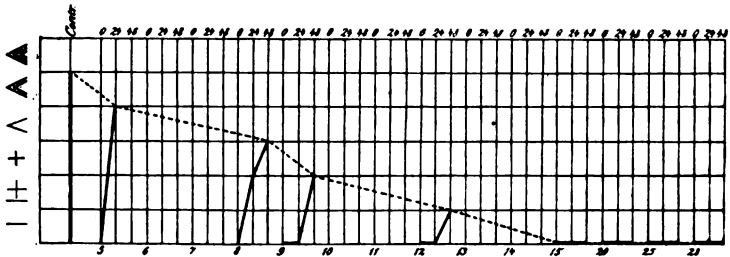


Tabelle No. 6.

b) Avec 8 c. c. d'agar ordinaire.

1° 7/III Agar ordinaire (contrôle):				9/III			
2°	"	"	+ 5	gouttes de Natr. carb.:	"	▲▲	
3°	"	"	+ 10	"	"	"	+ 10/III <
4°	"	"	+ 15	"	"	"	"
5°	"	"	+ 20	"	"	"	"
6°	"	"	+ 25	"	"	"	"
7°	"	"	+ 30	"	"	"	"
8°	"	"	+ 35	"	"	"	"

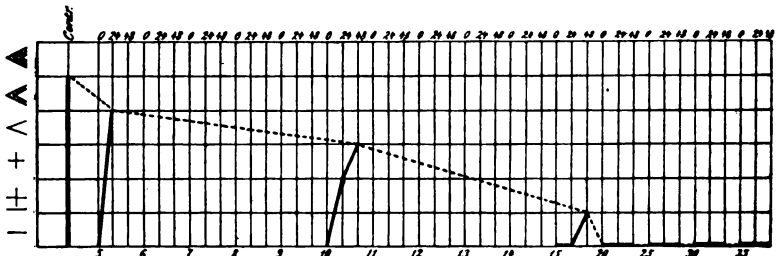


Tabelle No. 7.

Dans les 3 différentes espèces de tubes d'agar, le tube contrôle a toujours montré une culture plus abondante que ceux où l'on n'avait

ajouté que 5 gouttes de carbonate de soude. A remarquer les tubes A, dans lesquels la légère réaction à la phénolphtaléine (20 gouttes) fait cesser toute croissance de gonocoques. Chez les deux autres, on observe une culture faible et moyenne avec l'apparition de la réaction à la phénolphtaléine, mais la réaction complète n'a jamais donné de résultats positifs.

IV^{ème} série. Agar ordinaire préparé en mars 1905.

Il a fallu, pour 1 litre d'agar, 3,5 gr. de Natr. carbonic. à 10% pour avoir une légère réaction alcaline au papier tourne sol; réaction nulle à la phénolphtaléine.

Avec des tubes contenant 8 c. c. d'agar ordinaire, il faut 17 gouttes de Natr. carbonic. à 2,5% pour avoir une légère réaction à la phénol-

Tubes A avec Natr. carb. à 2,5%.

1°	10/III	Agar ordinaire (contrôle):		11/III	▲▲▲
2°	"	"	+ 5 gouttes de Natr. carb.:	"	▲▲▲
3°	"	"	+ 10 "	"	▲▲
4°	"	"	+ 15 "	"	▲
5°	"	"	+ 17 "	"	—
6°	"	"	+ 20 "	"	—
7°	"	"	+ 25 "	"	—
8°	"	"	+ 28 "	"	—
9°	"	"	+ 30 "	"	—

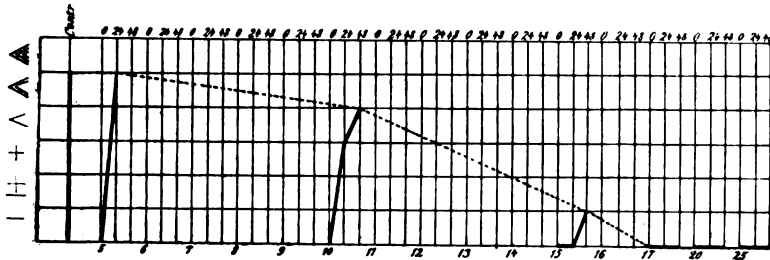


Table No. 8.

Tubes B avec Natr. carb. à 2,5%.

1°	15/III	Agar ordinaire (contrôle):		16/III	▲▲▲
2°	"	"	+ 5 gouttes de Natr. carb.:	"	▲▲▲
3°	"	"	+ 10 "	"	▲▲
4°	"	"	+ 15 "	"	▲
5°	"	"	+ 17 "	"	—
6°	"	"	+ 20 "	"	—
7°	"	"	+ 25 "	"	—
8°	"	"	+ 28 "	"	—
9°	"	"	+ 30 "	"	—

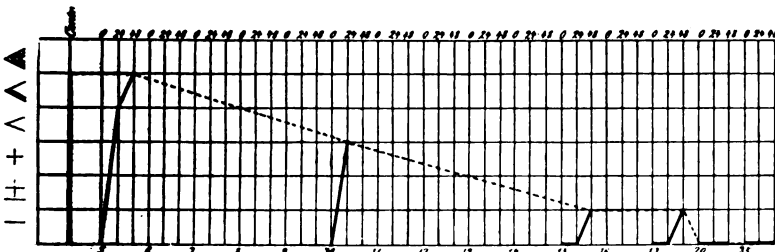
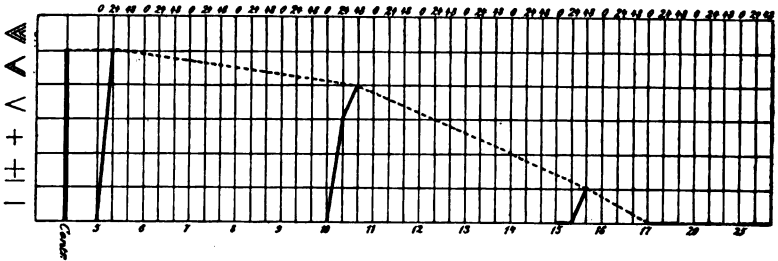


Table No. 9.

phtaléine et 30 gouttes pour la réaction complète. Les tubes A et B ont été inoculés directement avec du pus gonorrhéique, les tubes C ont été inoculés avec une culture pure de gonocoques crue sur milieu de Lipschütz.

17/III \triangleleft
Tubes C avec Natr. carb. à 2,5%.

1° 15/III Agar ordinaire (contrôle):				16/III \triangleleft	
2°	"	"	+ 5 gouttes de Natr. carb.:	"	\triangleleft
3°	"	"	+ 10 " " " "	"	\triangleleft 17/III \triangleleft
4°	"	"	+ 15 " " " "	"	"
5°	"	"	+ 17 " " " "	"	"
6°	"	"	+ 20 " " " "	"	"
7°	"	"	+ 25 " " " "	"	"
8°	"	"	+ 28 " " " "	"	"
9°	"	"	+ 30 " " " "	"	"



Tablelle No. 10.

Ces 3 courbes se ressemblent beaucoup; celles des tubes A et C sont identiques et pourtant les premiers avaient été inoculés directement avec du pus gonorrhéique alors que, pour les seconds, l'ensemencement avait été fait avec une culture de Lipschütz. On remarque que l'adjonction de 17 gouttes, amenant une légère réaction à la phénolphtaléine, a fait cesser toute culture dans les tubes A et C, lorsqu'elle n'en occasionne qu'une très faible dans les tubes B.

Nous voyons que, pour obtenir de belles cultures gonococciques sur agar ordinaire, il faut légèrement alcaliniser ce dernier et se servir, comme réactif, du papier tourne-sol. L'adjonction de liquides alcalins diminue progressivement la qualité de croissance du gonocoque et la fait cesser absolument quand l'agar réagit complètement à la phénolphtaléine.

Conclusions.

1° L'agar ordinaire, faiblement alcalinisé, est un bon milieu pour la croissance du gonocoque.

2° L'agar ordinaire se prête parfaitement à des réinoculations successives (5, 8, 10 à 30 générations).

3° Les cultures gonococciques sur sérum-agar ou sur milieu de Lipschütz peuvent facilement se réinoculer sur agar ordinaire, faiblement alcalin, qu'elles soient à leur début (1^{ère} ou 2^{ème} génération) ou qu'elles soient plus âgées. Nous n'avons pas remarqué qu'il faille accoutumer d'abord le gonocoque à cultiver sur sérum-agar.

4° La réaction du milieu est très importante: l'agar ordinaire, examiné avec le papier tourne sol, doit être légèrement alcalin. L'adjonction de quelques gouttes d'acide ou d'alcali diminue la croissance du gonocoque, d'une façon plus intense avec l'acide qu'avec les alcalins.

Nos expériences ont été contrôlées par Mr le Prof. Dr. Tavel, Directeur de l'Institut, ainsi que par Mr le Dr. Heller, Chef de laboratoire; nous leur adressons nos remerciements sincères pour leur extrême affabilité.

Berne, juillet 1905.

Nachdruck verboten.

**Bemerkung zu Dr. Leo Buergers Abhandlung:
„Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien;
zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger
eingekapselter Organismen“¹⁾.**

Von Prof. Dr. Ferdinand Kern,

Vorstand des kgl. kroat.-slav. bakteriologischen Landesinstitutes in Križevci (Kroatien).

Buerger bespricht in dieser seiner Abhandlung, p. 345, unter anderen Bakterien auch die Morphologie des *Bacillus anthracis* und dessen Untersuchung mit dem von ihm beschriebenen Kapsel-färbungsverfahren und gelangt an der Hand seiner Untersuchungen zu folgendem Schlusse: „Die Frage, ob die Kapsel unter allen Umständen ein integrierender Bestandteil des *Bacillus* ist oder ob dieselbe nur infolge des Einflusses der serösen Körperflüssigkeit entsteht, ist immer noch strittig. In einigen Fällen wurden die Kapseln von John, 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 . . .“

Da Buerger meine Arbeit „Ueber die Kapsel des *Anthraxbacillus*“, welche sich mit dem Thema seiner Konklusion befaßt und im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXII. p. 166 erschienen ist, weder bei seinen Arbeiten in Betracht zieht noch überhaupt erwähnt, sehe ich mich veranlaßt, selbe in Erinnerung zu bringen. Ich bin überzeugt, daß sie Herrn Buerger entgangen ist.

Die Ansichten Buergers über die Kapsel der *Anthraxbacillen* decken sich nicht mit den meinigen, zu welchen mich meine Forschungen über selbe führten und an welchen ich festhalte.

Mit meiner Färbungsmethode habe ich dafür Beweise erbracht:

- 1) Daß der Milzbrandbacillus sowohl im Tierkörper wie auch in Kulturen stets von einer Kapsel umgeben ist, welche auch in älteren als 48 Stunden alten Kulturen nachgewiesen werden kann und damit:
- 2) daß die Kapsel ein integrierender Bestandteil dieses *Bacillus* ist, welcher allem Anscheine nach nicht infolge des Einflusses der serösen Körperflüssigkeiten entstehen.

Daß dem so ist, kann sich jedermann, der in der praktischen Bakteriologie bewandert ist, auf das einfachste Ueberzeugung verschaffen.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. Heft 2 u. 3.

Inhalt.

- Ankersmit, F.**, Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. (Schluß.), p. 100.
- Bandi, Ivo** und **Simonelli, Francesco**, Ueber das Vorhandensein der Spirochaete pallida im Blute und in den sekundären Erscheinungen der Syphiliskranken, p. 64.
- Bang, J.** und **Forssman, J.**, Untersuchungen über die Hämolysebildung, p. 151.
- Bertarelli, E.** und **Volpino, G.**, Untersuchungen über die Spirochaete pallida Schaudinn bei Syphilis, p. 56.
- Böhme, A.**, Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke, p. 129.
- Bürgl, Moritz**, Die Staphylokokkeninfektion bei den Hasen. (Schluß.), p. 91.
- Citron, J.**, Ueber die Immunisierung mit Exsudaten und Bakterienextrakten, p. 153.
- Eijkman, C.**, Zur Reinigung des Trinkwassers mittels Ozon, p. 155.
- Ernst, Wilhelm**, Ueber Pyelonephritis diphtherica bovis und die Pyelonephritis-bacillen. (Schluß.), p. 79.
- Ghon, Anton** und **Mucha, Victor**, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. III. (Schluß.), p. 37.
- Hunter, William**, The spread of plague infection by insects, p. 43.
- Kern, Ferdinand**, Bemerkung zu Dr. Leo Buergers Abhandlung: „Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien; zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Differenzierung einiger eingekapselter Organismen, p. 175.
- Konrádi, Daniel**, Typhusbacillen in der Milch, p. 31.
- Lüdke, H.**, Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie. II. (Schluß.), p. 69.
- Mereschkowsky, S. S.**, Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. (Schluß.), p. 118.
- Porges, Otto**, Ueber die Beziehungen zwischen Bakterienagglutination und Ausflockungserscheinungen der Kolloide, p. 133.
- Sachs, Hans**, Ueber Komplementoide, p. 125.
- Scheller, Robert**, Beiträge zur Diagnose und Epidemiologie der Diphtheritis, p. 1.
- Simonelli, Francesco** und **Bandi, Ivo**, Ueber eine rasche Färbungsmethode von Spirochaete pallida, p. 159.
- Vannod, Th.**, L'agar ordinaire, comme milieu de culture du gonococque, p. 162.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einreichung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Bacterium agreste n. sp.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. F. Löhnis.

Bei der Beschäftigung mit den Bakterien, die an den verschiedenen in der Ackererde sich abspielenden Stickstoffumsetzungen aktiv beteiligt sind, traf ich unter anderem auf eine Art, die mein Interesse deshalb in Anspruch nahm, weil sie die bei den Bakterien ohnehin selten anzutreffende Eigenschaft der Salpeterassimilation in ganz besonders hohem Grade besaß. In den kürzlich in der zweiten Abteilung dieses Blattes¹⁾ veröffentlichten „Beiträgen zur Kenntnis der Stickstoffbakterien“ habe ich die betreffenden Befunde mitgeteilt. Bei dem Versuch, die in Rede stehende Art auf Grund ihrer sonstigen kulturellen und morphologischen Eigenschaften mit einer der bekannten Species zu identifizieren, ergab sich, daß sie mit keiner der bisher beschriebenen völlig übereinstimmte.

Dagegen ist sie, soweit ich dies nach der von Lehmann und Neumann in ihrem „Grundriß der Bakteriologie“ gegebenen Diagnose und den Abbildungen in ihrem Atlas zu beurteilen vermag — einen Vergleich mit lebendem Material konnte ich leider nicht ausführen — sowohl hinsichtlich ihrer mikroskopischen Erscheinung wie auch in ihrem Wachstum auf den gebräuchlichen Nährsubstraten in gewissem Grade dem *Bacterium pestis* ähnlich, wenn auch allerdings die Entwicklung sich durchweg etwas üppiger, saftiger, schleimiger darstellte als für die genannte pathogene Art angegeben ist. Scharf geschieden wird die neue Art von der genannten vor allem durch lebhaftere Beweglichkeit und fehlende Pathogenität. Einige weitere Unterschiede ergeben sich aus dem nachfolgenden Bericht über Isolierung, Aussehen und Verhalten der isolierten Art.

Bacterium agreste wurde aufgefunden, als unter Verwendung von Mannit-Bodenextraktagar Gußkulturen von mit Ackererde beimpftem Mannit-Bodenextrakt angelegt wurden²⁾. Bereits nach 1—2 Tagen wurden bei Aufbewahrung der Platten bei 30° die Kolonien makroskopisch sichtbar und rasch entwickelten sie sich zu bis 6 mm großen, wenig erhabenen, hellgrauen, durchscheinenden, ganz dünnflüssigen, kreisrunden oder ovalen Tropfen. Die Tiefenkolonien repräsentierten sich makroskopisch entweder als winzige, weiße Pünktchen, oder als mehrere Millimeter breite, ganz dünne, unregelmäßig umrandete schleierartige Häutchen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Oberflächenkolonien auf dem Mannitagar als hellgraue Scheiben, in der Mitte mit dunkler grober Granulierung, mit hellem, scharfem, nicht oder

1) Bd. XIV. p. 582, 713.

2) Um zu einer eingehenden Kenntnis der verschiedenen Gruppen von Bodenbakterien zu gelangen, verwende ich nach Beijerincks Vorgang, entsprechend der Richtung, in der sich die Untersuchung jeweils bewegen soll, verschieden zusammengesetzte Lösungen und feste Substrate. Hinsichtlich der Art der Bereitung dieser Spezialnährböden maß ich auf meine in der zweiten Abteilung dieses Blattes veröffentlichten Arbeiten (spez. Bd. XII. p. 455 ff. Bd. XIV. p. 583 f., 599) verweisen.

wenig gekerbttem Rand. Die Tiefenkolonien waren entweder rund, scharfrandig, dunkelbraun, oder flach ausgebreitet, hellbraun, oft mit abwechselnd dunkleren und helleren Zonen; die dunklen Partien erscheinen grob granuliert, nach außen zu wird die Scheibe heller und der Rand ist nur schwer erkennbar.

Im Ausstrichpräparat zeigten sich die Bakterien meist als Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden, gewöhnlich $\frac{3}{4} \mu$ dick, 1—2 μ lang. Oft erscheinen sie (infolge Polfärbung) wie Diplokokken. Selten wurden Fäden und Ketten beobachtet. Aus Bouillon, die bei 37° aufbewahrt worden war, konnten streptokokkenartige Verbände erhalten werden. Material von Fleischgelatine zeigte Kapseln, die bei Kultur in Salpeter-Bodenextrakt (s. unten) zu schönster Ausbildung gelangten. In Mannit-Bodenextrakt traten ebenso wie bei anderen Arten¹⁾ auffällige Hypertrophien und Plasmadifferenzierungen (bauchige, nur teilweise färbare Gebilde) auf; doch war auch auf 3-proz. Kochsalzsagar die Neigung zur Bildung abnormer Wuchsformen eine große, und *Bact. agreste* übertraf das gleichzeitig in dieser Richtung geprüfte *Bact. pneumoniae* sehr erheblich. In der 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrten Kultur hatten die Stäbchen bereits etwas an Größe (namentlich Dicke) zugenommen und es waren einige umgegliederte Fäden bis zu 10 μ Länge vorhanden. Nach weiteren 16 Stunden bei 37° waren fast nur Fäden mit beginnender Ausbauchung sichtbar, und wiederum 20 Stunden später betrug die Dicke der Fäden 1—2, an den aufgetriebenen Stellen bis 3 μ und die Länge bis zu 30 μ in maximo.

Bei der Färbung mit gewöhnlichen Anilinfarben war, wie erwähnt, an den kurzen Stäbchen (sowohl bei der Fixierung in der Flamme wie in Alkohol) häufig Polfärbung zu beobachten, während die etwa vorhandenen Fäden gleichmäßig tingiert wurden. Bei der Behandlung nach Gram fand Entfärbung statt.

Beweglichkeit schien zuerst (an vom Mannit-Agar entnommenen Material) zu fehlen; doch ergab sich weiterhin, daß junge, bei Zimmertemperatur gehaltene Bouillonkulturen lebhaft beweglich sind. Die Beißelung ist peritrich.

Sporenbildung konnte nicht wahrgenommen werden.

Gegen höhere Temperatur war das Bakterium unmittelbar nach der Isolierung aus dem Boden ziemlich empfindlich. Bei 37° fand nur eine äußerst dürftige Entwicklung statt, während bei Zimmertemperatur (20°) das Wachstum ein verhältnismäßig gutes war. Später, nach mehrmonatlicher Kultur während der Sommermonate (bei höherer Zimmertemperatur) war auch die Entwicklung im Brutschrank etwas besser.

Auf der Fleischgelatineplatte erreichten die Kolonien innerhalb 3—5 Tagen ihre volle Ausbildung. Auf dem zu dieser Zeit erreichten Stadium blieben sie weiterhin, ohne sich zu verändern, stehen. Makroskopisch erscheinen die Oberflächenkolonien, die meist nur einen Durchmesser von 1—2 mm erreichen, als graue durchscheinende, oft mit etwas unebener Oberfläche versehene, an Stearintropfen oder Sandkörner erinnernde Gebilde, während die Tiefenkolonien einfache gelbliche Punkte darstellen. Die Konsistenz ist etwas schleimig und schwach fadenziehend. Bei schwacher Vergrößerung zeigen sich die Oberflächenkolonien stark lichtbrechend, gelblichgrün oder gelblichbraun, meist ziemlich kräftig granuliert. Zuerst sind sie

1) l. c. Bd. XIV. p. 588.

sämtlich kreisrund, selten eingekerbt, scharfrandig; später aber schieben sich an den Kolonien, die ursprünglich dicht unter der Oberfläche lagen, von der emporragenden Mitte bogige Partien nach dem Rande zu und treten über denselben in dünner Lage hinaus, so daß die runde dunkler gefärbte Kolonie von einer hellen Zone umgeben ist, die aus kleineren und größeren, einander zum Teil überdeckenden Bogen besteht. Das Koloniebild ist besonders auffallend im verdunkelten Gesichtsfeld. Der auf Tafel 13 von Lehmanns und Neumanns Atlas befindlichen Fig. IVb ist es sehr ähnlich, mit dem Unterschiede jedoch, daß die Bogen etwas kräftiger ausgebildet sind, und infolgedessen die Randzone nicht ganz so zart erscheint und sich auch nicht so scharf absetzt, wie dies für *Bact. pestis* angegeben ist. — Bei den wenigen Kolonien, die von vornherein völlig an der Oberfläche lagen, bleibt der Rand kreisrund. — Die für *Bact. pestis* charakteristischen Fadenschlingen konnten im Klatschpräparat nie beobachtet werden. Zwar sind in den bogigen Randpartien gewundene Bakterienzüge mitunter deutlich sichtbar, aber die einzelnen Stäbchen liegen stets scharf isoliert. — Die Tiefenkolonien erscheinen bei schwacher Vergrößerung kreisrund, gelbbraun, deutlich granuliert, der Rand durchscheinend, das Zentrum undurchsichtig.

Auf der Agarplatte erreichen die Kolonien ebenfalls einen Durchmesser von 1–3 mm. Dem unbewaffneten Auge erscheinen sie an der Oberfläche als weißlichgraue, kreisrunde, etwas erhabene, saftig glänzende Scheibchen, in der Tiefe entweder als weißliche Pünktchen oder flach ausgebreitete, dünne, graue Schleier. Unter dem Mikroskop zeigen die Oberflächenkolonien gelbliche Färbung mit einem Stiche ins Graue oder Bräunliche, die Mitte ist deutlich granuliert, der Rand durchscheinend. Das Aussehen ähnelt sehr den Abbildungen Taf. 13, VIa, späterhin VIb in Lehmanns und Neumanns Atlas, doch ist auch hier entsprechend dem Verhalten der Kolonien auf der Gelatineplatte die Grenze zwischen Zentrum und Rand nicht so scharf sichtbar wie bei *Bact. pestis* und die Umgrenzung bleibt nahezu immer kreisrund. Die punktförmigen Tiefenkolonien sind braun gekörnt, wie Fig. 13, VII d a. a. O., während die schleierartig ausgebreiteten unter dem Mikroskop als nur schwach sichtbare zarte graue Scheiben mit verwaschenem Rand erscheinen.

In der Gelatinestichkultur findet ziemlich kräftiges, weißliches, etwas gekörntes Wachstum längs des Stiches statt. Die Auflage erscheint weißlich, glänzend. Meist bleibt das Flächenwachstum bei etwa $\frac{1}{2}$ cm Durchmesser stehen, und in diesem Falle kann der Rand etwas höckerig werden, oder die Ausbreitung nimmt weiterhin zu, so daß dann eine ziemlich flache, runde Scheibe mit nur wenig unregelmäßigem Rand zu stande kommt.

Der Belag längs des Agarstrichs stellt sich zuerst gewöhnlich als aus feinen Tautropfchen bestehend dar; sehr bald bildet er aber einen grauweißen dünnen, durchscheinenden, glänzenden, etwas schleimigen, in der Hauptsache glattrandigen Ueberzug, mit meist fein chagriniertes Oberfläche. Das Kondenswasser bleibt fast klar; der spärliche Bodensatz ist gelblichweiß.

Der Agarstich läßt nur schwache fadenförmige Entwicklung innerhalb des Substrats erkennen. Die rundliche Auflage ist weißlich und glänzend.

Die bei Zimmertemperatur aufbewahrte Bouillon trübt sich bald,

und diese deutliche Trübung bleibt wochenlang bestehen. An der Oberfläche bildet sich bei ruhigem Stehen ein zartes, weißgraues Häutchen, von dem aus leicht Flöckchen zu Boden sinken, die dort einen lockeren, feinflockigen Bodensatz bilden. Im Brutschrank dagegen bleibt die Bouillon in der Hauptsache klar, und es bildet sich nur ein weißliches Sediment in geringer Menge.

Die Milch bleibt nach ihrem äußeren Ansehen scheinbar völlig unverändert, doch zeigt sich bei starkem Schütteln, sowie beim Eintauchen der Platinnadel, daß sie etwas schleimig und schwach fadenziehend geworden ist.

Auf der Kartoffel kam zunächst ein weißlich-glasiger, später weißlichgrauer oder weißlichgelblicher ziemlich rasch sich ausbreitender Belag zu stande. Derselbe wird eigentümlich höckrig, warzig, bleibt etwas durchscheinend und glänzend.

Von chemischen Leistungen ist die Indolbildung hervorzuheben, die unmittelbar nach der Isolierung aus dem Boden ziemlich schwach, dagegen nach einige Monate hindurch fortgesetzter Kultur recht kräftig war¹⁾. Traubenzucker und Milchzucker wurden nicht vergoren. Sehr charakteristisch ist, wie gesagt, das Verhalten in Glycerin-Salpeter-Bodenextrakt, in dem der Stickstoff des Salpeters (1 ‰) innerhalb 6 Tagen restlos in organische Bindung übergeführt wird. Dabei wird die Flüssigkeit vollständig in eine opaleszierende, dünnflüssige Gallerte verwandelt. Die Bakterien sind in diesem Falle von mehr oder minder mächtigen Gallertkapseln umgeben.

Pathogene Eigenschaften konnten, wie bereits oben hervorgehoben, nicht festgestellt werden. Zwar verendete eines der Versuchstiere (Meerschweinchen) 14 Tage nach der Impfung, doch ergab weder der Sektionsbefund noch die bakteriologische Prüfung irgend welchen Anhaltspunkt für eine etwaige schwach pathogene Wirkung des zu den Versuchen benutzten Stammes von *Bact. agreste*.

Herr Dr. Dibbelt, Assistent am hygienischen Institut der Universität Leipzig, hatte die Freundlichkeit, meiner Bitte, die neue Art auf ihr Verhalten im Tierkörper zu prüfen, in bereitwilligster Weise nachzukommen. Ich möchte nicht unterlassen, ihm auch an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank hierfür auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Aktinomycceten.

[Aus der bakteriolog. Abteilung des Hygiene-Instituts der Universität Zürich. Abteilungsvorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.]

Von Dr. phil. Everhard Haass.

Die Frage der Stellung und Einteilung der Aktinomycceten ist immer noch nicht in übereinstimmend befriedigender Weise erledigt worden. Wir haben daher die genauere Untersuchung einer Anzahl be-

1) *Bact. agreste* zeigte in dieser Richtung dasselbe Verhalten, wie ich es auch schon bei anderen aus der Erde isolierten Arten beobachtet und beschrieben habe (l. c. Bd. XIV. p. 716).

reits bekannter, sowie von uns selbst gewonnener Stämme vorgenommen und möchten, während wir für Einzelheiten auf die gleichzeitig erscheinende ausführliche Arbeit¹⁾ hinweisen, die wesentlichsten Resultate hier mitteilen. Untersucht wurden folgende 13 Stämme:

1) *Actinomyces Stamm*, ein seit Jahren im Hygiene-Institut gezüchteter Mikroorganismus aus dem Institut Pasteur in Paris.

2) *Actinomyces Rindszunge*, wurde seiner Zeit aus einer aktinomykotischen Rindszunge, die vom Züricher Schlachthaus dem Institut zugestellt worden war, isoliert.

3 u. 4) *Actinomyces Luft I und II*, 2 Stämme, von uns selbst aus der Luft isoliert, indem Agarplatten im Freien 10—15 Minuten lang aufgestellt worden waren.

In den wesentlichsten Punkten entsprechen diese vier Strahlenpilzformen dem Bostroemschen, sowie den als *Actinomyces bovis* Harz, *Actinocladothrix Nocardii*, *Actinomyces de Toni* und *Trevisan*, *Streptothrix alba Rossi-Doria*, *Actinomyces bovis albus Gasparini* beschriebenen Mikroorganismen.

5) *Actinomyces maduræ*, der bereits von Vincent beschriebene Erreger des sogenannten Madurafußes.

6) *Actinomyces capræ*, aus der Lunge einer Ziege gewonnen, von Silberschmidt bereits beschrieben.

7) *Actinomyces asteroides*, von Eppinger als *Cladothrix asteroides*, von Rossi-Doria als *Streptothrix Eppingeri*, von Lehmann und Neumann als *Actinomyces asteroides* beschrieben.

8) *Actinomyces Farcin*, ein seiner Zeit aus dem Institut Pasteur in Paris bezogener Mikroorganismus, der Erreger des sogenannten Farcin du boeuf; von Rossi-Doria als *Streptothrix farcinica* = *Actinomyces farcinicus* (Lehmann und Neumann) beschrieben.

9) *Actinomyces Pferd*, aus der Lunge eines Pferdes isoliert, schon längere Zeit im Institut gezüchtet.

10) *Actinomyces Wasser*, ein dem Typus *Pseudodiphtheriebacillus* nahestehender Mikroorganismus, seiner Zeit im Laboratorium des Herrn Prof. Dr. Burri, Zürich, aus dem Züricher Leitungswasser isoliert.

11) *Actinomyces Ei*, ein dem vorigen sehr ähnlicher Mikroorganismus, dessen Zugehörigkeit zu den Strahlenpilzen im engeren Sinne fraglich sein dürfte, wurde von Silberschmidt vor Jahren aus einem anscheinend gesunden, einige Monate lang auf Heu aufbewahrten Hühnerei isoliert. Präparate von im Ei vorhandenen Kolonien wiesen sehr lange, reich verzweigte Fäden auf, während die Kultur von Anfang an makro- wie mikroskopisch sehr an einen diphtherieähnlichen Mikroorganismus erinnerte²⁾.

12 u. 13) *Actinomyces Klinik I und II*, 2 direkt aus Fällen von Aktinomykose beim Menschen gewonnene Stämme, die durch Ueberimpfung des Eiters auf flüssig gemachte und dann wieder zum Erstarren gebrachte Agarröhrchen isoliert wurden. Beide sind sowohl untereinander als auch den von Wolff und Israel, sowie namentlich den von

1) Haass, E., Beitrag zur Kenntnis der Aktinomycceten. [Inaugural-Dissertation.] Zürich 1905.

2) Vergl. Bruini, Ueber die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXVIII. p. 177.)

Silberschmidt und von Wright beschriebenen Erregern menschlicher Aktinomykose sehr ähnlich.

Alle 13 Stämme wurden unter gleichen Bedingungen bei 22°, 28° und 37° auf den gebräuchlichen Nährböden gezüchtet: 10—12-proz. Fleischwasserpeptongelatine, 4-proz. Fleischwasserpeptonglycerinagar mit und ohne Zusatz von 1 Proz. Traubenzucker, Fleischwasserpeptonbouillon mit 1 Proz. Glycerin- bezw. Traubenzuckerzusatz, Milch, erstarrtes Rinderblutserum, Kartoffel mit 5 Proz. Glycerinwasser. Unsere Beobachtungen erstrecken sich über Kulturen vom Alter nur weniger Tage bis zu solchen, die 12—15 Monate lang aufbewahrt worden waren. Alle Stämme wurden auf ihr Entwicklungsvermögen bei aërober wie anaërober Züchtungsweise geprüft.

Auf Grund der kulturellen Merkmale lassen sich unsere Stämme zunächst in zwei Hauptgruppen trennen: 1) in solche, deren Kolonien oder Kolonienkomplexe festen Nährböden (Agar) mittelst Ausläufer fest anhaften, und 2) in solche, welche diese Eigentümlichkeit nicht aufweisen, d. h. deren Kolonien dem Substrat nur lose aufliegen, weil denselben Ausläufer in die Tiefe vollständig fehlen. Zur ersteren Kategorie gehören von unseren Stämmen: *Actinomyces* Stamm, *Actinomyces* Rindszunge, *Actinomyces* Luft I und II, *Actinomyces* *madurae*, *Actinomyces* *caprae*, *Actinomyces* *asteroides*. Zur letzteren: *Actinomyces* *farcinicus*, *Actinomyces* Pferd, *Actinomyces* Wasser, *Actinomyces* Ei, sowie auch die nur anaërob wachsenden *Actinomyces* Klinik I und II.

Erwähnt sei an dieser Stelle noch der weiße, an Schimmel erinnernde Belag, den die Kulturen der ersten 7 Stämme aufweisen, während derselbe an den letzten, bei *Actinomyces* *farcin.* angefangen, niemals beobachtet wurde. Außer den genannten Verschiedenheiten weisen einzelne Stämme in diesen Hauptgruppen noch andere Unterscheidungsmerkmale auf: Während z. B. die Kulturen von *Actinomyces* Stamm, *Actinomyces* Luft I und II etc. anfänglich feuchtglänzend sind und erst später einen mehmartigen Belag zeigen, sind bei anderen, z. B. *Actinomyces* *caprae*, die Kolonien von Anfang an matt, warzenartig und sehr bald weiß überpudert. Bei denjenigen der untersuchten Vertreter, die dem Nährboden nicht fest anhaften, verdient *Actinomyces* *farcin.* eine Sonderstellung; seine Kolonien sind trocken, von ziemlich fester Konsistenz und am ehesten mit denjenigen der Tuberkelbacillen zu vergleichen. Demgegenüber sind die Kolonien der anderen Stämme weich, feucht und entsprechen in ihrem Aussehen den Pseudodiphtheriebacillen. In der zweiten Hauptgruppe nehmen infolge ihres anaëroben Wachstums die beiden Stämme *Actinomyces* Klinik I und II eine besondere Stellung ein; immerhin zeigen deren anaërob gewachsene Oberflächenkulturen auf Agar eine große Aehnlichkeit mit den genannten Pseudodiphtherie-ähnlichen. Außer den erwähnten Eigentümlichkeiten, die eine Einteilung der Stämme nach der Verschiedenheit der Kulturen auf festen Nährböden (Agar, Kartoffel) gestatten, findet man aber auch beim Vergleich der Kulturen auf Gelatine, sowie in Bouillon und Milch, weitere auffallende Verschiedenheiten. Wir erwähnen nur das Peptonisierungsvermögen gegenüber Gelatine und Serum, das den Stämmen *Actinomyces* Stamm, *Actinomyces* Rindszunge, *Actinomyces* Luft I und II eigen ist, während es dem *Actinomyces* *caprae* und *Actinomyces* *asteroides* fehlt.

Der vorgeschlagenen Gruppierung unserer Stämme nach kulturellen

Merkmale entspricht auch die sich aus der mikroskopischen Untersuchung ergebende Einteilung. Diejenigen Stämme, die wir, veranlaßt durch das Festhaften ihrer Kolonien am Nährboden, zur ersten Gruppe rechnen, sind länger und reichlicher verzweigt, die anderen hingegen, deren Aehnlichkeit mit Pseudodiphtheriebacillen wir bereits betonten, gleichen auch mikroskopisch mehr diesen. Sie sind kürzer und weniger verzweigt, häufig in Parallel- und Winkelstellung angeordnet. Alle unsere Stämme sind unbeweglich und nach Gram nicht entfärbbar; der Grad der Entfärbbarkeit nach Gram variiert, wie dies namentlich im direkten Eiterpräparat bei den anaërob wachsenden Stämmen beobachtet werden kann. Wird anstatt Alkohol zur Entfärbung Acetonalkohol angewandt, so fällt häufig auf, daß die Peripherie der Zellen ihre Farbe abgibt, während im Zentrum gewisse Teile noch gefärbt bleiben.

Diese regelmäßige Beobachtung von schwer entfärbbaren Teilen im Innern der Bakterienzelle hat uns dazu geführt, die Frage der Fragmentation und Segmentation an unseren Stämmen genauer zu untersuchen. Mit Kruse und Lachner erachten wir den mit Fragmentation bezeichneten Vorgang an Aktinomyceten als eine Fortpflanzungserscheinung, die mit einer stellenweise eintretenden Kontraktion des Fadeninhaltes ihren Anfang nimmt. Es entstehen einerseits Strecken kontrahierten protoplasmatischen Inhaltes, welche die Farbe (gewöhnliche Anilinfarbstoffe) stärker annehmen und schwerer verlieren; andererseits inhaltsleere Zwischenlücken, die ungefärbt bleiben. Für diese Annahme spricht die Tatsache, daß besagte Differenzierung der Fäden oder Stäbchen erst an älteren, nicht aber an ganz jungen Gebilden auftritt. Ob die innerhalb eines Fadens entstehenden Fragmente eine neue sekundäre Hülle erhalten, konnten wir mit den uns zur Verfügung stehenden Methoden nicht unterscheiden. Was den zweiten in der Literatur erwähnten Vorgang der Segmentation anbetrifft, so sind die Resultate unserer Untersuchung, soweit dieselben bei der Kleinheit der Objekte überhaupt einen Schluß gestatten, folgende: Die Segmentation findet nur bei Luftzutritt statt und ist schon äußerlich an dem weißen, mehrlartigen Belag der Kultur erkennbar. Sie besteht in der Regel in einer Teilung der Enden der Fäden in ziemlich gleich große Abschnitte = Segmente, die mit einer Hülle umgeben sind. Während bei der Fragmentation die zarte Fadenhülle nicht beteiligt ist, haben wir es bei der Segmentation dagegen mit einem Zerfall des Fadens in einzelne Stücke zu tun, welche mit einer entsprechenden Einschnürung der Hülle einhergeht, so daß die einzelnen Segmente von der Hülle vollständig umgeben sind. Beide Gebilde, Fragmente und Segmente, sind im stande, sich in ähnlicher Weise zu entwickeln. Von einer Gleichstellung der Segmentation mit einer der bekannten Fortpflanzungserscheinungen niederer Pilze, so mit Koidienbildung nach Sauvageau und Radais, oder mit Oidienbildung nach Neukirch, möchten wir absehen, weil der Vorgang der Segmentation, soweit wir in sein Wesen mit den Hilfsmitteln der heutigen mikroskopischen Technik eindringen können, genau verglichen, mit keiner der botanischen Definitionen übereinstimmt. Beide Ausdrücke bleiben daher vorläufig als Bezeichnungen für Reproduktionsvorgänge der Aktinomyceten am besten bestehen. Wie bereits erwähnt, findet man Vorgänge, die bestimmt als Segmentation zu deuten sind, nur bei einer beschränkten Anzahl unserer 13 Stämme, während die Fragmentation wohl allen eigentümlich ist.

Zum Zwecke eines Vergleiches zwischen Fragmenten und Segmenten hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit gegen feuchte Hitze stellten wir Abtötungsversuche an. Wir erhitzen die mit dem betreffenden Material gefüllten, zugeschmolzenen Glaspipetten 30 Minuten lang im Wasserbad auf verschiedene Temperaturen. Gestützt auf unsere Resultate, können wir zunächst der in der Literatur häufig vertretenen Ansicht, daß den Segmenten eine wesentlich höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber Einwirkung feuchter Hitze zukomme, als Fragmenten oder vegetativen Fäden, nicht beistimmen. 70° wurden bei den Stämmen, die diese Temperatur überhaupt aushielten, gleich gut von vegetativen Fäden und Fragmenten (Bouillonkulturbodensatz) wie von Segmenten (weißer Belag der Kulturen auf festen Nährböden) ertragen. 75° waren hingegen für alle unsere Kulturen vernichtend. Ein Vergleich der Fragmente mit echten Bakteriensporen ist ausgeschlossen. Ueberhaupt sind die Aktinomycceten gegen feuchte Hitze wenig widerstandsfähige Mikroorganismen. Die kürzeren, mehr diphtherieähnlichen Formen, so *Actinomyces* Pferd, *Actinomyces* Wasser, *Actinomyces* Ei werden schon durch ein halbstündiges Erhitzen auf 65° abgetötet, ebenso *Actinomyces* Klinik I und II, während die langfädigen, reichverzweigten, wie *Actinomyces* Stamm, *Actinomyces* Rindszunge, *Actinomyces* Luft I und II, *Actinomyces* madurae etc. etwas widerstandsfähiger sind. Im Gegensatz zu dieser geringen Widerstandsfähigkeit unserer Aktinomycceten sind dieselben gegen Eintrocknung wenig empfindlich. 12–16 Monate lang aufbewahrte Kulturen waren fast immer noch entwicklungsfähig. In geringerem Maße gilt dies für unsere Stämme *Actinomyces* Klinik I und II, deren Kulturen sich oft schon nach 5–6 Wochen zur Weiterüberimpfung nicht mehr geeignet erwiesen. Direktes Sonnenlicht hatte nach 15–18-stündiger successiver Bestrahlung Abtötung der meisten Kulturen zur Folge.

Actinomyces caprae erwies sich, wie schon in früheren Versuchen, für Meerschweinchen und Mäuse pathogen, während Versuche mit den anaëroben, vom Menschen herrührenden Stämmen an denselben Tieren vollständig negativ ausfielen.

Lachner-Sandoval hat zum erstenmal eine durchgreifende Ordnung in die stark angewachsene Literatur der Strahlenpilze und in die immer größer gewordene Verwirrung hinsichtlich ihrer Umgestaltung und Stellung hineingebracht. Die von ihm durchgeführte scharfe Abtrennung aller jener Formen, die trotz falscher Verzweigung (*Cladothrix*) dazu gerechnet worden waren, halten wir daher für die allein richtige. Wir wollen an Hand der Resultate, die unsere Untersuchungen lieferten, eine Einteilung der ganzen Gruppe versuchen sowie ihre systematische Stellung erörtern. Die Arbeiten der letzten Jahre haben die nahe Verwandtschaft der Strahlenpilze mit den Erregern der Tuberkulose und Diphtherie deutlich bewiesen. Die zahlreich bekannten Uebergangsformen lassen nur schwer eine scharfe Grenze zwischen den drei genannten Gruppen ziehen. Lehmann und Neumann haben, indem sie unter dem Begriff *Actinomyces* Diphtheriebacillen = *Corynebakterien* (L. u. N.), Tuberkelbacillen = *Mykobakterien* (L. u. N.) und Strahlenpilze im engeren Sinne = *Aktinomyccetes* (Harz) vereinigten, diesen Verhältnissen Rechnung getragen. Von unseren 13 Stämmen lassen sich die meisten in diese 3 miteinander verwandten Gruppen einreihen. So gehören offenbar die

Stämme der ersten Kategorie in die Gruppe *Actinomyces* Harz, während die der zweiten Kategorie in die Gruppe *Corynebacterium* (L. u. N.) unterzubringen sind. Etwas anders verhalten sich unsere Stämme *Actinomyces farcin.* und *Actinomyces Klinik I* und *II*. Für ersteren Stamm schlagen wir vor, wegen der Aehnlichkeit seiner Kulturen mit Tuberkelbacillen, denselben in die Gruppe der Mykobakterien einzureihen. Für die zuletzt genannten beiden anaëroben Stämme *Actinomyces Klinik I* und *II* stellen wir hingegen eine vierte Gruppe der *Actinomyetes* L. u. N. auf, in die wir außer unseren beiden Stämmen noch die wahrscheinlich identisch von Wolff und Israel, Silberschmidt, Wright u. A. beschriebenen Erreger menschlicher Aktinomykose bringen. In Anbetracht der verwandtschaftlichen Beziehungen der Stämme *Actinomyces Klinik I* und *II* mit Diphtheriebacillen, bezw. mit Bakterien einerseits und mit dem bekannten *Actinomyces* (Harz) andererseits nennen wir diese vierte Gruppe *Actinobacterium* (Haass) und stellen dieselbe in der von Lehmann und Neumann gebrachten Aufzählung zwischen *Corynebacterium* und *Mycobacterium*, mit der Begründung, daß ihre Beziehungen zu den Diphtheriebacillen = *Corynebacterien* L. u. N. nähere sind, als zu den eigentlichen Strahlenpilzen = *Actinomyces* (Harz). Wright betrachtet als den alleinigen Erreger der Aktinomykose beim Menschen den anaëroben Mikroorganismus und bezeichnet diesen infolgedessen als *Actinomyces* (Wright), während er für die Vertreter der Gruppe *Actinomyces* (Harz) den Namen *Nocardia* (Blanchard) vorschlägt. Hier sei noch erwähnt, daß Lignières und Spitz eine der Aktinomykose ähnliche Erkrankung beim Rinde unter dem Namen *Actinobacillose* beschrieben haben und einen Mikroorganismus, *Actinobacillus* genannt, isolierten, welcher morphologisch den Bakterien im engeren Sinne entspricht. Die genannten Autoren heben in ihrer Arbeit hervor, daß die Eigenschaft, Keulen und Drusen im lebenden Organismus zu bilden, ganz verschiedenartigen Mikroorganismen zukommt und daher für die Einteilung nicht ausschlaggebend sein kann. Wir glauben, daß hiernach, sowie nach den weiter oben von uns angegebenen Gründen die von uns vorgeschlagene Bezeichnung *Actinobacterium* richtiger sei.

Zum Schluß sei noch die systematische Stellung der um die Gruppe *Actinobacterium* (Haass) erweiterten *Actinomyetes* L. und N. erörtert. Kruse, Levy, Lachner, Neukirch identifizieren Fortpflanzungsvorgänge der Aktinomyeten bezw. die Segmentation mit solchen niederer Pilzformen und fassen daher die Strahlenpilze als eine Gruppe oder Familie der *Hyphomycetes* auf. Lehmann und Neumann neigen derselben Ansicht zu¹⁾. Bereits weiter oben haben wir unsere gegenteilige Ansicht über völlige Gleichstellung der Segmentation mit irgend einem der von botanischer Seite beschriebenen Vorgänge an niederen Pilzen ausgesprochen. Zu den sich daraus ergebenden Bedenken, die Strahlenpilze und weiter sogar die ganze Gruppe der *Aktinomyetes* Lehmann und Neumann als Familie der *Hyphomyceten* anzusehen, kommt aber noch hinzu die sowohl kulturell als mikroskopisch viel größere Aehnlichkeit der *Corynebakterien* L. und N., *Actinobakterien* (Haass) und *Mykobakterien* L. und N. mit echten Bakterien als mit *Hyphomyceten*.

1) Siehe Lehmann und Neumann, p. 132.

Es berühren sich offenbar in der großen Gruppe der Actinomycetes L. und N. Mikroorganismen mit Eigenschaften niederer Pilze, und solchen Bakterien, ohne daß ihre nahe Verwandtschaft eine Auflösung in zwei echter Familien zuließe. Wir erachten es deshalb für zweckmäßig und unseren heutigen Kenntnissen entsprechend, die Actinomycetes L. und N. zwischen die Spaltpilze und Hyphomyceten zu stellen, als eine Familie, die den Uebergang von diesen zu jenen vermittelt; zur Zeit lassen sich in derselben die 4 Gattungen *Corynebacterium* L. und N., *Actinobacterium* Haass, *Mycobacterium* L. und N. und *Actinomyces* Harz aufstellen.

Literatur.

- Bostroem, Untersuchungen über die Aktinomykose des Menschen. (Zieglers Beiträge. Bd. IX. 1890.)
- Bruini, Ueber die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVIII.)
- Gasparini, Morphologische und biologische Untersuchungen über die Gattung *Actinomyces* Harz. (Annali dell'Istituto d'Igiene della Università di Roma. Vol. II. 1892.)
- Harz, *Actinomyces bovis*, ein neuer Schimmel in den Geweben des Rindes. (Jahresber. d. Tierarzneisch. München. 1877—1878.)
- Israel, Klinische Beiträge zur Kenntnis der Aktinomykose. Berlin 1885.
- Kruse, Systematik der Streptothricheen. (Flügg'es Mikroorganismen. Leipzig 1896.)
- Lachner-Sandoval, Ueber Strahlenpilze. [Dissert.] Straßburg 1898.
- Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 3. Aufl. München 1904.
- Levy, Die Wachstums- und Dauerformen der Strahlenpilze (*Actinomyceten*) und ihre Beziehungen zu den Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII.)
- Ueber die *Actinomyces*-Gruppe und die ihr verwandten Bakterien. (Ibid. Bd. XXVI.)
- Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. I.)
- Lignières und Spitz, *Actinobacillose*. (Revista della Sociedad medica Argentina. Buenos-Ayres 1902.)
- Neukirch, Ueber Aktinomykose. [Dissert.] Straßburg 1902.
- Zur *Actinomyces*-Frage. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVIII.)
- Rossi Doria, Sui alcune specie de streptothrix. (Annali dell'Istituto d'Igiene. Roma 1891.)
- Sauvageau et Radais, Sur les genres *Cladothrix*, *Streptothrix* et *Actinomyces*. (Annales de l'Institut Pasteur. Paris 1892.)
- Silberschmidt, Sur un nouveau streptothrix pathogène (*Str. caprae*). (Ibid. Paris 1899.)
- Zur bakteriologischen Diagnose der Aktinomykose. (Deutsche mediz. Wochenschr. 1901. No. 47.)
- Ueber Aktinomykose. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXVII.)
- Vincent, *Streptothrix madurae*. (Annales de l'Institut Pasteur. Paris 1894.)
- Wolff und Israel, Ueber Reinkultur des *Actinomyces* und seine Uebertragbarkeit auf Tiere. (Virchow Arch. Bd. CXXVI. 1891.)
- Wright, The biology of the microorganism of actinomycosis. (Publications of the Massachusetts General Hospital. Boston 1905.)

Nachdruck verboten.

Die saccharifizierende Wirkung des *Bac. tuberculosis*.

Von Prof. **Claudio Fermi**.

Unter den zahlreichen, in Bezug auf die Saccharifikation der Stärke von mir studierten Mikroorganismen befindet sich in keiner Weise der *Bac. tuberculosis*.

Die Ursache hiervon ist einerseits in der Tatsache zu suchen, daß die Mikroorganismen, wie ich bereits bewiesen habe, ihr diastatisches Enzym fast ausschließlich auf Stärke enthaltenden Substraten (Kartoffeln, Reis etc.) und fast nie in Fleischbrühe, Agar und Serum ausscheiden, und andererseits in jener Tatsache, daß man erst seit nicht langer Zeit in der holländischen Kartoffel ein ausgezeichnetes Kultursubstrat für den Kochschen Bacillus gefunden hat, welches somit zum Studium der diastatischen Enzyme dieses Mikroorganismus geeignet ist.

In früheren Arbeiten habe ich schon bewiesen, wie alle die von mir untersuchten Streptothrixarten eine starke saccharifizierende Wirkung besitzen. Das Aufsuchen dieser Eigenschaft im Kochschen Bacillus schien mir daher nicht ohne Interesse, denn im positiven Falle würden wir mit einer neuen biologischen Eigenschaft gleichzeitig ein anderes Merkmal gefunden haben, welches den Kochschen Bacillus dem oben genannten Streptothrix näherbringt.

Versuch: Man bereitete einen glycerinierten Brei von holländischen Kartoffeln zu 50 Proz. und, nachdem die vollständige Abwesenheit der die Fehlingsche Flüssigkeit reduzierenden Substanzen in

Kultur der Kochschen Bacillen auf Kartoffeln	Entwicklung	Reinheit der Kultur	Fehlingsche Probe
No. 1	üppig	rein	+
" 2	mittelmäßig	"	+
" 3	üppig	"	+
" 4	"	"	+
" 5	"	"	+
" 6	"	"	+
" 7	"	"	+
" 8	mittelmäßig	"	+
" 9	"	"	+
" 10	üppig	"	+
" 11	"	"	+
" 12	"	"	+
" 13	"	"	+
" 14	mittelmäßig	"	+
" 15	"	"	+
" 16	"	"	+
" 17	üppig	"	+
" 18	"	"	+
" 19	"	"	+
" 20	"	"	+
Kontrolle:			
No. 1	Steril		0
" 2	"		0
" 3	"		0
" 4	"		0
" 5	"		0

demselben nachgewiesen war, verteilte man ihn in Röhrchen zu je 5 ccm, welche, sterilisiert, mit reinen Kulturen des *Bac. tuberculosis* geimpft wurden. Der Brei wurde, gut geschüttelt, luftdicht verschlossen; die Kulturen, mit kleinen Gummikapuzchen bedeckt, um das Verdunsten des Wassers zu vermeiden, wurden mit den Kontrollproben in einen Thermostaten zu 37° C gebracht. Die Kontrollproben bestanden aus demselben sterilen Brei. Außerdem achtete man darauf, die Kulturen in eine fast horizontale Lage zu bringen, um dem Brei die möglichst größte Oberfläche zu verleihen.

Nachdem ich mich nach 4 Monaten von der vollständigen Reinheit der Kulturen überzeugt hatte, untersuchte ich dieselben wie auch die Kontrollproben mit der Fehlingschen Flüssigkeit.

Die Resultate finden sich in vorstehender Tabelle.

Schlußfolgerung: Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß, während in den Kontrollproben keine Spur von Reduktion vorhanden war, das Resultat in allen Kulturen des *Bac. tuberculosis* ohne Ausnahme ein vollständig positives war, wie die überaus klare und vollständige Fehlingsche Reduktion zeigte.

Es genügt mir für jetzt, diese andere Eigenschaft des Kochschen *Bacillus* beleuchtet zu haben, um so mehr, da sie vielleicht dazu dient, ihn den *Streptothrix*-Arten immer näher zu bringen.

Nachdruck verboten.

Ueber sekundäre Bakterienkolonien.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institute in Krakau (Vorstand Prof. O. Bujwid).]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institut.

Mit 3 Tafeln.

Der Bau der Bakterienkolonien, ihre Entstehungsweise, ihre Biologie und Morphologie, die als sichtbarer Ausdruck der vorigen gelten darf, haben bisher die Aufmerksamkeit der Bakteriologen ziemlich wenig beschäftigt, obzwar es keinem Zweifel unterliegen kann, daß auch, abgesehen von der praktischen Nutzenanwendung dieser Kenntnisse für die Differentialdiagnostik der Bakterien — bisher wurden ja diese Probleme ausschließlich von diesem Gesichtspunkt aus behandelt — ihre Erkenntnis für die Biologie und Charakteristik der Bakterien nicht ohne Bedeutung sein kann. Unter den wenigen Arbeiten, die eben auf diese Weise sich mit der Sache befaßt haben, seien hier nur diejenigen von Serkowski, Ficker, Rosenthal, Axelrad, Muto, Preisz, sowie die höchst originellen Untersuchungen von Saul genannt. Die Beobachtungen, die ich hier vorbringen will und die im Wintersemester 1903/04 ausgeführt wurden, bilden einen Beitrag zur Biologie der Bakterienkolonien und, wenn sie auch unvollständig sind, werden sie vielleicht andere veranlassen, sich mit dieser Frage eingehender zu beschäftigen.

Im Verlaufe von Untersuchungen über die Hämolyseproduktion der Typhus-, Paratyphus-, Coli- und Dysenterie-Gruppe (Krakauer Ges. d. Aerzte. 1904. Przegląd lek. 1904. No. 20. p. 306) habe ich bemerkt, daß auf Eijkman-Platten mit 2,5 Proz. Zusatz von verschiedenen

Säugetierblutarten außer der Aufhellungszone der gelösten Blutkörperchen innerhalb des Bakterienbelags zumeist nach 48-stündigem Wachstum eine Granulation auftrat, deren morphologischer Charakter sowie Verhalten weiter unten beschrieben werden soll. Meine ursprüngliche Annahme, daß ich vielleicht irgend ein Umwandlungsprodukt des Hämoglobins vor mir habe, hat sich als unbegründet herausgestellt, weil dieselbe Granulation auftrat, wenn dem Agar nicht Vollblut, sondern Blutserum beigemischt wurde, und zwar möglichst Hbfreies Serum, das 8 Stunden nach dem Aderlaß vom frei abgeschiedenen (nicht von der Gefäßwand abgelöst) Coagulum abgehoben wurde. Dafür sprach sodann auch das Auftreten der Granulation auf Agar, dem menschliche Ascitesflüssigkeit beigemischt worden war. Diese Beobachtungen dienten als Ausgangspunkt für eine Reihe von Experimenten, die folgende Fragen beantworten sollten: 1) unter welchen Bedingungen tritt die Granulation auf, 2) was ist ihr Wesen, 3) welche Bakterienarten zeigen die Granulation?

Meine Beobachtungen beziehen sich vorzugsweise auf Strichkulturen, die mittelst Platinspatels auf die Oberfläche erstarrten Agars geimpft wurden. Es ist dabei erwünscht, daß die Agaroberfläche nicht allzu feucht sei, da in diesem Falle die Kultur sich über die ganze Fläche ausbreitet und keinen gut begrenzten Impfstrich gibt, wie er für unsere Zwecke notwendig erscheint. Am besten wird dies erreicht, indem man die frisch gegossenen Platten mit offenem Deckel in einen Thermostaten von 50—55° C für kurze Zeit hineinstellt, ebenso, wie das für Drigalski-Conradi-Platten gebräuchlich ist. Während der Bebrütung der Kultur dagegen, wobei die Einhaltung optimaler Lebens- und Vermehrungsbedingungen angezeigt ist, müssen die Platten sorgfältig vor Verdunstung geschützt werden. Auf solchen Platten sieht man nach 20—72-stündiger Entwicklung inmitten des durchsichtigen Bakterienbelags unweit vom Rande eine Granulation auftreten, und zwar anfangs (bei 50—60-facher Vergrößerung) in Form isolierter feiner Körnchen und Stäubchen, die mit der Zeit immer größer und dichter werden. Nach einiger Zeit bilden die dicht gedrängten Granula eine kontinuierliche Lage, die in einer gewissen Entfernung vom Rand der Kultur von einer diesem Rand parallelen Linie begrenzt erscheint, nur selten an den Rand selber herantritt. Die anfangs feinförmige Granulation besteht in diesem Stadium aus kugeligen oder ovoiden dunklen Körpern von verschiedenen Dimensionen; auf der Höhe ihrer Entwicklung (nach einigen Tagen) finden wir darunter kugelige, ovoide oder wetzsteinförmige bräunliche Gebilde von scheinbar 0,5—1 cm Durchmesser (bei 50—60-facher Vergrößerung). In dem Maße, wie die Entwicklung der Kultur fortschreitet und ihr Rand sich vorschiebt, werden jenseits der früheren Begrenzungslinie der Granulation neue Granula sichtbar und mit der Zeit bildet sich eine zweite Lage mit einer zur ersten parallelen Begrenzung, zuweilen sogar noch eine dritte. Sowohl die Größe der Granula, als ihre Dichtigkeit, sowie ihre Entfernung vom Rande variieren nicht nur in Kulturen verschiedener Bakterienarten, sondern auch in diversen Kulturen derselben Art, infolge verschiedener bekannter und unkontrollierbarer Bedingungen, zuweilen sogar an verschiedenen Stellen derselben Kultur. Wenn die Granulation deutlich ausgeprägt ist, kann man sie bei genauer Besichtigung der Kultur auch mit unbewaffnetem Auge bemerken: Der am Rande glasig durchscheinende Bakterienbelag wird in einer gewissen Entfernung vom Rande 0,5—2 mm matt und getrübt, wie mit feinstem Sand bestäubt.

Wie schon oben bemerkt wurde, habe ich die Granulation zum erstenmal auf Platten bemerkt, denen 2,5 Proz. Kaninchen-, Meer-schweinchen- oder Hundeblut beigemischt waren. Weitere Experimente mit Zusatz von Menschen-, Pferde-, Kaninchen-, Meerschweinchen- und Hundeserum haben mich überzeugt, daß nicht der Hb-Zusatz, sondern das Serumeiweiß für das Auftreten der Erscheinung maßgebend ist. Am geeignetsten erwies sich hierzu ein Zusatz von 2,5—5 Proz. Serum, aber schon 0,75 Proz. waren genügend. Es drängte sich nun naturgemäß die Frage auf, ob auch Zusatz von anderen Eiweißarten die Erscheinung ermöglichen würde. Tatsächlich hat sich frisches Hühnereiweiß sehr gut bewährt, indem schon bei 0,5 Proz. die Granulation auftritt, bei 5 Proz. aber eine sehr reichliche und großkörnige zu erzielen ist. Mit gutem Erfolg kann auch Milch verwendet werden, speziell bei Bakterienarten, die die Milch tryptisch verdauen, z. B. denjenigen aus der Gruppe der fluorisierenden, indem die Aufhellung des trüben Nährbodens die Beobachtung morphologischer Details der Kultur ermöglicht. Aber nicht nur natives Eiweiß, sondern auch denaturiertes in Form von Somatose (2,5 Proz.) oder Nährstoff Heyden (Hesse-Agar) ist für unsere Zwecke ganz gut geeignet. Endlich habe ich mir die Frage gestellt, ob denn die Anwesenheit von Eiweiß überhaupt für das Auftreten der Granulation unerlässlich ist, oder ob etwa auch gewisse Abbauprodukte es dabei vertreten können, und zu diesem Zwecke versetzte ich Agar mit menschlichem eiweißfreiem Harn — die Granulation kam zum Vorschein, wenn auch nicht so reichlich, wie auf Eiweißsubstraten. Es wäre wohl sehr interessant, zu eruieren, welche Abbauprodukte des Eiweißes es sind, die dabei in Betracht kommen; aus Mangel an Zeit konnte ich die Frage nicht weiter verfolgen. Da die bisherigen Beobachtungen dafür sprachen, daß zum Auftreten der Erscheinung besonders günstige Ernährungsbedingungen gehören, mußte noch festgestellt werden, ob der gewöhnliche Agar, in hoher Schicht aufgegossen (um der Erschöpfung des Nährbodens zu steuern) und sorgfältig vor Verdunstung geschützt, nicht im stande wäre, diese Bedingungen zu erfüllen. Es zeigte sich, daß der größte Teil der weiter unten aufgezählten Bakterienarten auf solchem Agar keine Spur von Granulation zeigt, nur manche Stämme aus der Gruppe der fluoreszierenden Bakterien (vor allem das *B. pyocyaneum* γ) gaben eine spärliche Körnung. Auch Zusatz von Traubenzucker oder Glycerin änderte nichts an diesem Verhalten. Nur einmal sah ich an einigen einige Wochen alten Kulturen von *B. typhi* und *B. dysenteriae* auf schiefem Agar eine deutliche kompakte Granulation unmittelbar über dem Niveau des Kondenswassers, also dort, wo die Wachstums- und Vermehrungsbedingungen am günstigsten sind und der Einfluß der Austrocknung (die Kulturen waren vor Verdunstung nicht geschützt) sich am wenigsten fühlbar macht. In jüngeren Kulturen habe ich unter vielen Hunderten von Röhrchen niemals etwas Ähnliches beobachtet. Sodann habe ich einige Mal auf älteren Schiefagarkulturen des *Heubacillus* neben oberflächlichen Sekundärkolonien (davon weiter unten) eine reichliche, mit bloßem Auge gut sichtbare Granulation bemerkt, die 2 mm unter der Oberfläche im Innern des Nährbodens verstreut lag. Endlich sei noch erwähnt, daß ich einmal auf Agarplatten, die mit dem Stuhl eines Ruhrkranken geimpft waren, an vielen *Coli*-Kolonien Sekundärkolonien auftreten sah; die Ursache dieses besonderen Verhaltens, das ich nicht wieder beobachtet habe, kann ich nicht angeben.

Es ist nun an der Zeit, sich über die Natur der Erscheinung

Rechenschaft zu geben. Ich habe oben erwähnt, daß die Experimente mit Serum und Eiereiweiß die Annahme, daß die Granulation ein Umwandlungsprodukt des Blutfarbstoffs ist, widerlegt haben. Den ersten Hinweis auf das wirkliche Wesen der Granulation gab ihre Lokalisation; bei einer aufmerksamen Einstellung des Mikroskops auf verschiedene Niveaus konnte man feststellen, daß die Granulation nicht im Kulturbedag sich befindet, sondern unterhalb desselben im Innern des Nährbodens. Man kann sich auch davon überzeugen, wenn man einen dünnen vertikal auf die Oberfläche geführten Ausschnitt des Agars mit der Kultur durch ein Vergrößerungsglas betrachtet. Auch die Art des Auftretens und das Wachstum der einzelnen Körner, sowie vor allem das typische runde oder wetzsteinförmige Aussehen der größeren Kugeln spricht unzweideutig dafür, daß die Granulation nicht etwa ein Umwandlungsprodukt des Eiweißes oder überhaupt eines Nährstoffs im Substrat ist, sondern lediglich aus sekundären Bakterienkolonien besteht, die in der Tiefe des Nährbodens wachsen. Man wird also annehmen müssen, daß unter optimalen Lebens- und Vermehrungsbedingungen eine gewisse Anzahl von Bakterienindividuen in die Tiefe des Nährbodens gelangt und dort sich zu sekundären Tiefenkolonien entwickelt. Ein Teil davon vergrößert sich regelrecht weiter, ein anderer wird durch die vitale Konkurrenz der umgebenden Kolonien, speziell dort, wo sie dicht gedrängt stehen, im Wachstum gehemmt und verbleibt auf der Stufe der kleinen Granula. Das Hineingelangen in die Tiefe dürfte wohl im Falle von beweglichen Bakterienarten keinen ernsteren Hindernissen begegnen -- diese Erscheinung kann oft beobachtet werden, speziell z. B. bei Anaëroben in hochgeschichtetem Agar, wenn die Kultur bei niedriger Temperatur gehalten wird (Koniński) — doch wird es auch für unbewegliche Bakterien durch Diffusionsströme im Nährboden ermöglicht, die einzelne Individuen eine Strecke weit forttragen können. Die sich entwickelnde Kultur schreitet unter optimalen Bedingungen nach zwei Richtungen vorwärts, und zwar auf der Oberfläche und nach der Tiefe. Da nun die Entwicklung nach dieser letzten Richtung durch den Widerstand des Nährbodens jedenfalls gehemmt wird, so wird, wenn wir in einem gegebenen Augenblick den Rand der Kultur als Ausgangspunkt nehmen, die Kultur nach einer gewissen Zeit viel weiter auf der Oberfläche vorwärts geschritten sein, als nach der Tiefe zu. Es wird also höchst wahrscheinlich der von Granulation freie Rand der Kultur als Ausdruck der Schwierigkeit zu betrachten sein, die die Kultur überwinden muß, um in die Tiefe zu gelangen, der Abstand der Granulation vom Rande der Kultur als Maß der Schnelligkeitsdifferenz des Wachstums in beiden Richtungen. Der Mangel an Beweglichkeit bei manchen Bakterienarten erschwert das Entstehen von Sekundärkolonien, wenn er es auch nicht ganz zu hindern vermag; als Beweis dafür mag das verspätete und kärglichere Auftreten der Granulation bei diesen Arten angeführt werden. Bezüglich der Ernährungsbedingungen, an die es gebunden ist, bin ich vorderhand nicht in der Lage, zu entscheiden, ob es sich hier um eine ganz spezifische Funktion des Eiweißes, resp. seiner Abbauprodukte handelt, oder aber, was mir wahrscheinlicher erscheint, nur um günstige Ernährungs- und Vermehrungsbedingungen ganz im allgemeinen. In der ganzen mir bekannt gewordenen Literatur fand ich nur einen Passus bei Serkowski, der vielleicht auf die oben beschriebenen sekundären Tiefenkolonien zu beziehen wäre. Er lautet: „Zuweilen suchen junge Tochterkolonien, die die gemeinsame Hüllmembran der Mutterkolonie

zu zerreißen und nach außen zu gelangen nicht im stande sind, den bequemsten Platz für ihre Entwicklung im Innern der Mutterkolonie selbst und entwickeln sich dort zu Kolonien, die mit der mütterlichen ganz identisch sind. Diese Erscheinung wurde von vielen Forschern beobachtet, doch haben dieselben sie als „tiefer gelegene Kolonien“ gedeutet; in ähnlicher Weise wurde übrigens die Anwesenheit des Vermehrungskernes aufgefaßt.“ Dieser Auffassungsweise, wenn es sich überhaupt um die von mir beschriebenen Gebilde handelt, muß ich nun unbedingt die meinige entgegenhalten, daß diese Kolonien nicht im Bakterienbelag selbst, sondern unterhalb desselben in der Tiefe des Nährbodens sich befinden. Man kann sich übrigens am besten davon überzeugen, wenn man behutsam mit einem Platinspatel den ganzen Belag abhebt; man sieht die intakte Granulation im Innern des Nährbodens, wohl erhalten bis auf das kleinste Granulum. Ob Fig. 6 der IV. Taf. in der Arbeit von Serkowski sekundäre Tiefenkolonien darstellt, kann ich vorläufig nicht entscheiden.

Sodann hat Preisz in einer sehr interessanten Arbeit sekundäre Oberflächenkolonien beschrieben, die in Form von erhabenen Knötchen auf der Oberfläche von Schiefagarkulturen des Anthraxbacillus aus Sporen herauswachsen. Ähnliche Gebilde fand er in Diphtherie-, Cholera- und v. Finkler-Prior-Kulturen. Ich selbst kann die Beobachtungen von Preisz voll bestätigen; außerdem habe ich dieselbe Erscheinung in Kulturen der Typhus-, Coli-, Dysenterie-Gruppe, sowie der Gruppe der fluoreszierenden Bakterien beobachtet. Speziell bei letzteren treten die Sekundärkolonien sehr häufig auf und können, wie Preisz richtig bemerkt, bei jemandem, der mit dem Anblick solcher wie mit Sandkörnern bestäubter Kulturen nicht vertraut ist, Zweifel bezüglich ihrer Reinheit erwecken. Das Erscheinen dieser oberflächlichen Sekundärkolonien scheint jedoch biologisch von jenem der tiefen verschieden zu sein — sie treten spät auf, meistens erst nach mehrwöchentlicher Kultur, wenn die überwiegende Mehrzahl der Bakterienindividuen bereits abgestorben ist, und verdanken ihre Entstehung wahrscheinlich, wie Preisz wohl mit Recht annimmt, der Vermehrung einzelner mit einer Ausnahmsresistenz- und -Lebensfähigkeit begabter Keime. Dementgegen entstehen, wie wir oben gesehen haben, die sekundären Tiefenkolonien auf der Höhe der Entwicklung und in großer Anzahl.

Endlich erübrigt es noch, festzustellen, welche Bakterienarten befähigt sind, sekundäre Tiefenkolonien zu bilden. Ich habe in dieser Richtung vorwiegend solche Arten untersucht, deren Agarkulturen durchscheinend sind, denn nur bei solchen läßt sich unter dem Mikroskop die eventuelle Anwesenheit sekundärer Kolonien gut feststellen. Bei manchen Arten, die ganz opak wachsen, kann man dazu gelangen, indem man, wie oben erwähnt, den Belag ganz abhebt, worauf dann in der Tiefe die Granulation zum Vorschein kommt. Man könnte auch eventuell in diesem Falle ihre Anwesenheit an Schnitten feststellen, die senkrecht auf die Oberfläche des Agars geführt werden. Bei der Aufzählung der Stämme gebe ich meistens auch ihre Provenienz an:

B. typhi (Stämme: Z aus dem Institutsmuseum, Král Kr. 4 aus dem Blute eines Typhuskranken, Teschen aus der Milz eines Verstorbenen in der Teschener Epidemie).

B. paratyphi A. (Stamm Barg Schottmüllers von Král).

B. paratyphi B. (St. Seemann Schottmüllers von Král, Stämme: Müller, Janda, Kazda, von Dr. L. Zupnik in Prag).

B. enteritidis (St. Bruges, Morseele, Aertrycke, Meirelbeek von Prof. van Ermenghem in Gent; Wesenberg, Grünthal, Haustedt, Rumfleth, Abel, Gärtner, Günther, Breslaviensis von Král).

B. morbificans bovis Basenau von Král.

B. dysenteriae (St. Kruse, Flexner, von Král, Shiga von Dr. K. Shiga; Krakau, Zloczow von Prof. J. Raczyński; Erler, Nepustil von St. A. Dr. Sulda in Krakau).

B. coli (St. Kaninchen, Meerschweinchen, Gertler aus dem Museum).

B. pyocyaneum (St. α , β , γ , Jordan, pericarditidis von Král, Z aus dem Museum).

B. fluorescens (St. Král, Z aus dem Museum, I, Wasser dto).

B. putidum Z aus dem Museum.

B. fluorescens Czaputa dto.

Fluorescens capsulatus Pottien von Král.

B. cyanogenes von Král.

B. subtilis (St. Z aus dem Museum, PS II von Doc. Dr. Silberschmidt in Zürich).

V. cholerae (St. Z aus dem Museum, E. aus der Epidemie in Elizawetpol 1904 von Dr. Diatroptow in Odessa).

V. albensis aus dem Museum.

V. Rumpell dto.

B. pneumoniae Friedländer dto.

B. mallei (St. Z. u. Poniński dto).

V. Metchnikowi (dto).

B. indicum (dto).

B. kieliense (dto).

B. prodigiosum (dto).

B. megatherium (dto).

B. ramosus liquefaciens (dto).

B. mycoides (dto).

B. sporiferus (dto).

B. septicaemiae haemorrhagicae (dto).

B. typhi murium (dto).

Sarcina aurantiaca (dto).

Sarcina pulmonum (dto).

Außer den aufgezählten boten noch zahlreiche aus der Luft stammende Arten, die vorherhand nicht genauer bestimmt wurden, die Erscheinung der Granulation. Wie schon oben bemerkt, ist das Aussehen der Granulation recht verschiedenartig; manche Arten zeigen konstant eine feine Granulation, die nie zu großen Kolonien heranwächst, so z. B. manche Stämme aus der Gruppe der floreszierenden Bakterien und Diphtheriebacillen. Ein besonderes Aussehen bildet die Granulation bei Rotz; sie ist feinkörnig oder bröcklig, undurchsichtig schwarz und wächst nicht zu großen Kugeln aus. Endlich sei noch beiläufig bemerkt, daß auf Agarplatten und Hühnereiereiweiß bei makroskopischer Betrachtung um die Kultur von proteolytischen Arten herum in der etwas opaken Platte eine Aufhellungszone auftritt, die sich mit der Zeit vergrößert (beobachtet bei *V. cholerae*, *B. pyocyaneum* Z, *B. prodigiosum*, *B. indicum*, *B. ramosus liquefaciens*). Ein Blick auf obige Aufzählung, wo allerlei differente Arten nebeneinander zu finden sind, überzeugt uns, daß von einer diagnostischen Verwertung der sekundären Tiefenkolonien keine Rede sein kann.

Herrn Prof. O. Bujwid, dessen geübter Hand die beigefügten sehr plastischen Photogramme entstammen, bin ich für seine Mühe zu großem Danke verpflichtet.

Literatur.

- Axelrad, C., Ueber Morphologie der Kolonien pathogener Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. p. 477—498.)
 Ficker, M., Ueber Wachstumsgeschwindigkeit des Bacterium coli comm. auf Platten. [Diss.] Leipzig 1895. (Ref. Baumgartens Jahrb. Bd. XII. p. 338.)
 Muto, T., Ein eigentümlicher Bacillus, welcher sich schneckenartig bewegende Kolonien bildet. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 321.)
 Koninski, K., Ein Beitrag zur Biologie der Anaeroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. p. 569—570.)
 Preisz, H., Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 282—285.)
 Rosenthal, W., Beobachtungen über die Variabilität der Bakterienverbände und der Kolonienformen unter verschiedenen physikalischen Bedingungen. (D. Arch. f. klin. Med. Bd. LV. p. 513—530.)
 Saul, E., Beiträge zur Morphologie des Staphylococcus albus. (Arch. f. Hyg. 1900. p. 575—576.)
 Serkowski, S., O budowie Kolonii bakteryjnych. (Pam. Tow. lek. Warsz. 1893. S.-A. p. 11.)

Erklärung der Photogramme.

Vergrößerung 60fach.

- Fig. 1. *B. diphtheriae*: junge Kolonien mit feiner Granulation.
 Fig. 2. *B. typhi* abd. Kolonie mit Sekundärkolonien verschiedener Größe.
 Fig. 3. *B. aus der Luft* Sekundäre Riesenkolonien.
 Fig. 4. *B. enteritidis* Granulation verschiedenen Alters in Zonen angeordnet.
 Fig. 5. *B. paratyphi B.* Im linken Teil ist der oberflächliche Belag mit dem Spatel abgehoben, ohne daß Aussehen oder Anordnung der tiefer gelegenen Sekundärkolonien gelitten hätten.
 Fig. 6. *B. mallei* Eiereiweiß-Agarkultur, 7 Tage alt, mit feiner, dichter, bröcklicher Granulation.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungen über den Morbillus.

[Aus dem Laboratorium für Parasitologie der kgl. Universität zu Turin, geleitet von Prof. Dr. E. Perroncito.]

Von Dr. med. **Agostino Borini**, Vqlontärassistenten.

Mit 2 Tafeln.

Die zwar nicht sehr zahlreichen zur genauen Feststellung des spezifischen Morbillusagens ausgeführten Untersuchungen haben vornehmlich in letzter Zeit eine große Bedeutung gewonnen.

Das Problem ist noch unentschieden, und ich erhebe mit dieser vorläufigen Mitteilung gewiß nicht den Anspruch, dasselbe zu lösen; es scheint mir jedoch nicht ohne Interesse, zu veröffentlichen, was ich in einer Morbillusepidemie feststellen konnte, indem ich mich dabei auf die von den verschiedenen Forschern erhaltenen Resultate stützte.

Ohne ausführlich die gesamte Literatur über die Morbillusätiologie anzugeben, glaube ich doch hier die meiner Meinung nach wichtigsten Untersuchungen erwähnen zu sollen, welche zu der von mir befolgten Methode bei den vorliegenden Forschungen in Beziehung stehen.

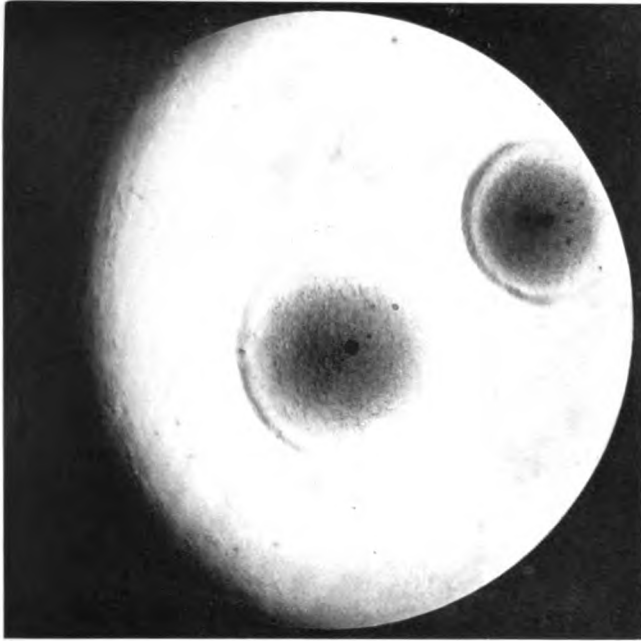


Fig. 1.

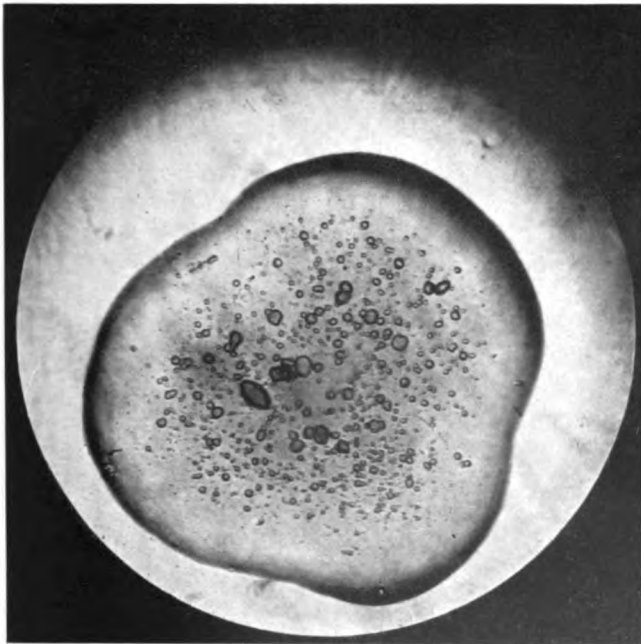


Fig. 2.

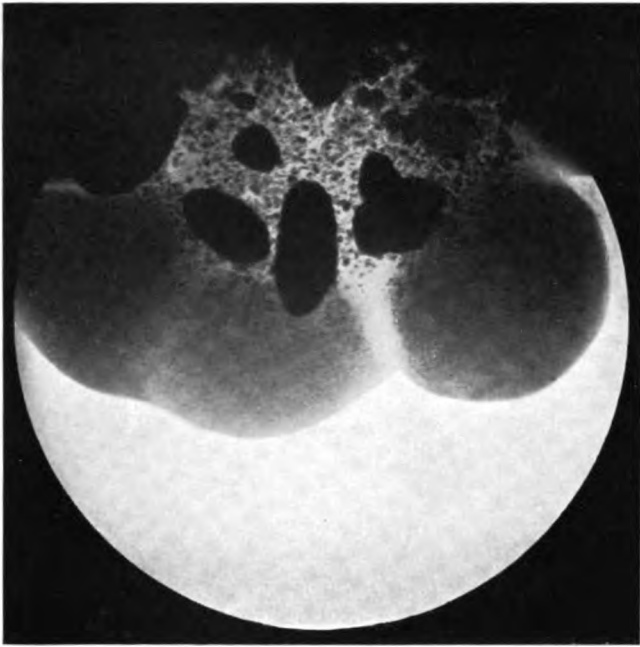


Fig. 3.

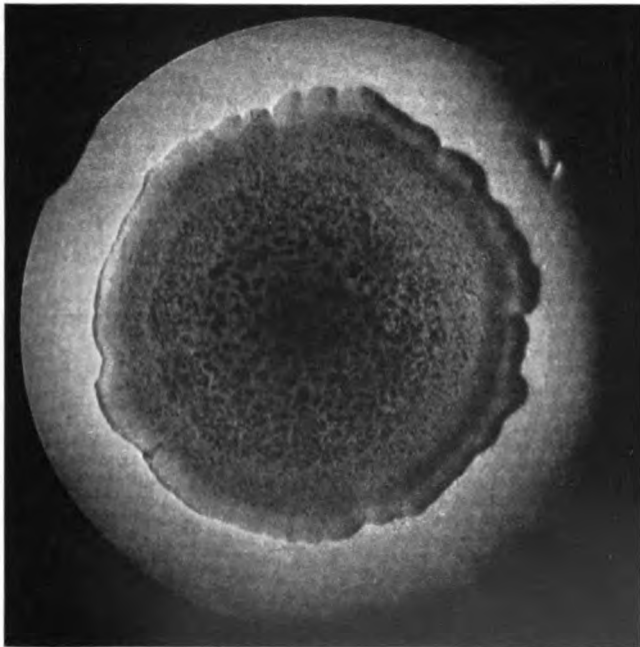


Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.

Nach den klassischen Untersuchungen über die angeblichen Zooparasiten von Doehle und Behla haben wir jene von Canon und Pielicke (Berl. klin. Wochenschr. Bd. XXIX. p. 577), welche vom Morbillusblute einen Bacillus isolierten, der sich als ein sehr kleines Element, der Größe des Durchmessers eines roten Blutkörperchens und auch etwas mehr zeigt. Er färbt sich mit den Anilinfarben gut, widersteht nicht der Gramschen Methode, in Bouillon und Blut gezüchtet, entwickelt er sich bloß in wenigen Fällen, während die Agar-, Milch- und Blutserkulturen völlig negativ ausfallen.

Czajkowski (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. p. 517) beschreibt gleichfalls aus dem Blute isolierte Bacillen, wie der Durchmesser eines roten Blutkörperchens lang; sie färben sich nicht mit der Gramschen Methode und wachsen in Glycerinagar und Blutsrum. Die den Kaninchen injizierten Kulturen erzeugen keine krankhafte Erscheinung, während sie bei Mäusen den Tod an Septikämie herbeiführen.

Pinna und Marini (Policlinico. Vol. VII. Sez. Med. 1900) erhielten aus den Schuppen der Morbilluskranken einen besonderen Staphylococcus, der von ihnen als Staphylococcus pyogenes haemorrhagicus bezeichnet wurde, der im stande ist, schwere Entzündungen an Darm- und Bindehautschleimhaut zu erzeugen, ohne daß sie aber irgend eine Beziehung zu dem Morbillusvirus feststellen konnten.

Giarré und Picchi (II. Congr. ital. di Pediatria. 1901) beschäftigten sich lange Zeit mit einem besonderen Mikroorganismus, demjenigen der Influenza sehr ähnlich und aus dem Bronchienschleim von mit Morbillus behafteten Kindern erhalten.

Arsanakoff (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXV. p. 831) untersuchte einen im Blute, in der Bindehaut- und Nasenausscheidung gefundenen Bacillus, wie die Hälfte des Durchmessers eines roten Blutkörperchens lang, in den festen Nährböden schwer, in den flüssigen nach Zusatz von Blut leichter züchtbar. Dem Autor nach gibt dieser Mikroorganismus sehr früh Rückbildungsformen, die das Aussehen einer Keule oder eines Trommelschlägels annehmen.

Zlatogoroff (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. p. 249) läßt uns einen in der Bindehaut- und Nasenausscheidung, sowie im Blute gefundenen Bacillus kennen lernen, 0,4—0,7 μ lang, mit sehr schwachen Bewegungen begabt, mit abgerundeten Enden, im Blute schwer züchtbar.

* * *

Meine Untersuchungen wurden am Blute, an der Ausscheidung der Bronchien und der Bindehaut von mit schwerem Morbillus behafteten Kindern (mit 40,5° Temperatur und 3—10 Jahre alt) vorgenommen. Das Blut wurde entnommen, als das Fieber seine Höhe erreichte, und das Exanthem ganz ausgesprochen war; bloß in 2 Fällen wurde es vor der Eruption entnommen. Dasselbe wurde aus einer Vene des Ellenbogens mittels einer sterilisierten Spritze aufgesaugt, ein Teil wurde fast unmittelbar danach in den Thermostaten gesetzt und mit dem übrigen Teil wurden Bouillon-, Glycerinagar-, Glycerinagar + Blut-, Agar + Eigelbkulturen angesetzt.

Mit dem Auswurf und der Bindehautausscheidung wurden Isolierkulturen in denselben Nährmitteln ausgeführt; in allen Fällen wurden ferner Vakuumkulturen gemacht.

Die direkte Untersuchung des Blutes lieferte nie positive Ergebnisse; erst in den Kulturen nach ungefähr 36 Stunden Aufenthalt im Thermostaten

konnte ich einen kleinen dünnen Bacillus beobachten, meistens zu zweien angehäuft, etwa $0,7 \mu$ lang, mit Anilinfarben schwer färbbar, der Gramschen Methode nicht widerstehend; in allen Kulturen war die Entwicklung spärlich, sie war hingegen reichlicher in den Vakuumkulturen.

Mein Mikroorganismus entwickelt sich nicht in der Gelatine; in Glycerinagar und defibriniertem Blute bemerkt man nach 36 Stunden punktförmige, durchscheinende, grauweißliche Kolonien, die schließlich langsam zusammenfließen; in Agar und Eigelb sind die Kolonien umfangreicher und die Entwicklung findet rascher statt, wenn die Kulturen im Vakuum vorgenommen werden; in Bouillon mit Blut oder Eigelb tritt die Entwicklung reichlicher auf, die Flüssigkeit trübt sich gleichmäßig und selbst nach längerer Zeit bildet sich kein Absatz.

Die Kulturen geben keinen Geruch von sich, die Milch wird nicht koaguliert, und es bildet sich weder Kohlensäure noch Indol.

Der Mikroorganismus erhält sich schlecht; nach wenigen Ueberpflanzungen fallen die Kulturen negativ aus, und ganz früh werden Rückbildungsformen wahrgenommen; bei den Präparaten aus zwei 3 Tage alten Kulturen verschwindet die Bacillenform beinahe völlig; man erkennt hingegen rundliche Gestalten und kleine zerstückelte und keulenförmig abgerundete Kettchen aus Elementen von veränderlichem Durchmesser.

Wie im Blute, so fand ich diesen Mikroorganismus in der Ausscheidung der Bindehaut und im Bronchienschleim derselben Patienten, und fast beständig bei allen von mir untersuchten Morbillusfällen. Zweifellos zeigt er kein Merkmal, durch welches man denselben mit anderen schon bekannten Bacillen identifizieren kann; er nähert sich sehr den von Czajkowski und Zlatogoroff beschriebenen, von welchen er jedoch in einigen Eigenschaften zu unterscheiden ist.

Nach Feststellung der morphologischen und kulturellen Charaktere des in Rede stehenden Mikroorganismus nahm ich mir vor, dessen pathogenes Vermögen zu prüfen, und zu diesem Zwecke bediente ich mich Kaninchen und Hunden.

Den ersteren wurde die Injektion in die Trachea, die Pleura, das Peritoneum, den Kreislauf und die Nasenschleimhaut ausgeführt.

Unter der Haut zeigte sich der Bacillus wirkungslos.

Die Injektionen von jungen, gut entwickelten Kulturen in die Luftröhre rufen den Tod binnen 3—6 Tagen hervor, mit folgendem Sektionsbefund: Blutgefäßerweiterung in der Trachea, kleine Herde (nicht immer vorhanden) von lobulärer Pneumonie; die übrigen Organe normal. Aus dem Blute und dem Lungensaft erhält man Reinkulturen des beschriebenen Mikroorganismus.

Die intrapleurale Injektion bedingt den Tod binnen etwa 5 Tagen, ohne besondere Läsionen, mit Ausnahme etwas serös-eitrigem Ergusses in der Pleurahöhle. Im Blute sind die Mikroorganismen spärlich vorhanden.

Die intraperitoneale Injektion bedingt den Tod ebenfalls binnen 5 bis 6 Tagen unter einem dem vorausgehenden ähnlichen Sektionsbefunde.

In den Kreislauf injiziert, tritt der Tod nach 3 Tagen auf; die Milz ist nicht vergrößert, die Nieren sind hyperämisch, und es zeigt sich eine verallgemeinerte Gefäßerweiterung.

Auf die Nasenschleimhaut, nach vorangehendem Abschürfen derselben, gebracht, bedingt dieser Mikroorganismus den Tod binnen 10—12 Tagen; die Lunge ist normal; aus dem Blute werden positive Kulturen erhalten.

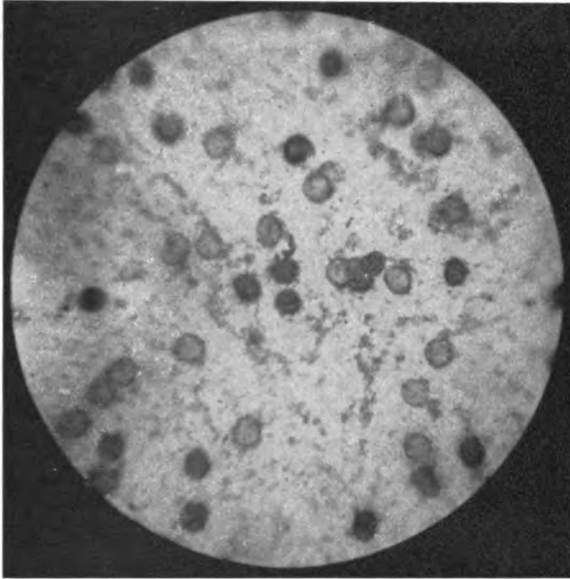


Fig. 1.

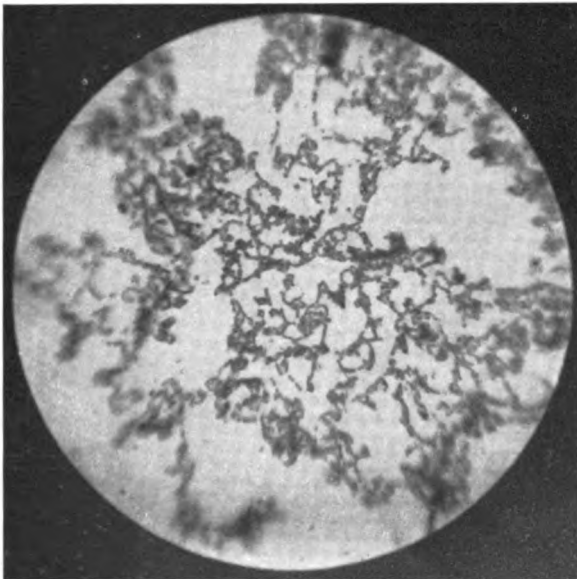


Fig. 2.

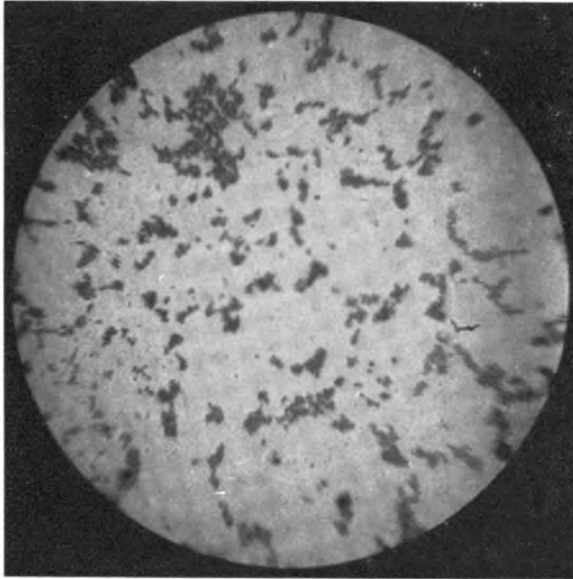


Fig. 3.

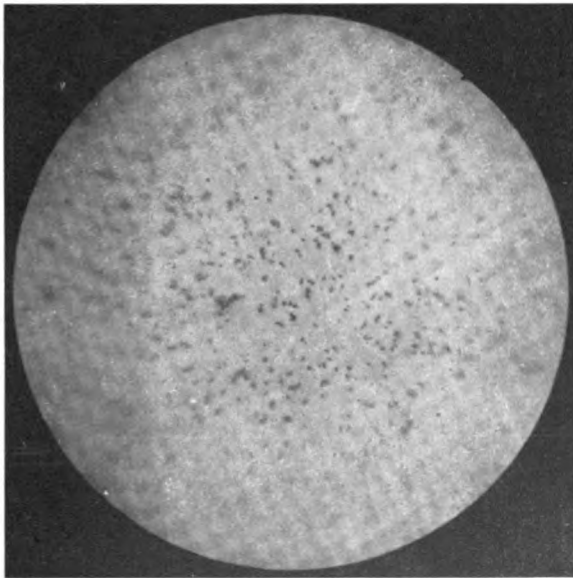


Fig. 4.

Am Hunde wurde bloß die intrapleurale und die intratracheale Injektion versucht.

Der Tod trat fast ohne Unterschied nach 17—18 Tagen ein.

Bei einem derselben trat nach 13 Tagen katarrhalische Entzündung der Bindehaut und der Nase auf; bei der Sektion fand man die Lunge stark hyperämisch, und die Kulturen sowohl aus dem Blute wie aus dem Lungensaft fielen positiv aus.

Die Kulturen des oben beschriebenen Bacillus durch die Kerze hindurchfiltriert, erweisen keine pathogene Wirkung.

Bei dem konstanten Befund im Blute, sowie in der Ausscheidung der Bindehaut und der Bronchien, und wegen der morphologischen und kulturellen Charaktere des von mir beobachteten Mikroorganismus und wegen seiner (wenn auch nicht sehr ausgesprochenen) Wirkung auf die Tiere, glaube ich, daß derselbe die ganze Aufmerksamkeit der Leser verdient, insofern er eine wichtige Rolle beim Zustandekommen einer Krankheit spielen kann, an deren Pathogenese noch heute auserlesene Geister und tapfere Forscher arbeiten.

Turin, 20. Mai 1905.

Tafelerklärung.

- Fig. 1. Kultur in Blut und Bouillon (Reick. $\frac{1}{12}$. Ok. 4).
 Fig. 2. Kultur in Agar und Eigelb, 36 Std. alt. (Dieselbe Vergr.)
 Fig. 3. Kultur in Agar und Blut, 36 Std. alt.
 Fig. 4. Rückbildungsgestalten. (Dieselbe Vergr.)

Nachdruck verboten.

Recherches expérimentales sur la rage des rats avec observations sur la rage du surmulot, de la souris et du mulot.

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

1^{er} mémoire.

Par Bruno Galli-Valerio.

Avec 2 figures.

La rage des rats n'a jusqu'à maintenant fait l'objet que de très rares observations¹⁾. Bien que ces animaux aient figuré dans la liste des animaux mordeurs dans la statistique de certains instituts antirabiques tels que ceux de Karkoff et de Constantinople, et soient cités parmi les animaux atteints, par Friedberger et Fröhner²⁾, presque personne ne s'est occupé d'étudier expérimentalement la rage des rats. Dans la littérature nous trouvons seulement deux mots de Remlinger³⁾, qui dit que le rat blanc et le rat tigré se comportent vis-a-vis du virus fixe comme la souris blanche et qu'une inoculation sous-cutanée ou intracérébrale

1) Ce travail était rédigé quand j'ai eu connaissance de quelques recherches faites par França (Rivista d'igiene. 1905. p. 428) sur la rage des muridés mais dont les détails me manquent.

2) Lehrbuch der speziellen Pathologie und Therapie der Haustiere. 5. Aufl. Stuttgart 1900.

3) Soc. de Biol. 1904. janv. 9.

donne la rage dans un cas sur deux; et un court travail de Nicolle et Chaltiel¹⁾, travail dont il résulte que la totalité des rats gris (4) ou blancs (3), inoculés sous la dure-mère (1) ou dans la chambre antérieure de l'œil (6) avec une émulsion de virus fixe a contracté la rage. Il en a été de même de rats blancs (2) inoculés semblablement avec du virus des rues. L'inoculation intramusculaire de ces mêmes virus ne leur a donné que des résultats négatifs sauf cependant dans un cas douteux.

Tandis que ces auteurs donnent quelques observations des symptômes présentés par les rats inoculés du virus fixe, ils n'ont pas eu l'occasion d'observer les symptômes dans les deux seuls cas inoculés avec le virus des rues. Ils ont seulement pu constater, que les centres nerveux des rats ayant succombé à la rage se sont montré d'une façon constante virulents et souvent même doués d'une virulence exaltée pour le lapin et pour les rats. Dans un cas ils ont pu observer trois passages successifs par cet animal. Ils ont aussi constaté que 2 fois sur 3 les glandes salivaires des rats succombant à la rage, sont virulentes pour le lapin. Ils terminent leur étude en disant que le rat, malgré sa sensibilité au virus rabique, ne sera que bien rarement choisi comme animal d'étude de la rage, à cause de la difficulté de l'expérimentation et du fait de la mort rapide souvent sans symptômes.

Quelle est la cause du manque presque complet d'études sur la rage des rats? Nicolle et Chaltiel n'hésitent pas à l'attribuer à la difficulté du maniement des rats, aux dangers pour l'opérateur, à la presque impossibilité d'employer les anesthésiques, vu la grande sensibilité des rats à ces substances. Eux-mêmes disent d'avoir perdu la plus grande partie des rats employés à cause de l'anesthésie ou du traumatisme opératoire.

Quand je me suis proposé de faire mes recherches sur la rage expérimentale des rats, je me suis d'abord occupé de trouver un appareil permettant de placer d'une façon sûre les rats, de sorte à pouvoir pratiquer sur eux les inoculations, surtout dans le cerveau. J'ai exposé mes idées à M. Pilet, mécanicien de l'école de chimie, et avec lui j'ai pu construire un appareil qui m'a permis de pratiquer toutes les recherches, tant sur les rats noirs (*Mus rattus*) que sur les rats blancs et les surmulots (*Mus decumanus*).

Cet appareil (fig. 1) est construit de la façon suivante:

Une plateforme en bois dur de 20 cm. de long sur 12 de large et 5 d'épaisseur, plateforme entaillée pour recevoir deux traverses en laiton avec coulisseaux (a) et vis d'arrêt (b). L'orifice des coulisseaux est fraisé, pour faciliter l'entrée des jambes d'une espèce de corset destiné à fixer l'animal. Ce corset (c) en fil de laiton est constitué de deux demi colliers avec jambes (d, d') réunis entr'eux par 2 barres longitudinales (e) dont les extrémités sont munies de plaquettes (f, f'). Les plaquettes antérieures (f) épousent la tête de l'animal, afin d'avoir une immobilité complète, tout en laissant libre la partie supérieure de la tête pour la trépanation. Les plaquettes postérieures (f'), légèrement courbées en bas, s'appliquent exactement sur le bassin et empêchent tout mouvement de recul. Les 2 barres longitudinales sont réunies entr'elles au milieu par une traverse (g) qui empêche à l'animal de s'arquebouter. Le collier antérieur (a) est plus relevé que le postérieur et son sommet est légèrement courbé en arrière afin qu'il puisse s'appuyer derrière l'occiput. Le collier postérieur

1) Ann. de l'Institut Pasteur. 1904. p. 644.

(d') sert à tenir en place les barres longitudinales et à empêcher aussi à l'animal de s'arquebouter. Les jambes du corset sont suffisamment longues pour permettre de fixer des rats plus ou moins corpulents.

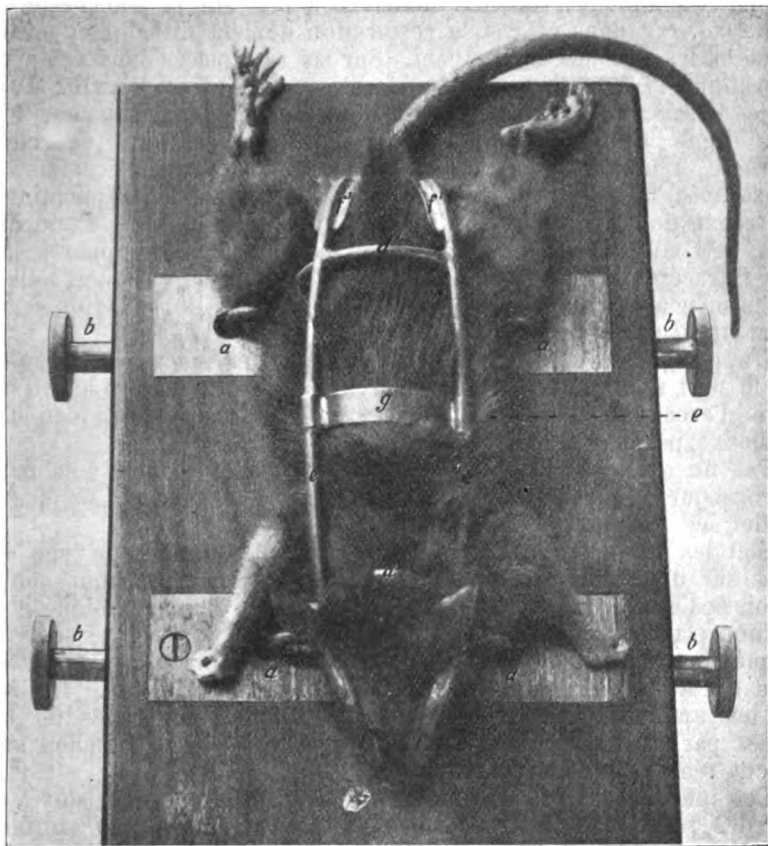


Fig. 1.

Deux modèles de corset, l'un plus grand pour les rats les plus grands et les surmulots, l'autre plus petit pour les plus petits, peuvent s'appliquer sur la même planchette. Il est possible de varier à l'infini la dimension des corsets, de façon à pouvoir placer des mulots et même des souris.

La technique que j'ai suivie pour placer les rats sur cet appareil a été la suivante : Le rat était saisi avec une pince à fixation à la peau du cou, immédiatement derrière l'occiput. Un aide tenait en arrière les jambes postérieures à l'aide de 2 pinces. L'animal était alors placé sur son ventre sur la planchette et immédiatement le corset était appliqué, en tâchant de placer de suite la tête bien droite entre les plaquettes antérieures. Dans les cas dans lesquels l'animal plaçait sa tête de travers, elle était ramenée dans la position voulue par une pince de Kocher, fixée dans la commissure des lèvres.

Une fois le rat en place, il est complètement immobilisé. L'opération accomplie, on prend le rat avec les mêmes pinces derrière la nuque, on

détache le corset et on place le rat dans un bocal, le corset restant enfilé sur la pince. Sur 63 rats noirs, 14 rats blancs et 8 surmulots que j'ai inoculés, je n'en ai perdu par traumatisme avec cet appareil que 3 rats noirs et un surmulot, et cela parce qu'ils ont été mal placés. Il faut en effet que les animaux soient absolument à plat sur la planchette et pas sur le côté, car dans ce cas la respiration devient difficile et même impossible et les animaux succombent. Sur les rats placés dans cet appareil, j'ai pratiqué l'inoculation non subdurale, mais intracrânienne: Dans ce but, je faisais une incision de 2 mm. de long un peu sur le côté de la ligne médiane du crâne, un peu en arrière de la ligne transverse réunissant l'angle postérieur des yeux. J'écartais l'aponévrose avec la pointe du bistouri et je pratiquais la trépanation avec mon trépan dont la description a été donnée dans la thèse d'une de mes élèves, M^{me}. Salomon¹). Tous les rats ont très bien supporté l'inoculation intracrânienne, qui est extrêmement rapide à pratiquer. La plaie était fermée avec un point de suture et couverte de collodion. Je n'ai pas eu un seul cas de suppuration.

L'appareil m'a aussi très bien servi pour les inoculations dans l'œil, dans le nerf sciatique et dans les muscles et je suis certain qu'il pourrait rendre d'excellents services à tous ceux qui doivent pratiquer des recherches expérimentales sur les rats.

Pas un seul des rats que j'ai inoculés, n'a été soumis à la narcose; par conséquent aucune influence étrangère n'est entrée en jeu pour modifier les résultats de l'inoculation.

Soit les rats soit les souris et les surmulots inoculés de rage, étaient gardés sur une litière de tourbe dans des bocaux cylindriques en verre à parois épaisses, couverts avec un couvercle en treillis métallique et pourvu d'une plaque en plomb, pour empêcher qu'il puisse être soulevé. Il faut que le treillis soit résistant, car les rats le rongent souvent et j'en ai eu un qui avait même rongé largement la plaque de plomb. Les bocaux avec les animaux inoculés, étaient placés dans des cages en ciment fermées par un treillis métallique, pour le cas où les animaux enragés auraient réussi à s'échapper du bocal.

Les inoculations ont été faites soit avec du virus fixe, soit avec du virus des rues. Les 2 virus étaient triturés dans de l'eau stérilisée et 1—2 divisions de l'émulsion ainsi obtenue, étaient inoculées avec la seringue de Pravaz. Les animaux employés pour les diverses expériences ont été, outre le lapin et le cobaye, le rat blanc, le rat noir (*Mus rattus*), le surmulot (*Mus decumanus*), la souris grise (*Mus musculus*) et le mulot (*Mus sylvaticus*).

J'exposerai séparément les résultats des inoculations faites avec du virus fixe et du virus des rues et je résumerai à la fin du travail les résultats.

I. Expériences avec le virus fixe.

Le virus fixe qui a servi à ces expériences, m'a été envoyé par M. le Prof. Abba, médecin en chef de la ville de Turin, à qui j'adresse ici mes plus vifs remerciements.

Exp. 1: 12 XII. 04. Avec un émulsion du virus fixe de Turin (moelle allongée de lapin) inoculé dans le cerveau:

Le lapin No. 1: 16 XII. Premiers symptômes de rage paralytique.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. 1900. p. 70.

17 XII. Paralyse complète. 19 XII. Mort à 9^h 1/2 du soir. La moelle allongée de ce lapin est gardée en glycérine (voir Exp. 2).

Exp. 2: 17 I. 05. Avec émulsion de la moelle allongée du lapin No. 1 (Exp. 1), inoculé dans le cerveau à 9^h du matin:

Le lapin No. 2: 22 I. Paralyse du train postérieur. 23 I. Paralyse complète. 24 I. Mort la nuit du 23 au 24 I. (voir Exp. 3).

Le rat blanc No. 3: 22 I. Etourdissement. Démarche difficile. Aucune tendance à mordre. 23 I. Mort la nuit du 22 au 23 I. (voir Exp. 4).

Le rat noir No. 4: 22. I. Etourdissement. Démarche difficile. Il ne mord pas. 23 I. Couché sur le flanc, courbé en arc, à moitié paralysé. Touché, il fait des mouvements avec le train postérieur. Il ne mord pas. 24 I. Mort la nuit du 23 au 24 I. (voir Exp. 5).

Exp. 3: 24 I. 05. Avec émulsion de la moelle allongée du lapin No. 2 (Exp. 2) filtrée sur bougie Silberschmidt, inoculé dans le cerveau:

Le lapin No. 5: Ce lapin n'a présenté aucun trouble morbide et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 19).

Exp. 4: 23 I. 05. 9^h du matin. Avec émulsion moelle allongée du rat blanc No. 3 (Exp. 2):

a) Inoculé dans le cerveau:

Le rat blanc No. 6: 29 I. Triste. 30 I. Paralysé. Couché sur le flanc, la tête fléchie contre l'abdomen. Il ne mord pas. 31 I. Mort à 5^h du soir.

Le rat noir No. 7: Mort quelques heures après l'inoculation.

Le lapin No. 8: 27 I. Torpeur. Tremblement de la tête. 28 I. Parésie le matin. Paralyse après midi. 29 I. 05 Mort dans la matinée.

b) Inoculé dans l'œil:

La souris grise No. 9: 28 I. Soir: Paralysée, ne mord pas. 29 I. Morte dans la matinée.

c) Avec émulsion cerveau de 2 foetus trouvés dans l'utérus du rat blanc No. 3 inoculé dans le cerveau:

Le cobaye No. 10: Ce cobaye n'a présenté aucun trouble morbide, et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 23).

Exp. 5: 24 I. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 4 (Exp. 2), inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat blanc No. 11: 29 I. Triste, mais il mange encore. 30 I. Paralysé. Reste couché sur le flanc, la tête fléchie contre l'abdomen. Présente des secousses. Ne mord pas. 31 I. Respire à peine. Mort à midi.

Le rat noir No. 12: 29 I. Triste, mais il mange encore. 30. I. Paralysé, couché sur le flanc, la tête fléchie contre l'abdomen. Présente des secousses. Ne mord pas. 31 I. Mort la nuit du 30 au 31 (voir Exp. 7).

b) Dans l'œil:

La souris grise No. 13: 30 I. Morte tout à coup la nuit du 29 au 30. Cette souris n'est pas morte de rage comme ont démontré les exp. 6 et 12.

Exp. 6: 30 I. 05. 10^h 1/2 matin. Avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 13 (Exp. 5), inoculée dans le cerveau.

Le rat noir No. 14 } Ces 2 rats n'ont présenté aucun trouble morbide,
Le rat blanc No. 15 } et ils ont été réinoculés ultérieurement (Exp. 12).

Exp. 7. 30 I. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 12 (Exp. 5), inoculé dans le cerveau.

Le rat noir No. 16: 5 II. Etourdissement. 6 II. Couché sur le

flanc, paralysé. Ne mord pas. 7 II. Respire à peine. Mort à midi (voir Exp. No. 10).

Avec émulsion des glandes salivaires sousmaxillaires du rat noir No. 12, inoculé dans le cerveau:

Le lapin No. 17: Ce lapin n'a présenté aucun trouble morbide et il a été réinoculé ultérieurement (Exp. 30).

Exp. 8. 31 I. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat blanc No. 6 (Exp. 4) inoculé dans le cerveau:

Le rat blanc No. 18: 5 II. Etourdissement. 6 II. Mouvements incoordonnés: Se dresse sur ses pattes postérieures et retombe en tournant sur lui-même. Très excité. Touché avec un fil de fer, se dresse sur les pattes postérieures et cherche à se défendre avec ses dents, mais il n'arrive pas à mordre. Sensibilité extrême: le plus léger bruit l'excite. Après midi il reste couché sur un flanc. Touché il réagit en grattant la partie touchée avec une des pattes postérieures. 7 II. Couché sur le flanc. Il bouge à peine ses pattes. 8 II. Mort à 11^h du matin (voir Exp. 9).

Exp. 9. 8 II. 05. 3^h après midi. Avec émulsion moelle allongée du rat blanc No. 18 (Exp. 8) inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat noir No. 19: 13 II. Démarche incertaine. Touché, il essaye de courir mais il retombe. Ne mord pas. Paralysé après midi. 14 II. Mort la nuit du 13 au 14 (voir Exp. 11).

Le rat noir No. 20: 13 II. Après midi, mouvements incoordonnés. Excité: court et tombe, même stimulé, ne mord pas. 14 II. Mort la nuit du 13 au 14.

b) Dans l'œil:

La souris grise No. 21: 18 II. Incoordination des mouvements. Parèse du train postérieur. Marche en trébuchant. Ne mord pas. 19 II. Morte la nuit du 18 au 19 (voir Exp. 14).

Exp. 10: 7 II. 05. 3^h après-midi. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 16 (Exp. 7) inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat noir No. 21a: 13 II. Paralysé, couché sur un flanc. Touché, gratte la partie touchée avec une des pattes postérieures. Ne mord pas. Complètement paralysé après-midi. 14 II. Mort la nuit du 13 au 14 (voir Exp. 12).

b) Dans les muscles de la cuisse:

Le rat blanc No. 22: Ce rat n'a présenté aucun trouble morbide, et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 19, Exp. 30, Exp. 34, Exp. 38, Exp. 51, Exp. 62).

Le rat blanc No. 23: 16 II. Paralysé. Couché sur un flanc. Touché il s'agit et essaye de mordre, sans pouvoir, un fil de fer qu'on lui présente. 17 II. Complètement paralysé, mort à midi (voir Exp. 13).

c) Dans l'œil:

Rana temporaria
Triton cristatus
Triton alpestris } Ces animaux n'ont présenté aucun trouble morbide et vivent encore aujourd'hui.

Exp. 11: 14 II. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 19 (Exp. 9), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 24: 19 II. Ne mange pas. 20 II. Paralysé le matin. Après-midi il est couché sur le flanc et respire à peine. Mort (voir Exp. 15).

Le mulot No. 25: 19 II. Ne mange pas. 20 II. Marche en tré-

buchant. Même stimulé, ne mord pas. 21 II. Paralysé. Mort à 4^h après-midi (voir Exp. 16).

Avec émulsion glande salivaire sousmaxillaire du rat noir No. 19, inoculé dans le cerveau :

Le rat noir No. 26: 3 III. Ne mange pas. 4 III. Paralysé. Ne mord pas. 5 III. Mort dans la matinée (voir Exp. 26).

Exp. 12: 14 II. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 21a (Exp. 10) inoculé dans le cerveau.

Le rat noir No. 14 (déjà inoculé le 30 I. dans le cerveau avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 13 [Exp. 6]). 20 I. Incoordination des mouvements. Touché, il essaye de se dresser, mais il retombe. Ne mord pas. 21 II. Complètement paralysé. Couché sur le flanc. Respire à peine. 22 II. Respiration à peine perceptible. 23 II. Mort la nuit du 22 au 23.

Le rat blanc No. 15 (déjà inoculé le 30 I. dans le cerveau avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 13 [Exp. 6]): 20 II. Paralysé le matin. Aucune tendance à mordre. 21 II. Couché sur le flanc. Respire à peine. 22 II. Mort la nuit du 21 au 22 (voir Exp. 17).

Exp. 13: 17 II. 05. 4^h 1/2 après-midi. Avec émulsion moelle allongée du rat blanc No. 23 (Exp. 10) inoculé :

a) Dans le cerveau :

Le rat noir No. 27: 22 II. Mouvements incoordonnés: Il tombe sur un côté et à de la peine à se relever. 23 II. Complètement paralysé le matin. Mort à 5^h après-midi (voir Exp. 18).

La souris grise No. 28: Morte la nuit.

b) Dans les muscles de la cuisse :

Le rat noir No. 29: 25 II. Ne mange pas. 26 II. Paralysé. Ne mord pas. 27 II. Mort la nuit du 26 au 27 (voir Exp. 21).

c) Dans le sciatique gauche :

Le rat noir No. 30: Ce rat n'a présenté aucun trouble morbide et il a été réinoculé ultérieurement (Exp. 27, Exp. 38, Exp. 51).

Exp. 14: 20 II. 05. 10^h 1/2 avant midi. Avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 21 (Exp. 9), inoculé dans le cerveau :

Le rat noir No. 31: 24 II. Ne mange pas. 25 II. Paralysé. Ne mord pas. 26 II. Paralysé. Respire à peine. 27 II. Mort la nuit du 26 au 27.

Le rat noir No. 32: Idem. Idem.

Exp. 15: 21 II. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 24 (Exp. 11), inoculé dans le cerveau :

Le rat noir No. 33: 27 II. 05. A demi paralysé ce matin. Il essaye de se lever et tombe sur son dos. Ne mord pas. 28 II. Complètement paralysé. Couché sur un flanc. Respire à peine. Mort à 1^h après midi (voir Exp. 19).

Exp. 16: 21 II. 05. Avec émulsion moelle allongée du mulot No. 25 (Exp. 11), inoculé dans le cerveau :

Le rat noir No. 34: 25 II. Ne mange pas. 26 II. Paralysé. Ne mord pas. 27 II. Mort la nuit du 26 au 27 II. (voir Exp. 20).

Exp. 17: 22 II. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat blanc No. 15 (Exp. 6), inoculé dans le cerveau :

Le rat noir No. 35: 28 II. Ne mange pas. 1^{er} III. Paralysé. Couché sur le flanc. Stimulé, réagit agitant faiblement ses pattes. 2 III. Mort la nuit du 1 au 2 (voir Exp. 24).

Exp. 18: 23 II. 05. 5^h après-midi. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 27 (Exp. 13), inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat noir No. 36: 28 II. Début de la paralysie. Complètement paralysé l'après-midi. Mort à 5^h après-midi (voir Exp. 23).

b) Dans l'œil:

Le rat noir No. 37: Ce rat n'a présenté aucun trouble morbide, et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 30).

Exp. 19: 28 II. 05. 3^h après-midi. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 33 (Exp. 15), inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat blanc No. 22 (déjà inoculé dans les muscles avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 16 [Exp. 10]): Ce rat n'a présenté aucun trouble morbide et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 30, Exp. 34, Exp. 38, 51, 62):

Le lapin No. 5 (déjà inoculé le 24 I. 05 avec émulsion moelle allongée du lapin No. 2, filtrée. [Exp. 3]). 4 III. Tremblement de la tête. Ne mange pas. 5 III. Paralysie du train postérieur. Couché sur le flanc. 6 III. Mort la nuit du 5 au 6.

b) Dans l'œil:

Triton cristatus No. 38 } Aucun de ces animaux n'a présenté de
Triton alpestris No. 39 } troubles morbides, et ils vivent encore
Rana esculenta No. 40 } aujourd'hui excepté le No. 41 qui a été tué
Rana temporaria No. 41 } pour l'Exp. 29.

Exp. 20: 27 II. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 34 (Exp. 16), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 42: 5 III. Mouvements incoordonnés. Débuts de la paralysie. Ne mord pas. 6 III. Complètement paralysé. Mort dans la matinée.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber Beziehungen zwischen Hühnerpest und Lyssa.

[Aus dem Institut f. med. Chemie und Hygiene zu Göttingen.]

Von **Werner Rosenthal**.

[Mit Unterstützung aus dem Elizabeth Thompson Science Fund.]

- Die kurze Mitteilung, die F. K. Kleine in der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten über „Neue Beobachtungen zur Hühnerpest“ bekannt gegeben hat, veranlaßt mich, ebenfalls einige Beobachtungen zu veröffentlichen, die ich bisher zurückgehalten habe, weil meine aus äußeren Gründen nur langsam fortschreitenden, seit längerer Zeit fortgeführten Untersuchungen über die Hühnerpest noch zu keinem mich befriedigenden Ergebnis geführt haben.

Kleine hat bei seinen Versuchen festgestellt, daß bei jungen Gänsen, die einer Infektion mit Hühnerpestvirus unter Krampf- und Lähmungserscheinungen erliegen, die Infektiosität des Blutes während der mehrtägigen Krankheitsdauer erlischt, das Zentralnervensystem aber auch nach dem Tode hochgradig virulent ist und findet in dieser Lokalisation des Virus (nicht von Toxin) im Zentralnervensystem eine auffallende Parallele zu der Lyssa.

Ich verfügte eine Zeitlang über ein abgeschwächtes Hühnerpestvirus, das die Hühner nach mehrtägiger Inkubationszeit und etwas verlängertem Krankheitszustand mit Krämpfen und Erscheinungen des Labyrinthschwindels tötete. Die Untersuchung der Labyrinth der solcher Hühner sowohl als auch von jungen Tauben, die nach der Infektion mit Hühnerpestvirus anscheinende Störungen der Labyrinthfunktion gezeigt hatten, ließ die erwarteten anatomischen Veränderungen, wie sie Centanni bei erkrankten Tauben gefunden hat, nicht erkennen. Dagegen fand ich im Gehirn dieser Hühner auffallende Veränderungen, nämlich herdförmige perivaskuläre Zellanhäufungen, die ich als eine Infiltration der Venen und Kapillaren umgebenden Lymphräume deute, besonders weil ich auch eine entsprechende Zellvermehrung im Subarachnoidealraum und in dem Gewebe der Plexus chorioideales fand. Diese perivaskulären Zellherde erinnern an jene, die von verschiedenen Autoren im Zentralnervensystem bei Menschen und Tieren, die an Straßenwutinfektion gestorben waren, gefunden und beschrieben worden sind. Im besonderen verweise ich auf die Abbildungen bei Högyes¹⁾ und in der Arbeit von Kraus und Clairmont über experimentelle Lyssa bei Vögeln²⁾.

Um mir ein eigenes Urteil über diese Aehnlichkeit des histologischen Befundes zu bilden, suchte ich mir Lyssamaterial zu verschaffen. Aber obgleich mir solches von verschiedenen Seiten liebenswürdigerweise überlassen wurde, habe ich bisher nur einmal, im Gehirn eines am 19. Tag nach Infektion mit Straßenvirus eingegangenen Kaninchens, das ich der Güte von Herrn Dr. Meinecke am k. Inst. f. Infektionskrankheiten verdanke, mäßig ausgebildete perivaskuläre Herde finden können.

Die Anordnung und der Charakter der Infiltrationszellen bei diesem Lyssafall gleicht aber durchaus den kleineren Zellherden in den Hühnergehirnen; es sind keine Eiterherdchen, denn polymorphkernige Rundzellen und acidophile Granulationen sind in ihnen recht selten, während der Eiter bei den Hühnern wie den Kaninchen acidophil gekörnte Leukocyten in großer Zahl enthält, sondern Ansammlungen polymorpher und rundlicher Zellen mit meist aus zartem Chromatingerüst bestehenden großen Kernen. Die Herdchen bei den Hühnern möchte ich eher den Granulationsgeschwülsten anreihen; Kernteilungsfiguren freilich habe ich in ihnen nicht auffinden können.

In diesen Herdchen fallen intracelluläre Körner auf, die sich mit Kernfarbstoffen sehr dunkel tingieren und, besonders bei Safranin-Pikrinsäurefärbung und starker Differenzierung, fast allein gefärbt erhalten lassen; sie sind von wechselnder Größe, von 3 μ Durchmesser, entsprechend dem Querdurchmesser eines Kernes eines Hühnererythrocyten, bis herab zu den eben noch erkennbaren, die dann in größerer Zahl beieinander liegen; alle mit scharfem, glattem Kontur und meist fast regelmäßig rund, doch kommen unter den größten auch Halbmondformen vor. Diese Körnchen kann man alle als krankhaft veränderte, pyknotische und zerfallende Kerne deuten, auch sind manche nicht zu unterscheiden von Querschnitten von Erythrocytenkernen oder großen Kernkörperchen in sonst entfärbten Kernen der Endothelien und Gliazellen. Es ist aber auch nicht auszuschließen, daß sie zum Teil Protozoenkerne darstellen könnten.

1) Nothnagels Handb. d. spez. Pathologie und Therapie.

2) Zeitschr. f. Hygiene und Inf. Bd. XXXIV. 1900.

Gleichartige perivaskuläre Zellherde im Gehirn wie bei 3 Hühnern habe ich auch bei einem jungen Habicht gefunden, der nach Infektion mit Hühnerpest unter Krämpfen und Zeichen einer Gleichgewichtsstörung zu Grunde ging. Zwei andere Habichte derselben Brut und einen älteren zu infizieren gelang mir nicht.

Kleine Beobachtungen über Retinaerkrankungen bei einem Huhn und mehreren Gänsen habe ich ebenfalls eine analoge, freilich nicht mit dem Augenspiegel, sondern post mortem gemachte an die Seite zu setzen. Es handelt sich, wie bei Kleine, um einen jungen Hahn, der durch das Ueberstehen mehrerer Impfungen, einmal mit vorübergehender Erkrankung, den Anschein einer gewissen Immunität erweckte, dann aber doch einer neuen Impfung erlag. Ein rötlicher Schein in der einen Pupille veranlaßte mich zu einer histologischen Untersuchung des Auges, bei der sich Zellherde, ganz gleichartig den perivaskulären des Gehirns, nicht nur in den äußeren Augenmuskeln, sondern besonders auch in dem Ciliarmuskel fanden. Zum Teil waren sie von kleinen Blutergüssen umgeben und ein Bluterguß findet sich auch im N. opticus.

Solche Herdchen in anderen Organen nachzuweisen ist mir bisher nicht mit voller Sicherheit gelungen; ich habe zwar in verschiedenen Schleimhäuten ähnliches gesehen, aber die Schleimhäute des Huhnes sind normalerweise so reich an diffus verteiltem lymphoidem Gewebe, daß ich nur das Vorkommen von Herdchen mit regressiver Metamorphose, Pyknose und Zerfall der Kerne, nicht von Neubildungen mit Sicherheit behaupten kann.

Durch diese Befunde wurde ich veranlaßt, subdurale Impfungen mit Hühnerpest vorzunehmen und ich glaube es diesem Verfahren zuschreiben zu dürfen, daß es mir gelang, eine ausgewachsene alte Taube, die sich ja sonst ganz unempfindlich zeigen, mit Hühnerpest tödlich zu infizieren und von ihr aus zur Kontrolle ein Huhn und, wiederum durch subdurale Verimpfung, eine zweite Taube.

So sind F. K. Kleine und ich auf verschiedenem Wege und unabhängig von einander zu dieser Annahme einer Beziehung zwischen Lyssa und Hühnerpest gelangt. Eine Brücke zwischen den, in ihrem epidemiologischen Charakter und Verlauf so verschiedenartigen Krankheiten wird vielleicht die von Aujeszky¹⁾ beschriebene „neue Infektionskrankheit bei Haustieren“ schlagen, die vom Autor zur Lyssa in Beziehung gesetzt wird, die aber in ihrem rapiden Verlauf, durch die Infektiosität des Blutes, die Wirksamkeit der subkutanen Verimpfung, auch durch die freilich bei beiden Seuchen wenig charakteristischen klinischen und anatomischen Zeichen an die Hühnerpest erinnert.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. No. 5.

Nachdruck verboten.

Der Streptococcus bombycis in Bezug auf die Aetiologie der Auszehrung und Schlaffsucht¹⁾ der Seidenraupe.

Experimentelle Bemerkungen und Beobachtungen.

[Aus dem Laboratorium für Parasitologie der kgl. Universität zu Turin, geleitet von Prof. Dr. E. Perroncito.]

Von

Dr. med. **Silvio Sartirana**, und Dr. med. **Attilio Paccanaro**,
Assistenten. Volontärassistenten.

Die verschiedenen Forscher, die sich mit der Aetiologie der Auszehrung und der Schlaffsucht der Seidenraupe beschäftigt haben, gehen noch sehr auseinander. Bei dem großen Unterschied der Meinungen über die Natur dieser beiden Krankheiten wollten wir das unserem Laboratorium überreichte Material ausnutzen, in der Absicht, einen Beitrag zur Lösung dieser nicht nur vom wissenschaftlichen Standpunkte, sondern auch wirtschaftlich so wichtigen Frage zu liefern.

Das von uns benutzte Material stammte von einem großen Raupensatz, der zum Teil von der Auszehrung, zum Teil von der Schlaffsucht völlig vernichtet worden war.

* * *

Schon Pasteur²⁾ hat sich im Jahre 1870 mit den Seidenraupenkrankheiten beschäftigt, und hinsichtlich der Schlaffsucht hatte er festgestellt, daß der Hauptsitz der Krankheit im Verdauungskanal gesucht werden mußte. In diesem hatte Pasteur die Gegenwart verschiedener Mikroorganismen wahrgenommen, unter ihnen die nach der damaligen Bezeichnungart sogenannten Vibrionen (*Bacillus bombycis*) und die Kettenfermente (Mikrokokken, *Streptococcus bombycis* etc.). Nach Einführung von verschiedenen unter diesen Mikroorganismen in den Magen gesunder Raupen und nachdem er infolgedessen eine erhebliche Sterblichkeit unter den scheinbaren Merkmalen der Schlaffsucht erzielte, zog er den Schluß, daß diese Erkrankung von der durch die Vibrionen und die Mikrokokken erzeugten Gärung der Nahrungsmittel bedingt sei.

Verson³⁾ trat im Jahre 1871 den Schlüssen Pasteurs entgegen, indem er behauptete, bei den Raupen eine Krankheit reproduziert zu haben, die den Anschein der Schlaffsucht zeigte, sei es durch einfache Einstiche, sei es durch einfache subkutane Inokulation putrider Flüssigkeiten.

1874 injizierte De Ferry de la Bellone⁴⁾ Seidenraupen Verwesungsflüssigkeiten und sah sie an Schlaffsucht sterben; auch er schloß, wie Pasteur, daß die Gärung des Darminhaltes die Ursache dieser Krankheit darstelle.

1) Mit den Worten „Auszehrung“ und „Schlaffsucht“ glaubt der Uebersetzer am besten die italienischen Bezeichnungen dieser Seidenspinnerkrankheiten (*macilienza* resp. *flaccidezza*) deutsch wiedergeben zu können.

2) Pasteur, *Maladies des vers à soie*. Paris 1870.

3) Verson, E., *Altre osservazioni sulla flaccidezza del baco*. (II. Congr. Int. Udine. 1871.)

4) De Ferry de la Bellone, C., *Contribution à l'étude de la flacherie*. Paris et Lyon 1874.

Auf die neuere Zeit übergehend, finden wir G. Cuboni und A. Garrini¹⁾, welche eine parasitäre Erkrankung der Maulbeerblätter untersuchten, und darin einen *Diplococcus* fanden, der ihrer Meinung nach die Ursache der Schlagsucht ist.

Prof. Voglino²⁾ setzte die Untersuchungen von Cuboni und Garrini über das Maulbeerblatt fort und fand darin einen für die Seidenraupe pathogenen „*Bacillus mori*“. Macchiati³⁾ isoliert aus den an Schlagsucht gestorbenen Raupen den „*Streptococcus bombycis*“ und zwei Bacillen, „*Bacillus bombycis* und *Bacillus cubonianus*“ und kommt durch seine Untersuchungen zu dem Schlusse, daß bloß der nach ihm in den erschlafte Raupen immer vorhandene *Streptococcus* das spezifische Agens ist, während die beiden Bacillen erst später in Aktion treten, den Verwesungsvorgang beschleunigend. J. M. Krassil-schtschik fand auch im Darm der schlafsuchtigen Raupen den *Streptococcus* (*Strept. pasteurianus*). Neuerdings hat Prof. Sawamura⁴⁾ von der Tokioer Universität bei Untersuchung der Darmbakterienflora der schlafsuchtigen Raupen einige Mikrokokken und zwei Bacillen, das *Megatherium* und den *Bacillus coli*, und aus dem Maulbeerblatt 10 Arten von Mikroorganismen isolieren können. Durch seine Versuche kommt er zu dem Schlusse, daß keiner für die Schlagsucht spezifisch ist, sondern daß die wahre Ursache in dem Ueberschuß der von der Vermehrung der verschiedenen Mikroorganismen erzeugten Produkte zu suchen ist.

Die letzten Verfasser, die sich mit diesem Gegenstand beschäftigt haben, sind Prof. Lo Monaco⁵⁾, Dr. Giorgi und Falleroni⁶⁾ und Prof. Nomura⁷⁾, und durch ihre Untersuchungen hatte es sich ergeben, daß die spezifische Ursache der Schlagsucht in einem von Lo Monaco und Giorgi als *innominatus* bezeichneten *Bacillus* angenommen werden muß.

Hinsichtlich der Auszehrung können die Verff. uns wenig sagen, und jene wenigen, die sich mit diesem Gegenstande beschäftigen, bringen die Auszehrung mit der Schlagsucht in Bezug auf die Aetiologie zusammen, indem sie die erste als eine chronische Form, und die zweite als eine akute Form auffassen⁸⁾, obwohl sie auch anerkennen, daß bei der Auszehrung die Mikrokokken in vorwiegender Weise gegen die Bacillen auftreten⁹⁾.

Bloß die neueren Arbeiten von Lo Monaco, von Giorgi und Falleroni (l. c.) kommen zu positiven Schlüssen in Bezug auf diese Krankheit, indem sie behaupten, daß der *Streptococcus* die wahre Ursache der Auszehrung darstelle.

Bei diesem Auseinandergehen der Meinungen nahmen wir auch uns vor,

1) Cuboni, G. e Garrini, A., *Sopra una malattia del gelso in rapporto alla flaccidezza*. (Atti Acc. dei Lincei. Roma 1890.)

2) Voglino, P., *Ricerche intorno alle macchie nere delle foglie del gelso ed alla flaccidezza del baco da seta*. (Il coltivatore di Casalmoferrato. Anno XL. 1894. No. 39.)

3) Macchiati, L., *Contribuzioni alla biologia dei batteri dei bachi affetti da flaccidezza*. (Le stazioni sperimentali Ital. Vol. XXI. 1891. Fasc. 2.)

4) Sawamura, *Sulla flaccidezza del baco da seta*. (Bull. Agricolt. Colleg. Tokio. Imp. Univ.)

5) Lo Monaco, *Studi sperimentali sul bombyx mori*. Roma.

6) Giorgi e Falleroni, *Ricerche intorno alla macilenzza e flaccidezza del baco*. (Laborat. Sanità pubblica. Roma 1904.)

7) Nomura, I. R., *Stazione bacologica di Tokio*.

8) Vlacovich e Verson, *Indagini sulla malattia del baco denominata flaccidezza*. (Rel. III. Congr. Bac. Padova 1872.)

9) Verson e Quaiat, *Il filugello e l'arte sericola*. Verona (Drucker) 1896.

uns mit der Frage zu beschäftigen, in der Absicht, die bisherigen Untersuchungen nachzuprüfen und möglicherweise neue Daten zur Aufhellung des Gegenstandes zu liefern.

* * *

Zunächst war es unser Vorhaben, die Bakterienflora des Darmes von an Schlafsucht sowie an Auszehrung gestorbenen Seidenraupen genau zu untersuchen. Bei der Schwierigkeit, infolge der Kleinheit und Zartheit dieser Tiere, diese Flora systematisch für jedes Organ zu studieren, haben wir die Methode angewandt, Emulsionen aus toten Raupen in sterilen Gefäßen und Flüssigkeiten zu machen, um dann Plattenkulturen in Agar und Gallerte zu machen. Auf diese Weise und mittels Kontrollversuchen mit Emulsionen aus gesunden Raupen waren wir in der besten Lage, die für die Schlafsucht sowie für die Auszehrung spezifischen Mikroorganismen zu Tage zu fördern. Die Technik war folgende: Die kaum gestorbenen Raupen wurden sorgfältig mit destilliertem und sterilisiertem Wasser ausgespült, dann in einem sterilisierten Mörser zerrieben; hierauf wurde ebenfalls sterilisierte physiologische Lösung hinzugefügt. Die so erhaltene Emulsion wurde durch Watte filtriert und mit dem Filtrat wurden Aussaaten ausgeführt. Aus allen mit Emulsionen aus schlafsuchtigen Raupen sowie aus an Auszehrung gestorbenen Raupen gemachten Kulturen erhielten wir immer die Entwicklung verschiedener Bacillen und eines Streptococcus, welchen wir wegen seiner beständigen Gegenwart und seiner kulturellen sowie morphologischen Merkmale für den Streptococcus bombycis der anderen Verfasser (Flügge) halten.

Wir wollen sofort erwähnen, daß bei den mit diesen Raupenemulsionen gemachten mikroskopischen Präparaten der Streptococcus sehr viel reichlicher bei der Auszehrung vorhanden war, als bei der Schlafsucht. Diesen Streptococcus erhielt man auch in einer gewissen Häufigkeit und fast immer in Reinkultur aus der Aussaat von Blut aus schlafsuchtigen oder an Auszehrung erkrankten Raupen.

Ferner müssen wir erwähnen, daß es trotz sorgfältigster und wiederholter Untersuchungen an einer sehr erheblichen Raupenzahl (wir haben selbst histologische Untersuchungen ausgeführt) uns niemals gelang, solche Bacillen zu isolieren, die in ihrer pathogenen Wirkung denjenigen ähnelten, von denen Lo Monaco und Giorgi, sowie Nomura sprechen und die sie als Ursache der Schlafsucht auffassen.

* * *

Streptococcus bombycis. Morphologische Merkmale: Zeigt sich in der Raupe sowie in der Kultur unter der Form von kurzen Kettchen aus kleinen Kokken von $0,89 \mu$ Durchmesser, die Kettchen schwanken von $5,01$ — $11,99 \mu$ Länge. Färbt sich sehr gut mit Anilinfarben und nimmt Gram auf.

Kulturelle Eigenschaften. Gelatine: In den Plattenkulturen entwickeln sich binnen 3 Tagen runde, kleine, grau-gelbliche, scharf konturierte, nicht aus der Oberfläche herausragende Kolonien; der Inhalt feinkörnig; verflüssigt die Gelatine nicht. Gleiche Eigenschaften auf den Oberflächen- wie den Tiefenkolonien.

In Stichpräparaten entwickelt er sich in der Gallerte binnen 2 Tagen dem Stichkanal entlang unter der Form eines mattweißen, nicht verflüssigenden, mit Punkten versehenen Bändchens; an der Oberfläche ist die Entwicklung gleich Null.

Agar. Zeigt sich in den Agarplattenkulturen als kleine, runde, mit schwach wellenförmiger Kontur versehene, tiefbraun gefärbte, feinkörnige, feuchte Kolonien, die aus der Agaroberfläche schwach herausragen und keine große Neigung, zusammenzufließen, aufweisen.

In den Strichkulturen in Glycerinagar bei 37° C erhält man nach 10 Stunden die Entwicklung eines ganz dünnen Schleiers, welcher nach langer Zeit wie Opal weiß wird; diese Farbe geht in die ersten darauffolgenden Ueberpflanzungen über, sowohl im einfachen Agar, wie im Glycerinagar.

In Agar + Meerschweinchen- oder Raupenblut sowie in Agar + Eigelb entwickelt er sich gut mit Glycerinagar ähnlichen Merkmalen.

Bouillon. In Bouillon bei 37° C erhält man nach ungefähr 12 Stunden eine merkliche Trübung, ohne Flockenbildung; nach längerer Zeit setzt sich die Kultur ab, indem sie die überstehende Flüssigkeit völlig klar läßt. Dasselbe gilt für die Kulturen in Glycerinbouillon. In Bouillon + Eigelb entwickelt er sich ebenfalls gut; in Bouillon, mit Laktose und Kohlensäure versetzt, bemerkt man keine Gasentwicklung, auch nach langem Aufenthalt im Wärmekasten. In mit Glykose versetzter Bouillon ist die Entwicklung ebenfalls üppig; es entwickelt sich kein Gas und die Bouillonreaktion bleibt unverändert.

In schräg erstarrtem Pferdeblutserum entwickelt sich eine sehr feine, kaum merkliche undurchsichtige Patina.

Kartoffel gibt eine Patina, deren Farbe in der Kartoffeloberfläche selbst verschwindet; erst nach einigen Tagen, dem Lichte ausgesetzt, nimmt sie eine schwach graue Färbung auf.

Auf der Glycerinröbe entwickelt er sich gut, ohne besondere Merkmale.

In Milch entwickelt er sich, ohne sie gerinnen zu lassen.

Im Heu- und Maulbeerblätterinfus erhält man ebenfalls nach 24 Stunden eine üppige Entwicklung.

Anaërob entwickelt er sich ebenso wie in Berührung mit Luft, ohne daß seine morphologischen Eigenschaften dadurch verändert werden. Das Temperaturoptimum ist bei 37° C, doch entwickelt er sich auch gut bei 20° C.

Die zum Nachweis des Indols nach der Methode Kitasatos ausgeführten Proben führten zu einem negativen Ergebnis.

Vitalität und Widerstandsfähigkeit. Der Streptococcus behält in den Kulturen eine ziemlich lange Zeit seine Lebensfähigkeit, unter den Bedingungen, daß derselbe im Dunkeln aufbewahrt wird und seine Austrocknung verhindert wird. Nach 8 Monaten konnten wir aus Agarkulturen noch üppige Ueberpflanzungen bekommen.

Er zeigt sich gegen die Antiseptika nicht allzu sehr empfindlich. Die Versuche wurden nach der Methode Simonettas ausgeführt; es ergab sich, daß eine 1-proz. Phenollösung ihn nicht einmal nach 10 Minuten Einwirkung tötet, während derselbe Streptococcus von einer 2-proz. Lösung nach 5 Minuten Einwirkung getötet wird. Das Sublimat in einer 5-prom. Lösung vernichtet ihn nicht, selbst nach 10 Minuten langer Einwirkung, während die 1-prom. Lösung ihn innerhalb 5 Minuten tötet.

Bei 65—70° C stirbt er nach 15 Minuten.

Er tritt, wie gesagt, beständig bei allen auszehrungs- und schlaffsuchtkranken Raupen auf, ebenso mit einer gewissen Häufigkeit bei der Gelb- und Kalkkrankheit. Ferner haben wir ihn auf der Haut von gesunden Raupen gefunden, die aus zweifellos nicht infizierten Gegenden stammten, und haben ihn auch erhalten durch Ausschabung der Haut

mittels eines sterilen Messers und durch Ueberpflanzung des Materials in Agarröhren.

Wir wollen noch bemerken, daß zum Unterschied von dem aus kranken Raupen isolierten Streptococcus dieser im Agar eher spärlich wuchs, und bloß nach Zusatz von sterilem Blut aus gesunden Raupen zu diesem Nährmittel konnte man eine üppige Entwicklung erzielen.

* * *

Pathogene Wirkung. Die ausgeführten Versuche bestanden in der Inokulation des Streptococcus in das Dorsalgefäß, die Verdauungsorgane und Stigmata der Raupen, und das zur Beseitigung jedes Zweifels bezüglich des Eindringens der Mikroorganismen verwendete Versuchsvorgehen war folgendes: In das Blut wurden sie durch das Dorsalgefäß eingeführt; nach vorangehendem sorgfältigsten Auswaschen und Desinfektion der Einführungsstelle spritzte man die Reinbouillonkultur des Mikroorganismus ein, unter Anwendung einer fein zugespitzten Pipette, und von der Kultur mehrere Tropfen; nach Entfernung der Pipette verschloß man die kleine Oeffnung mit ein wenig elastischem Kollodium. Dieses Versuchsvorgehen hat vortreffliche Ergebnisse gegeben, da nach einer gewissen Uebung niemals zufälliger Tod infolge des Einstiches zu beobachten war. Ferner haben wir zur Beseitigung des Zweifels, daß der Tod infolge von Einführung von Fremdflüssigkeiten in den Organismus eintreten könnte, einer Raupenreihe durch dieselbe Methode sterile Bouillon inokuliert; das Resultat ist beständig negativ gewesen.

Zur Infektion des Darmkanals sind wir folgendermaßen verfahren: Die Raupe wurde mit dem Kopf leicht zwischen zwei Fingern gehalten und mittels einer fein zugespitzten Pipette brachte man ein Tröpfchen der Bouillonkultur auf die Mundöffnung; die Raupen nahmen die Flüssigkeit mit einer gewissen Gierigkeit zu sich, besonders vor der Mahlzeit, und die Tropfen folgten sich dann nacheinander, bis die Tiere etwa 10 davon hinuntergeschluckt hatten. Auf diese Weise war man sicher, daß die Raupe ausschließlich in ihren Darmwegen infiziert worden war.

Zur Infektion der Haut und der Stigmata wurden zuvor ausgekochte Pinsel verwendet, die man nach Tränkung mit den Kulturflüssigkeiten durch den Körper streichen ließ¹⁾.

Diese Manipulationen wurden zweimal täglich ausgeführt, mit Ausnahme der Injektionen, die man nicht wiederholte.

1) Sofort bemerken wir, daß dieser Infektionsmethode nicht die größte Bedeutung beigemessen wurde, da es absolut unmöglich war, daß die Raupen nicht miteinander kommunizierten oder die Maulbeerblätter nicht mit der Kultur beschmutzten, und daß mithin ihre Mundöffnung und infolgedessen der Darmkanal nicht infiziert wurden.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu L. Karwackis „Beitrag zur Kenntnis der Geschwulstflora“.

Von Prof. Dr. M. Schüller.

Trotz meines Widerstrebens sehe ich mich genötigt, zu obigem in diesem Centralbl. Orig. Bd. XXXIX. Heft 4 erschienenen Artikel einige Bemerkungen zu machen. Bei der Erwähnung seiner gelegentlichen Beobachtung von „Schüllers Parasiten“ gibt K. eine kurze Beschreibung meiner angeblichen Beobachtungen derselben, welche sich, wie sich leicht jeder selber überzeugen kann, in keiner Weise mit meiner tatsächlichen Darstellung deckt, ganz abgesehen von der ganz unvollkommenen Vorstellung Karwackis von den verschiedenen Formen, welche ich (in den verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung) als Krebsparasiten anspreche. Seine Mitteilungen lassen nicht erkennen, ob er die ersten Vorbedingungen bei seinen Versuchen erfüllte, welche ich als unerläßliche für die Gewinnung der von mir kultivierten Parasiten aus Krebs- und Sarkomgeschwülsten ansehe, ebensowenig ob nur solche Geschwülste zu Kulturversuchen benützt wurden, deren Bedeckung intakt, unverletzt, nicht geschwürig zerstört war, ob wesentlich aus frischen, wuchernden, noch nicht degenerierten oder nekrotischen Teilen der Geschwulst die Stücke entnommen wurden. Die bloße Ausschneidung mit dem Paquelin ohne Rücksicht auf die oben erwähnten Verhältnisse genügt nicht, um ein richtiges Bild der Geschwulstflora zu gewinnen. Zumal bei den Geschwülsten innerer Organe sind Verletzungen, geschwürige und nekrotische Veränderungen so häufig, daß fremde, zumal pflanzliche Parasiten der verschiedensten Art leicht eintreten und daraus auch kultiviert werden können. Doch gehören dieselben gewiß nicht zur „Geschwulstflora“. — Wenn K. nun von den Dingen, welche er für „Schüllers Parasiten“ hält, bemerkt, daß sie sich durch „Knospung teilen“, daß sie bei Färbungen „verschwanden“, und im Zweifel bleibt, ob es Parasiten oder Produkte der „Degeneration und des Zellenzerfalls“ sind, so habe ich den Eindruck, daß er kaum meine Parasiten gesehen haben kann. Eine Kultur meiner Parasiten ist ihm sicherlich nicht gelungen, wäre auch wohl kaum möglich bei seinen Anordnungen zur Kultur, soweit sich dieselben aus seinen Angaben entnehmen lassen. Ich bemerke, daß Kulturen meiner Parasiten neuerdings Ritter gelangen (v. Langenb. Arch. Bd. LXXVII). Wenn K. ferner meint, daß mir „die Belege fehlten, welche die Genese dieser Gebilde erklären und sie speziell als Parasiten zu erklären erlaubten“, so bestärkt mich das in meiner Vermutung, daß ihm weder meine erste größere Mitteilung, noch meine folgenden Veröffentlichungen, ja nicht einmal die im gleichen Centralblatt erschienenen inhaltlich, geschweige denn genau bekannt sind. Da ich mich nicht, wie K., eben erst, sondern seit über 6 Jahren mit diesen Untersuchungen beschäftige, muß ich ganz ernstlich gegen derartige oberflächliche Bemerkungen Verwahrung einlegen, zu welchen ich niemand, am wenigsten aber K. nach seinen hier mitgeteilten Beobachtungen über „Schüllers Parasiten“, eine Berechtigung zuerkennen kann.

Nachdruck verboten.

Blutparasiten bei Fledermäusen.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. Kossel).]

Von Dr. **Karl Kisskalt**,
Privatdozenten und Assistenten des Institutes.

Im März d. Js. erhielt unser Institut einige Dutzend Fledermäuse, die bei dem Umbau eines Hauses in einem Loche einer Mauer gefunden worden waren. Sämtliche gehörten zu der Art *Vesperugo pipistrellus*. Auf Anraten von Herrn Prof. Dr. Kossel untersuchte ich sie auf das Vorhandensein von Blutparasiten. Schon die ersten Untersuchten zeigten auffallend viele und zwar zwei verschiedene Arten: ringförmige Parasiten in den Blutkörperchen und Trypanosomen. Von 40 untersuchten Fledermäusen waren 18 mit ersteren, 4 mit letzteren, eine mit beiden infiziert, während 17 von beiden Formen frei waren. Ganz genau können diese Angaben jedoch nicht sein; von den infiziert gefundenen beherbergten einige nur ganz vereinzelte Parasiten im Blut und es ist nicht ausgeschlossen, daß auch unter den anscheinend freien Tieren sich doch noch infizierte befanden. Eine größere Anzahl konnte leider nicht mehr untersucht werden, da mit dem Beginn wärmeren Wetters der Winterschlaf aufhörte und Futter für die Tiere nicht zu erlangen war.

Irgendwelche Krankheitssymptome waren an den Tieren nicht zu bemerken. Zwar waren die einen lebhafter, die anderen schläfriger, doch war hierin kein Unterschied zwischen infizierten und nichtinfizierten zu erkennen. Bei der Sektion der mittels Chloroform getöteten Tiere wurde bei den mit Ringen infizierten als einzige, aber regelmäßige Veränderung die Milz vergrößert gefunden, während sie bei den mit Trypanosomen infizierten stets normal war. Der Winterschlaf schien schon ziemlich beendet zu sein; wenigstens wurde in der Bauchhöhle nur sehr wenig Flüssigkeit gefunden. Während des Winterschlafes wird nämlich das Blut eingedickt, indem sich eine große Menge Exsudat in die Bauchhöhle ergießt (1). Die Blutentnahme am lebenden Tiere geschah an der Oberarmvene, die zwischen dem Knochen und der großen Sehne leicht aufzufinden ist. Die Deckglaspräparate wurden in Alkohol fixiert und in Giemsa-Lösung eine Stunde lang gefärbt.

1. Ringförmige Parasiten.

Die ringförmigen Parasiten wurden in den Tieren in sehr verschieden großer Menge aufgefunden. Bei einzelnen Fledermäusen war etwa jedes dritte rote Blutkörperchen infiziert, bei anderen konnten nur mit Mühe vereinzelte entdeckt werden. Im ungefärbten Präparate erscheinen sie scheibenförmig; die kleineren zeigen amöboide Bewegungen. Gefärbt erscheinen sie außerordentlich mannigfaltig — innerhalb einer gewissen Grenze. Die einfachste, sehr häufig vorkommende Form ist die eines kleinen Ringes aus blaugefärbtem Protoplasma mit einem Chromatinkorn. Das Protoplasma ist an einer Stelle verbreitert, nicht regelmäßig gegenüber dem Kern. Manchmal ist auch das Zentrum der verbreiterten Stelle ungefärbt, so daß sie ebenfalls ringförmig aussieht, oder es wird einfach ein kurzer Ausläufer in die Mitte des Ringes entsendet. Die Größe eines solchen Ringes beträgt etwa $\frac{1}{6}$ des Durchmessers eines Blutkörperchens.

Die Ringe finden sich meist einzeln in diesem; doch treten sie auch zu zweien auf, sowohl voneinander entfernt als auch dicht aneinander gelagert. Hier hatte einmal auch das Chromatinkorn eine ringförmige Gestalt. — Eine so regelmäßige Gestalt ist nur den kleinsten Formen eigen. Bei größeren Formen wurde niemals ein einfaches rundes Chromatinkorn beobachtet, und auch die Gestalt des Protoplasmas ist meist stark verändert. Am meisten dem geschilderten Bilde ähnlich sind die etwas größeren Ringe ($\frac{1}{3}$ des Durchmessers eines roten Blutkörperchens), bei denen mehrere Chromatinkörner in Ketten oder in einiger Entfernung voneinander auf dem Protoplasmaringe liegen, während dieser nur in seinen Größenverhältnissen gegen die zuerst geschilderten Formen verändert ist. Diese Formen führen über zu anderen, bei denen das Chromatin über das ganze ringförmige Band verbreitet ist, während das Protoplasma an Menge dagegen zurücktritt. Besonders häufig sind aber Formen, bei denen ein solcher großer Ring in seiner Gestalt verzerrt ist; meist ist er in die Länge gezogen, so daß die eine Seite spitz, die andere rund erscheint. An dieser verzerrten Lage nimmt sowohl das Protoplasma als auch das Chromatin teil, das in verschiedenen großen Klumpen, meist durch Protoplasma verbunden, im Ringe liegt. Fast stets findet man mehrere solcher Gebilde in einem Blutkörperchen. Schließlich sind noch Formen zu sehen, bei denen Chromatinkörnchen in einer Zahl von etwa 8—10 über das ganze Blutkörperchen zerstreut sind; doch auch hier ließ ein Rest von Protoplasma oft noch die Ringform erkennen. Der innerhalb des Ringes liegende Teil des roten Blutkörperchens war oft ungefärbt, oft schlechter gefärbt als der übrige Teil, oft ebenso stark gefärbt. Derartige Unterschiede konnten in demselben Blutkörperchen beobachtet werden, wenn verschiedene Ringe darin lagen. Sonstige Veränderungen ließen sich an den Blutkörperchen niemals nachweisen; auffallend war mir das ziemlich häufige Auftreten der polychromatophilen, dagegen waren solche mit einem Kernrest relativ spärlich. Pigment wurde niemals gesehen.

Bilder, die an den Zerfall der Malariaparasiten erinnern, wurden nie gefunden; die Entwicklung des Parasiten dürfte also in der Weise vor sich gehen, daß die kleinen Ringe sich zu großen mit vielen Chromatinkörnern entwickeln, dann zerfallen und nun die dabei entstandenen Körperchen in neue Blutkörperchen eindringen und denselben Zyklus wieder durchmachen. Einen strikten Beweis für diese Anschauung kann ich allerdings nicht beibringen, da es mir nicht möglich war, am lebenden Objekte im geheizten Mikroskop derartige Veränderungen zu beobachten. Die Parasiten zeigten allerdings, wie erwähnt, amöboide Bewegungen, aber keine wesentlichen Vergrößerungen der Gestalt.

Ausstrichpräparate aus den Organen ergaben nichts Auffallendes. Ihr Reichthum an Parasiten entsprach ungefähr ihrem Blutgehalt; speziell konnten Anhäufungen in Gehirn und Milz nicht konstatiert werden.

Bei der großen Wichtigkeit, die den Protozoen als Krankheitserreger zuzukommen scheint, war es auch interessant, zu sehen, welches die geeignetste Methode zur Darstellung der Parasiten im Schnitte wäre. Es wurden zwei Herzen von Tieren, die stark infiziert waren, in Alkohol resp. Sublimat fixiert und die erhaltenen Schnitte (Paraffineinbettung) durch Kapillarattraktion aufgeklebt. Gefärbt wurde mit Hämatoxylin-Eosin, Eisenhämatoxylin (Heidenhain), Giemsa, polychromem Methylenblau, Fuchsin, Weigertscher Lösung zur Färbung elastischer Fasern und

Bestschen Lithium-Ammoniakkarmin, das bei histologischen Untersuchungen von allen Karminfärbungen die besten Resultate zu geben pflegt. Die meisten Färbungsmethoden erwiesen sich als ungenügend; gute Bilder ergaben sich nur bei Färbung mit Fuchsin und mit polychromem Methylenblau, besonders nach Vorbehandlung mit Orcëin (9). Die Parasiten erschienen in den Schnittpräparaten ebenso wie die Blutkörperchen etwas kleiner, zeigten aber sonst keine Besonderheiten.

Ueber endoglobuläre Blutparasiten bei Fledermäusen konnte ich in der Literatur nur die Arbeiten von Dionisi (2, 3) finden. Dieser beschreibt drei Arten, von denen zwei Pigment bilden, während die dritte, bei *Vesperugo noctula* gefunden, nach der Beschreibung und den Abbildungen mit der unseren identisch ist. Besonders sind es die für die Periode nach dem Winterschlaf beschriebenen Parasiten, bei denen dies zutrifft, eine Tatsache, mit der ja die bei den Sektionen gemachte Erfahrung übereinstimmt.

2. Trypanosomen.

Trypanosomen fanden sich bei bedeutend weniger Tieren und auch hier nur in geringer Anzahl. Durch ihre Größe und ihre lebhaftere Bewegung waren sie leicht zu entdecken. Im ungefärbten wie im gefärbten Präparate unterschieden sie sich von den Rattentrypanosomen durch ihre geringere Größe und ihre Schlankheit. Der Kern liegt am Ende des vorderen Drittels, der Blepharoplast auffallend weit hinten; im gefärbten Präparat schien er sogar zum Teil außerhalb des Körpers zu liegen. Das Protoplasma ist stark granuliert, die undulierende Membran bietet keine Besonderheiten. Die Trypanosomen waren stark gekrümmt, doch nicht in so hohem Maße, wie dies Petrie (4) beschreibt. Vielleicht liegen hier ähnliche Verhältnisse vor wie bei den Rattentrypanosomen, wo stark gekrümmte Formen, besonders in seit langem infizierten Tieren gefunden werden (5, p. 353). Die Bewegung war, wie bei anderen Trypanosomen, durch ein heftiges Peitschen der am vorderen Ende befindlichen Geißel bedingt; doch war auch hier eine bedeutendere Lokomotion nicht zu konstatieren. Nur in einem Präparate wurde eine Ausnahme hiervon beobachtet. Es handelte sich um eine Fledermaus mit ziemlich vielen Trypanosomen. In einem am Vormittag angefertigten Präparate waren lange Formen von so schneller Eigenbewegung vorhanden, daß die Gestalt überhaupt nicht erkannt werden konnte. Im allgemeinen hatte man den Eindruck, daß sie sehr dünn und fadenförmig sein müßte; nur bei einer, die eng von Blutkörperchen umgeben war und manchmal zur Ruhe kam, gelang es für Momente zu erkennen, daß die Gestalt die einer Spirochäte war, an beiden Enden etwas zugespitzt und in der Mitte wenig verdickt. Diese Formen bewegten sich mit großer Schnelligkeit zwischen den Blutkörperchen hindurch, zwar nicht konstant nach einer Richtung, doch so, daß sie schon nach ganz kurzer Zeit aus dem Gesichtsfelde verschwunden waren. Im gefärbten Präparate waren Spirochäten nicht zu sehen; dagegen fanden sich neben den typischen Trypanosomen sehr schlanke, schmale, etwas längere Formen mit einem Kerne, der etwas in die Länge gezogen und aus einzelnen Punkten bestand; von ihm aus erstreckte sich Chromatinsubstanz nach dem vorderen Ende. Solche Formen entwickelten sich nicht erst außerhalb des Körpers, sondern waren schon in Präparaten zu sehen, die direkt nach der Entnahme schnell angetrocknet waren. Sie waren spärlicher vorhanden als die gewöhnlichen Formen. Da im

gefärbten Präparate trotz der langen Färbung (1 Stunde) keine anderen verdächtigen Formen gefunden wurden, dürften dies wohl die lebhaft beweglichen Protozoen sein. Vielleicht sind diese merkwürdigen Formen identisch mit den von Durham (5), im Magen einer *Stegomyia fasciata*, die an einer Fledermaus gesogen hatte, gefundenen, von denen er berichtet, daß sie ganz abweichend gewesen seien von den bisher bekannten Säugetiertrypanosomen, die er aber nicht näher beschreibt. Abgesehen von diesen Formen, wurden noch höchst spärlich Trypanosomen gefunden, deren Körper verbreitert war und sich ganz hellrot färbte; der Kern färbte sich nur noch stellenweise.

Kulturversuche wurden mit den Trypanosomen auf Blutagar nach Smedley (7) angestellt, jedoch mit negativem Resultate. Es ist dies nicht weiter zu verwundern, denn auch die Kultur der gewöhnlichen Trypanosomen gelingt schwer aus Blut, in dem sie nur spärlich vorhanden sind, z. B. aus Kaninchenblut und ebenso aus Blut von kleinen Tieren, da hier die Aussaat nur gering ist. In unserem Falle kamen beide Uebelstände zusammen.

Trypanosomen wurden bisher in Deutschland im Blute von Fledermäusen noch nicht gefunden. In Italien wiesen sie Dionisi (2), Testi (8) und Sambon (zit. nach Petrie), in Pará Durham (6), in England Petrie (4), in Madras Donovan und in Nordafrika Sargent (beide zit. nach Petrie) nach, letzterer eine große und eine kleine Art. Die von Petrie gefundenen dürften mit den unseren identisch sein, nur zeigte ihr Protoplasma keine Granula; bei den übrigen sind die mir zugänglichen Beschreibungen zu kurz, als daß sich ein sicheres Urteil fällen ließe. Sie wurden in verschiedenen Arten von Fledermäusen nachgewiesen.

Schluß.

Das Vorkommen der ringförmigen Parasiten und der Trypanosomen bei einem Tiere ließ daran denken, daß beides nur verschiedene Formen des Entwicklungszyklus einer und derselben Art seien. Auf diese Möglichkeit wies eine Arbeit von Schaudinn (9) hin. Darauf gerichtete Untersuchungen ergaben kein Resultat. Die Parasitenformen im Blute eines Tieres waren zur Tages- und zur Nachtzeit stets dieselben; auch nach der Entnahme entwickelten sich bei der Beobachtung im geheizten wie im ungeheizten Mikroskop keine neuen Formen, weder bei Tage noch bei Nacht, selbst bei stundenlanger Beobachtung.

Auch der Modus der Uebertragung konnte nicht aufgeklärt werden. Von Ektoparasiten wurden an den Fledermäusen nur zwei Flöhe gefunden; ihre Untersuchung ergab nichts Verdächtiges. Anophelen gelang es mir im letzten Sommer in der Gegend von Gießen nicht nachzuweisen¹⁾; auch können sich die von Dionisi gefundenen ringförmigen Parasiten in diesem Mosquito nicht entwickeln. Es kommen also für die Uebertragung dieser Mikroorganismen wohl Culiciden in Betracht, für die Trypanosomen aber vermutlich Läuse, die ja nach den Untersuchungen von Prowazek (5) die einzigen Vermittler der Uebertragung der Rattentrypanosomen sind.

1) Anm. bei der Korrektur: Im Sommer 1905 gelang es mir unter über 100 untersuchten Culiciden einen *Anopheles maculipennis* ♀ aufzufinden.

Literatur.

1) Zuntz, Ueber den Winterschlaf der Tiere. (Naturwissenschaftl. Wochenschr. 1905. p. 145.) — 2) Dionisi, Ein Parasit der roten Blutkörperchen in einer Fledermausart. Ueber endoglobuläre Parasiten bei den Fledermäusen. (Moleschotts Untersuchungen zur Naturlehre des Menschen und der Tiere. Bd. XVI. p. 531.) — 3) Derselbe, Die Malaria einiger Fledermausarten. (Ebenda. Bd. XVII. p. 280.) — 4) Petrie, Observations relating to the structure and geographical distribution of certain trypanosomes. (Journal of hygiene. Vol. V. p. 191.) — 5) Prowazek, Studien über Säugetiertrypanosomen. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXII. p. 351.) — 6) Durham, zit. nach Baumgartens Jahresbericht. 1902. p. 706. — 7) Smedley, The cultivation of trypanosomata. (Journal of hygiene. Vol. V. p. 24.) — 8) Testi, ref. dieses Centralblatt. Referate. Bd. XXXIV. p. 66. — 9) Schaudinn, Generations- und Wirtswechsels bei Trypanosoma und Spirochaete. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XX. p. 387.) — 10) Zieler, ref. dieses Centralblatt. Referate. Bd. XXXIV. p. 462.

Nachdruck verboten.

Das Genus *Diploposthe* Jacobi.

Von Dr. O. Fuhrmann, Académie Neuchâtel.

Von diesem interessanten, von Jacobi¹⁾ (1897) begründeten Genus sind bis jetzt 3 Arten bekannt geworden. Da ich das Originalmaterial dieser Arten in meinem momentanen Besitze habe, so lohnt es sich, wie sich im folgenden zeigen wird, der Mühe, diese Formen auf Grund eigener Untersuchungen miteinander zu vergleichen. Außerdem bin ich in der Lage, auf Grund des Studiums des Originalmaterialies von *T. bifaria* v. Siebold nachzuweisen, daß diese Art nichts anderes als *D. laevis* ist. Am Schlusse der Arbeit werde ich zunächst *T. trichosoma* v. Linst. und dann *T. tuberculata* Krefft mit *D. laevis* vergleichen und zeigen, daß ersterer Cestode wohl identisch mit *D. laevis*, letzterer aber, wenn nicht *D. laevis* selbst, sicher eine *Diploposthe* ist.

Das systematische Resultat meiner Untersuchung vorwegnehmend, gestaltet sich die Synonymie von *Diploposthe laevis* folgendermaßen:

Diploposthe laevis Bloch 1782 (Dies. 1850),
T. bifaria v. Siebold 1848²⁾,
Diploposthe lata Fuhrmann 1900³⁾,
Diploposthe sui generis Kowalewsky 1903,
T. trichosoma v. Linstow 1882 (?)⁴⁾,
T. tuberculata Krefft 1872 (?)⁵⁾.

Dieser Cestode kommt in zahlreichen Enten vor; v. Linstow gibt in seinem Compendium 14 Arten an, welchen ich als neue Wirte beifügen kann *Aythya africana* Gm. und *Erismatura leucocephala* (Scop). Es sind somit folgende Genera als Wirte von *Diploposthe laevis* vertreten: *Anas*, *Nettion*, *Queerequedula*, *Branta*, *Spatula*, *Netta*, *Aythya*,

1) Jacobi, Arnold, *Diploposthe laevis*, eine merkwürdige Vogeltänie. (Zoolog. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. X. 1897.)

2) Siebold, C. Th. v., und Stanius, Lehrbuch der vergleichenden Anatomie. 2 Bde. Berlin 1848. p. 147 Anm.

3) Fuhrmann, O., Neue eigentümliche Vogeltänien. (Zoolog. Anz. Bd. XXIII. p. 50.)

4) Linstow, O. v., Helminthologische Studien. (Arch. f. Naturgesch. Jahrg. XLVIII. 1882.)

5) Krefft, G., On australian Entozoa. (Transact. entomolog. sc. New South Wales. Vol. II. 1873.)

Fuligula, *Clangula*, *Oedemia*, *Cygnopsis*, *Chanlelasmus*, *Erismatura*. Alle Wirtstiere unseres Cestoden bewohnen die nördliche Hemisphäre, gehen aber im Winter bis nahe an den Aequator heran, so daß also auch die geographische Verbreitung von *D. laevis* eine weite ist.

Sollte *T. tuberculata* wirklich mit *D. laevis* identisch sein, so würde sich allerdings das Verbreitungsgebiet dieses Cestoden auch auf die südliche Hemisphäre erstrecken.

In nachfolgendem sollen kurz die Divergenzen besprochen werden, welche zwischen den Beschreibungen der einzelnen Autoren bestehen, welche *D. laevis* unter diesem Namen oder einem der obengenannten Synonyme beschrieben haben.

Außere Form: *D. laevis* ist eine Tänie von bedeutender Größe, indem sie das bei Vogelcestoden seltene Maß von 50 cm erreicht und wohl in ausgestrecktem Zustande noch bedeutend länger ist, so daß Exemplare von 1 m Länge vorkommen können; außerdem ist er dick und, was in den verschiedenen Beschreibungen besonders auffällt, von sehr variabler Breite. Linstow gibt eine Breite von 7 mm, Cohn von 5 mm und Krabbe eine solche von 4 mm an; ich selbst habe Exemplare von 9 mm Breite gesehen, während andererseits gewisse sich in meinem Besitze befindliche Individuen (aus *Erismatura leucocephala*) nur 3 mm messen, obwohl sie reife Proglottiden besaßen. Außer individuellen Verschiedenheiten, die aber gewiß nicht so groß sind, wie es nach obigen Zahlenangaben den Anschein hat, spielt offenbar der Kontraktions- und Erhaltungszustand eine große Rolle und dies besonders bei dieser Tänie, die eine so überaus reich differenzierte und stark entwickelte Parenchymmuskulatur besitzt, Muskulatur, welche nur von Kowalewski¹⁾ ziemlich richtig beschrieben worden ist.

Daß auch die Verschiedenheit der Länge der Proglottis namentlich im Vergleich zur Breite bei diesen Cestoden eine sehr große ist, läßt sich voraussehen. Ungefähr in der Mitte der Strobila, wo der Uterus bereits sich zu füllen beginnt, sind die Maße, wie folgt:

Breite der Proglottis	9	mm,	Länge	0,38	mm	
" "	7	" "	" "	0,47	" "	
" "	4	" "	" "	0,38	" "	
" "	4	" "	" "	1,5	" "	(nach Cohn)
" "	3,4	" "	" "	0,34	" "	
" "	3	" "	" "	0,47	" "	(Typus von <i>D. sui generis</i> Kow.)

Ueber den Scolex existieren leider wenig Angaben, da derselbe an dem meist tot konservierten Materiale bereits abgefallen ist oder da, wo derselbe erhalten, die Autoren es unterlassen, eine genauere Beschreibung oder Zeichnung zu geben. Obwohl ich sehr zahlreiche Exemplare von *D. laevis* in Händen hatte, habe ich nie ein solches mit gut erhaltenem Scolex gesehen. Bei Erwähnung der *D. lata* mihi gab ich an, daß die Bewaffnung in Zahl, Form und Größe der Haken mit *Hym. fasciata* übereinstimme. Der betreffende Scolex aber befand sich mit wenigen Proglottiden losgelöst von der Strobila und hat mir eine spätere genaue Untersuchung und Vergleichung gezeigt, daß Scolex und Strobila nicht zusammengehören und der erstere von einem *Hym. fasciata* stammt, welche also als neuen Wirt *Aythya ferina* bewohnt.

Die Zahl der Haken ist wie bei Dreponidotänien 10, nach v. Linstow 9 und die Größe schwankt zwischen 0,016 und 0,021.

1) Kowalewski, M., *Studia helmintologiczne VII.* (Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie 1903.)

Die Form der Haken des von v. Linstow untersuchten Individuums von *D. laevis* soll etwas verschieden sein und Cohn glaubt deshalb, daß vielleicht eine besondere Art vorliege — sollte der Scolex sich etwa losgelöst von der Strobila vorgefunden haben und einer der 8 in *A. ferina* hausenden Tänien angehören (?). Das Collum longissimum gewisser Autoren ist, wie Cohn bemerkt, ein Irrtum, es scheint ein solches nur bei sehr schlecht erhaltenen Individuen zu existieren.

Von der inneren Anatomie sollen hier nur die Muskulatur und die eigentümlich gestalteten Geschlechtsorgane besprochen werden. In seiner ausführlichen Beschreibung von *D. laevis* sagt Jacobi mit Recht, daß „die Anordnung und Zahl der Längsbündel (besser die Anordnung der Muskulatur überhaupt) von Bedeutung für die Systematik der Vogel-tänien ist; leider hat er es selbst unterlassen, die untersuchte Muskulatur dieses Cestoden genauer zu beschreiben und erst Kowalewski hat diese Lücke durch seine Untersuchung der als neu angesehenen *D. sui generis* ausgefüllt. Gerade die mangelhafte Kenntnis der Muskulatur von *D. laevis* hat mit Recht Kowalewski bestärkt in der Ansicht, daß *D. sui generis* eine besondere Art sei.

Der Vergleich der Schnitte von *D. laevis* (Material Jacobi) und *Diploposthe sui generis* Kowalewski, welches mir von den beiden Autoren in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde, hat mir gezeigt, daß dieselbe ganz identisch ist. Ebenso kompliziert und eigentümlich ist sie bei *D. lata* Fuhrm. und *T. bifaria* v. Siebold gestaltet, so daß an der Muskulatur schon *Diploposthe* erkannt werden kann.

Die Subkutikulärmuskulatur besteht aus Ring- und Längsfasern. Außer den 5 Muskelsystemen, die von Jacobi und später von Cohn beschrieben, sieht Kowalewski noch 3 andere: 1) eine Lage von dünnen, subepithelialen Längsmuskeln, die, wie wir glauben, größtenteils nichts anderes sind als die ausstrahlenden Fasern der Hauptlängsmuskulatur; 2) eine Lage von Diagonalfasern, die sehr deutlich entwickelt, und 3) einen starken Muskelring am Hinterrande der Proglottis. Alle 3 von Kowalewski beobachteten Systeme liegen außerhalb der Längsbündel. Außerdem bemerkt der Verfasser mit Recht, denn ich habe dasselbe auf allen Schnitten ebenfalls konstatiert, daß die inneren Längsmuskeln sich nicht nur in der Mitte der Strobila in beschränkter Zahl sich finden, sondern daß mehrere Bündel auch außerhalb des Wassergefäßsystems anzutreffen sind.

Betrachten wir nun die Muskulatur des Parenchyms etwas näher. Die richtigen Untersuchungsergebnisse der verschiedenen Autoren resumierend und ergänzend, so finden wir folgende ziemlich eigenartige Disposition: Zu innerst liegt eine verhältnismäßig schwache Transversalmuskulatur, welche das Markparenchym vom Rindenparenchym abgrenzt; darauf folgt nach außen eine Reihe von Längsbündeln, welche dorsal und ventral, in der Mitte der Proglottis, in der Region der weiblichen Geschlechtsdrüsen, in der Zahl von je ca. 10 ungleich entwickelten Bündeln verlaufen. Seitlich fehlen die Bündel vollkommen und erst außerhalb des Wassergefäßsystems finden wir wieder 2—3 kleine, nur aus wenigen Fasern zusammengesetzte Längsbündel. Nun folgt die gleichmäßig entwickelte Lage von äußeren Längsmuskelbündeln, welche seitlich nur an der Durchtrittsstelle der Geschlechtsgänge unterbrochen ist. An diesen Muskelbündeln ist mir bei sämtlichem mir zur Verfügung stehenden Material mehr oder weniger aufgefallen, daß diese Bündel eigentlich aus 2 Teilen bestehen, einer nach innen liegenden Hälfte, die aus

wenigen, ca. 10 sehr dicken Fasern besteht, an welchen man namentlich auf den mir von Prof. Jacobi zur Verfügung gestellten Querschnitten einen Hohlraum sieht. Bei der sogenannten *D. lata* ist der Hohlraum weniger groß. Bei den mir von Prof. Kowalewski (*D. sui generis*) zur Verfügung gestellten Schnitten sieht man nichts dergleichen. Solche hohl erscheinende Muskelfasern habe ich auch bei anderen Cestoden bereits getroffen. Es hängt die Deutlichkeit der Erscheinung dieser Eigentümlichkeit offenbar von dem Erhaltungszustand und der Art der Konservierung ab. Die äußere Hälfte des Muskelbündels dagegen besteht aus bedeutend zahlreicheren und viel feineren Muskelfasern. Die Trennung und der Unterschied in den beiden Hälften des Muskelbündels ist besonders scharf und deutlich bei Jacobis und meinem Material, bei den Bündeln von *D. sui generis* und dem Originalmaterial von *T. bifaria* v. Siebold aber ebenfalls sichtbar, wenn auch nicht so auffallend. Nun folgen nach außen Muskelsysteme, welche, wie die inneren seitlichen Längsbündel, von Jacobi und Cohn¹⁾ übersehen worden sind, während sie von Kowalewski im englischen Resumé der leider polnisch abgefaßten Arbeit kurz erwähnt werden. Es ist dies zunächst der am hinteren Proglottidenrande liegende sehr starke und deutliche Muskelring, der auf Querschnitten durch die Strobila etwa 0,032 mm stark ist. Solche Muskelringe am Hinterende der Proglottiden sind bei Vogelcestoden nicht selten, doch ist es in allen von mir beobachteten Fällen (*M. musculara*, *T. depressa*, *H. capitellata*, *H. serpentulus* etc.) die innere Transversalmuskulatur, welche denselben am Hinterende bildet, während der Muskelring hier eine Neubildung ist und eine ganz besondere Lage einnimmt. Auf fast gleicher Höhe mit ihm und von dem Muskelring vollkommen getrennt, findet sich eine feine Lage von Diagonalfasern. Diese Fasern kreuzen den Muskelring, ohne mit ihm in Verbindung zu treten. Zu äußerst findet man auf Querschnitten eine Lage vereinzelter Fasern oder kleinere Bündel, welche wohl größtenteils, wie schon oben bemerkt, nichts anderes sind als von den Längsmuskeln nach der Cuticula ausstrahlende Fasern.

Die Dorsoventralfasern sind sehr zahlreich und zeigen Myoblasten. Bei einer so stark differenzierten Muskulatur ist es nicht wunderlich, daß *D. laevis* auch äußerlich sehr verschiedenen Habitus hat, obwohl ich die Breitendifferenz von 6 mm (Breite Maximum 9 mm, Minimum 3 mm), nicht allein auf Rechnung der Muskulatur setzen will.

Geschlechtsorgane. Jacobi, der das Genus *Diploposthe* aufgestellt und richtig charakterisiert hat, gibt eine ausführliche Beschreibung der Geschlechtsorgane, die in großen Zügen richtig ist, leider aber wird sie durch zu sehr schematisierte Zeichnungen illustriert. Cohn hat diese Beschreibung einer Kritik unterzogen, welche einiger Berichtigungen bedarf, indem demselben offenbar wenig gut konserviertes und anormal gestrecktes Material zur Verfügung stand, was man besonders auch aus den wenig guten Zeichnungen des Autors schließen muß. Dies zieht Cohn offenbar nicht genug in Betracht, wenn er seine Befunde mit denjenigen von Jacobi vergleicht, welche an kontrahierten gut erhaltenen Exemplaren gemacht wurden.

Weibliche Genitalorgane. Der Dotterstock liegt nicht, wie Cohn angibt, „dem dorsalen Rande genähert“, sondern ganz entschieden

1) Cohn, L., Zur Anatomie und Systematik der Vogelcestoden. (Nova Acta, Bd. LXXIX. 1901. p. 421.)

auf der ventralen Fläche am Hinterrande der Proglottis, den spärlichen Transversalmuskeln aufliegend. Es ist, wie Cohn richtig bemerkt, tief gelappt und nicht maulbeerförmig gestaltet. Das Ovarium ist aus kolbigen Eischläuchen zusammengesetzt, welche zwei seitliche, durch eine Querbrücke verbundene Ovarialflügel bilden. Er ist mehr dorsal vor dem Dotterstock gelegen und nicht, wie Cohn beschreibt, am meisten ventral. (Cohn scheint p. 425 mehrmals ventral mit dorsal zu verwechseln.) Ebenso ist die große Schalendrüse dorsal und nicht ventral vom Dotterstock gelegen. Nachfolgende Maße mögen einen Begriff von der Variabilität der Größe der 3 weiblichen Drüsen geben, dies bei ungefähr gleichem Entwicklungszustand der Proglottis.

	Proglottis	Ovarium	Dotterstock	Schalendrüse
7	mm breit	1,1 mm breit	0,47 mm breit	0,16 mm breit
4	" "	0,57 " "	0,25 " "	0,12 " "
3	" "	0,28 " "	0,12 " "	0,6 " "
2,5	" "	0,57 " "	0,23 " "	0,12 " "

Der Verlauf der Geschlechtsgänge ist so, wie er von Cohn beschrieben und von Kowalewski bildlich dargestellt wurde (Fig. 17 loc. cit.).

Ueber die Vagina und den Uterus ist nichts Neues zu berichten; von Inselbildung beim Uterus, wie sie Cohn beschreibt, habe ich nichts gesehen.

Männliche Geschlechtsorgane. Die Hoden dieses Cestoden scheinen eine kurze Lebensdauer zu besitzen, denn oft ist es unmöglich, auf großen Schnittserien durch Proglottiden mit wohlentwickelten weiblichen Geschlechtsorganen auch nur eine Spur zu entdecken. Die Hoden finden sich in der Zahl von 3 und alle 3 sind mit jedem der beidseitigen Cirrusbeutel in Verbindung. Sie sind nach Jacobi und Cohn dorsal am Hinterrand der Proglottis gelegen und zwar hinter den weiblichen Geschlechtsdrüsen. Ich habe diese Stellung der Hoden — die aber in voller Entwicklung fast die ganze Höhe des Markparenchyms einnehmen können — ebenfalls beobachtet bei den mir von Prof. Jacobi gütigst zugestellten Schnitten, bei anderem Material aber beobachtet, daß die Hoden seitlicher liegen können, so daß nicht die Keimstockschläuche vor ihnen liegen. So bemerkte ich z. B. bei dem Originalmaterial von *T. bifaria*, daß ein Hoden links, zwei rechts vom sehr wenig breiten Ovar lagen, in anderen Proglottiden waren zwei links und einer rechts, aber, wie Cohn ebenfalls beobachtet, kann bei derselben Form der mittlere Hoden ganz median hinter dem Dotterstock liegen. Der einzeln stehende Hoden (bald links, bald rechts) ist, wie Jacobi, Cohn und auch ich beobachtet, häufig größer als die beiden anderen. Wir beobachten also eine bedeutende Variation in der Lage der Hoden. Bei *D. sui generis* sagt Kowalewski, daß außer der Muskulatur (die wir nach vergleichender Untersuchung überall identisch gefunden) namentlich auch die Verschiedenheit der männlichen Geschlechtsdrüsen und Vasa efferentia ihn veranlassen, die neue Art zu schaffen. Kowalewski gibt an, daß 3—7 Hoden bei seiner neuen Art sich finden, am häufigsten 5 oder 6. Ich muß gestehen, daß ich auf den mir vom Autor gütigst zur Verfügung gestellten Präparaten, an welchen die Hoden bereits im Verschwinden begriffen, nur 3 oder 4 Hoden deutlich beobachten konnte, d. h. 2 jederseits der Mittellinie, so daß sich also der größere seitliche Hoden in 2 geteilt hätte. Hiermit will ich aber die Beobachtung

1) Das Originalmaterial von *T. bifaria* befindet sich in sehr gestrecktem Zustande.

Kowalewskis keineswegs in Zweifel setzen. Die *Vasa efferentia* sind leider von früheren Autoren nicht näher beschrieben worden, wohl weil sie unsichtbar waren, auch ich kann hierüber nichts berichten. Kowalewski aber sah, daß von einem Hoden mehrere *Vasa efferentia* (2–5) abgehen können, was mir mit der Ungleichheit in der Größe der Hoden darauf hinzuweisen scheint, daß die geringe Zahl derselben vielleicht das Resultat einer Verschmelzung ist. Wir haben es offenbar in dem Exemplare von Kowalewski mit einer interessanten atavistischen Form zu tun, wie Kowalewski selbst vermutet, so daß also trotz der Differenzen keine neue Art vorliegt. Günstig konserviertes Material wird vielleicht auch bei den 3 hodigen Formen eine Mehrheit und Netzbildung der *Vasa efferentia* konstatieren lassen. Die Anastomosen, welche nach Kowalewski die *Vasa efferentia* untereinander bilden, habe ich auch schon öfters bei Davaineen und Vogelanocephaliden beobachtet, aber es ist solches nur in bestimmten Proglottiden und bei besonderem Erhaltungszustand sichtbar, was auch erklärt, daß es bei *D. laevis*, bei welcher übrigens die Hoden eine sehr kurze Existenzdauer besitzen, nur von Kowalewski beobachtet worden ist. Das *Vas deferens* zeigt einige Besonderheiten, welche Jacobi bereits richtig dargestellt hat, während Cohn sich irrt, wenn er sagt, daß seine Fig. 82 und 85 das eigentliche Verhalten wiedergeben; er zieht dabei nicht in Betracht, daß seine Beobachtungen an einem schlecht konservierten, anormal gestreckten Exemplar von *D. laevis* gemacht wurden. Die *Vesicula seminalis* ist, wie Jacobi und Kowalewski beschrieben und ich an 7, aus verschiedenen Wirten stammenden Exemplaren beobachtet habe, keulen- oder birnförmig und dem Ovarium genähert, oft von den äußersten Enden der Keimstockschläuche teilweise bedeckt. Ihre Größe hängt vom Füllungszustand ab und variiert deshalb ziemlich bedeutend. In besonderen Kontraktions- und Füllungszuständen der Strobila kann die *Vesicula seminalis* aber auch, wie Cohn sie darstellt, sehr langgestreckt und knieförmig gebogen sein. Wenn nirgends, so sind, entgegen der Ansicht Cohns, gewiß hier die die *Vesicula seminalis* umhüllenden, in sehr großer Zahl vorhandenen Zellen als Drüsenzellen und nicht als Myoblasten aufzufassen. Und wenn ein muskelloses *Vas deferens*, wie das viel häufiger vorkommt, als man glaubt, von großen Zellen umgeben ist, sehe ich nicht ein, warum dieselben nicht Drüsenzellen sein sollen. Ich bin aber mit Cohn einverstanden, wenn er die den Cirrusbeutel umhüllenden Zellen nicht, wie dies irrtümlich oft geschieht, als Prostatazellen, sondern als Myoblasten auffaßt. Warum aber solche Zellen am Cirrusbeutel auch zum Teil wirkliche Epithelzellen sein sollen, wie Cohn sagt, ist nicht recht klar, da der Cirrusbeutel nicht das Produkt einer Einstülpung oder Wucherung der Epidermis ist, sondern im Parenchym entsteht, anfangs mehr oder weniger entfernt von der Körperoberfläche, mit welcher er sich erst später in Verbindung setzt. Diese epithelartigen Zellen sind, wenn sie nicht Myoblasten und keine Drüsenzellen, bestehengebliebene parenchymatische Bildungszellen des betreffenden Organes. Solche Zellen bekleiden innerlich oder umhüllen äußerlich in gewissen Fällen Uterus, Ovidukt, Vagina, *Receptaculum seminis*, *Vas deferens*, in vielen Fällen verschwinden sie aber sehr früh.

Der Cirrusbeutel zeigt auf den verschiedenen Exemplaren, die mir vorliegen, je nach Größe der Würmer und Kontraktionszustand, verschiedene Größe und Gestalt bei sonst gleicher Entwicklung der Proglottiden.

Wie Cohn richtig bemerkt, liegt innerhalb der mächtigen Längsmuskulatur eine feine Lage von Ringmuskeln, und bei bestimmtem Erhaltungszustand sieht man nach innen eine feine Membran, während außen Myoblasten aufliegen und das Parenchym in nächster Nähe des Cirrusbeutels eigentümlich entwickelt ist. Hier seien einige Maße der Länge des Cirrusbeutels angegeben:

	Breite	Cirrusbeutelänge	
<i>D. laevis</i>	9 mm	0,84 mm	
" "	7 "	0,57 "	
" "	3 "	0,36 "	(Cirrus leicht ausgestülpt)
" "	2,5 "	0,34 "	" " " "
" " (<i>D. sui generis</i> Kow.)	4 "	0,23 "	(Cirrus ganz ausgestülpt)
" " (<i>T. biforia</i> Sieb.)	2,5 "	0,10 "	" " " "

Der Retraktor des Cirrusbeutels ist überall mächtig entwickelt. Das Vas deferens bildet vor seinem Eintritt eine kleine *Vesicula seminalis externa*, um sofort nach ihrem Eintritt zu einer stark muskulösen inneren *Vesicula* sich zu erweitern, die von deutlichen Ringmuskeln umgeben und spindelförmig bis 0,3 mm lang werden, d. h. die halbe Länge des Cirrusbeutels einnehmen kann. Der mächtige Cirrus besitzt eine große Zahl von Retraktoren und ist stark bewaffnet mit Haken, die meist 0,011 mm lang sind (nach Jacobi messen sie 0,004 bis 0,006 mm, nach Kowalewski 0,008 und nach Cohn 0,014 mm).

Systematisches.

Trotz der äußeren Verschiedenheit in der Breite der Strobila sind doch alle die unter verschiedenen Namen beschriebenen Formen auf Grund der Untersuchung des Originalmaterials als identisch zu betrachten. Wenn auch die innere Anatomie in gewissen Grenzen zu variieren scheint, so ist es trotzdem nicht möglich, bestimmte, gut charakterisierte Arten zu unterscheiden.

Eine kurze Besprechung der Synonymie von *Diploposthe laevis* mag hier am Platze sein.

T. bifaria v. Siebold 1848: Vor mir hat Monticelli¹⁾ das Originalmaterial dieser Tänie, die weder von Diesing, noch von Linstow in deren Compendium erwähnt, im britischen Museum untersucht. Siebold fand diese Art in *Aythya africana* (*Anas nyroca*), in welcher ebenfalls *D. laevis* gefunden wurde. Es ist mir nicht recht erklärlich, wie ein so trefflicher Beobachter wie Monticelli die von ihm angegebene und abgebildete Anatomie an diesem Cestoden hat beobachten können. Es muß das betreffende Präparat sehr mangelhaft gewesen sein²⁾, denn von 2 Ovarien, von 2 Hodengruppen ist auf meinen Schnittserien durch denselben Cestoden nichts zu sehen, sondern stimmte derselbe ganz mit *D. laevis* überein, in dem deutlich nur ein Ovarium, ein Dotterstock und im ganzen 3 Hoden vorhanden sind, die allerdings wohl wegen der auffallenden Schmalheit der Strobila kleiner sind, als dies sonst der Fall ist. Diamare hat diese Art auf Grund der Beschreibung von Monticelli in das Genus *Cotugnia* eingereiht, was also nicht zutrifft.

Daß *D. lata* mihi (loc. cit.) mit *D. laevis* identisch ist, habe ich bereits auseinandergesetzt, es ist dieselbe nur eine sehr breite Form von *D. laevis*.

1) Monticelli, Sav., Notizie su di alcune specie dei Taenia. (Boll. della soc. di nat. in Napoli. Vol. V. 1891. p. 151. Fig. 8—13.)

2) Ein in essigsäurem Glycerin aufgehelltes Totalpräparat.

Diploposthe sui generis Kow. ist von ihrem Autor aufgestellt worden auf Grund der besonderen Muskulatur, welche aber nach unserer vergleichenden Untersuchung überall die von Kowalewski angegebene Disposition hat. Ferner soll die Zahl der Hoden statt drei 3—7 betragen. Wir haben ebenfalls bereits auseinandergesetzt, daß diese Zahlendifferenz wohl nicht die Begründung einer neuen Art berechtigt, sondern daß wir hier, wie Kowalewski bereits vermutet, eine interessante atavistische Form vor uns haben; leider fehlt der Scolex, der die Frage entscheiden könnte.

Die von v. Linstow gefundene *T. laevis*, die 7 mm breit, 15 cm lang ist und etwas anders geformte Haken hat, ist wohl, wie schon bemerkt, nicht als eine besondere Art zu betrachten, wie Cohn vermutet. Ebenso scheint mir andererseits die von v. Linstow auf Grund eines ganz jungen Exemplares, das noch keine Geschlechtsorgane aufwies, aufgestellte *T. trichosoma*, aus *Aythya ferina* (in der *D. laevis* ebenfalls gefunden wurde) nichts anderes zu sein als eine junge *D. laevis*, denn wie v. Linstow selbst sagt, sind die Haken in Form und Größe sehr ähnlich denjenigen der typischen *D. laevis*. Allerdings hat v. Linstow deren nur 8 statt 10 gezählt. Daß ein 11 mm langes geschlechtsloses Exemplar noch nicht den äußeren Habitus einer Tānie hat, die 50 cm und mehr lang wird, berechtigt nicht zur Aufstellung einer neuen Art, auch wenn nur 8 Häkchen vorhanden sind, was vielleicht nicht der wirklichen Zahl entspricht.

Monticelli (loc. cit. p. 153) glaubt, daß die von Krefft kurz beschriebene *T. tuberculata* aus *Aythya australis* (Australien, Neuseeland) nichts anderes ist als *T. bifaria*, d. h. *D. laevis*. In der Tat ist der 42 englische Zoll lange und $\frac{1}{2}$ Zoll breite Cestode, von welchem Krefft, wie die zahlreichen Figuren zeigen, stark maceriertes Material vorgelegen hat, sicher eine *Diploposthe*; ob es *D. laevis*, möchte ich nicht sicher behaupten, da das Verbreitungsgebiet letzterer und der des Wirtes von *T. tuberculata* ein ganz verschiedenes ist, indem alle bis jetzt bekannten Wirte von *D. laevis* der nördlichen Hemisphäre angehören.

So hätten wir also im Genus *Diploposthe* eine einzige sichere Art, zu welcher vielleicht eine zweite, Australien angehörende Form hinzukommt.

Nachdruck verboten.

Alexine et Leucocytes.

[Institut pathologique et bactériologique de Liège.
Prof. Firket et Malvoz.]

Par MM. U. Lambotte et T. Stennon.

On ne connaît toujours rien de bien précis sur l'origine de cette mystérieuse substance à laquelle est due la propriété des sérums normaux d'activer les sérums spécifiques contre les hématies et les microbes, l'alexine de Buchner, si bien étudiée dans ses diverses manifestations par notre savant compatriote J. Bordet.

Les récents débats de la section de bactériologie du Congrès de Bruxelles — où étaient représentées les diverses écoles qui s'occupent de ces questions si captivantes — n'ont pas apporté de conclusions définitives. Partisans et adversaires de l'origine phagocytaire des alexines

notamment sont restés sur leurs positions, et le professeur Loeffler a clos la discussion en exprimant le vœu, au nom du Congrès, que de nouveaux faits soient apportés, et que l'on soumette à un contrôle très sévère les données des partisans des différentes thèses soutenues devant l'assemblée.

C'est pour répondre à ce vœu du Congrès que nous avons institué les recherches qui font l'objet de ce mémoire. Ces recherches seront exposées dans l'ordre des questions que nous nous sommes successivement posées.

I.

Au Congrès de Bruxelles, Mr. Metchnikoff s'est attaqué particulièrement à deux travaux récents, ceux de M. Falloise et de l'un de nous (Mr. Lambotte) établissant, d'après des études faites sur l'alexine hémolytique d'une part, l'alexine bactéricide de l'autre, que le complément ou cytase circule librement dans le plasma du sang.

Mr. Metchnikoff a soutenu que le procédé mis en œuvre par Falloise et par nous¹⁾ pour démontrer la présence des cytases dans le sang circulant n'était pas à l'abri de toute critique. Selon lui, les manipulations subies par le liquide sanguin au cours de ces recherches sont de nature à modifier profondément l'intégrité des éléments cellulaires, c'est-à-dire à provoquer la phagolyse ou destruction des leucocytes, phénomène indispensable à la mise en liberté de l'alexine et à son passage dans le milieu liquide ambiant.

Or, le procédé de préparation du plasma, critiqué par Mr. Metchnikoff, était la méthode indiquée par Frédéricq²⁾. On prélève chez l'animal vivant une veine de gros calibre (la veine jugulaire du cheval) et bien gorgée de sang que l'on suspend verticalement. Sous l'influence de la pesanteur le sang se sépare en deux parties nettement délimitées: les éléments solides se collectent dans la portion inférieure du vaisseau tenu verticalement; la moitié supérieure environ de la veine est occupée par un liquide transparent et fluide. On sait que dans ces conditions la coagulation n'apparaît que tardivement ou ne se manifeste qu'à l'occasion d'une altération des parois vasculaires. Le liquide retiré du vaisseau est ensuite soumis à une centrifugation assez énergique.

C'est dans ce liquide, presque entièrement débarrassé d'éléments figurés avant toute coagulation, que Falloise et l'un de nous (Mr. Lambotte) ont démontré la présence de l'alexine tout en aussi grande quantité, et même en plus forte proportion, que dans le sérum provenant de la coagulation du sang complet. En outre, des plasmas d'oiseaux préparés selon la méthode Délezenne (saignée et centrifugation dans des tubes paraffinés) donnèrent dans les mêmes mains des résultats identiques.

Ces conclusions, qui semblent très favorables à la thèse de l'existence en nature des cytases dans les humeurs de l'organisme vivant sans qu'il soit besoin d'une destruction préalable des leucocytes, reçurent de Mr. Metchnikoff une interprétation différente³⁾.

1) Falloise, Sur l'existence de l'alexine hémolytique dans le plasma sanguin. (Bull. Acad. Roy. Belgique, 1903. No. 6.) — Lambotte, Contribution à l'étude de l'origine de l'alexine bactéricide. (Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXIV. 1903. No. 5.)

2) Frédéricq, Recherches sur la coagulation du sang. (Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique. T. XLIV. Juillet 1877.)

3) Metchnikoff, Compte rendu du Congrès d'hygiène, Bruxelles. Sect. bact. p. 11—12.

Pour l'éminent fondateur de la théorie phagocytaire de l'immunité il n'est pas douteux que dans l'expérience de la veine le liquide obtenu ne peut être comparé au plasma circulant. Le seul fait de la centrifugation suffirait à l'en différencier complètement: il y aurait inévitablement destruction d'une partie des leucocytes et mise en liberté des principes actifs qu'ils détiennent. Rien d'étonnant dès lors que le plasma surnageant renferme de l'alexine dont la présence serait synonyme de destruction de globules blancs.

La question de l'existence de l'alexine dans les humeurs étant ainsi étroitement liée à celle de la résistance des éléments nucléés du sang vis-à-vis des agents physiques, il nous a paru intéressant de rechercher les conditions dans lesquelles se fait la phagolyse, et de déterminer notamment jusqu'à quel point la centrifugation peut être incriminée comme cause destructive des leucocytes.

Pour cette étude nous nous sommes adressés au lapin et au chien dont il est facile de se procurer une grande quantité de leucocytes vivants: l'injection dans une cavité séreuse de diverses substances (gluten-caséine, bouillon, solution physiologique, etc.) provoque chez ces animaux la production d'exsudats riches en globules blancs.

Voici notre façon de procéder: Nous injectons dans chacune des deux cavités pleurales environ 10 c.c. d'une solution alcaline de gluten-caséine¹⁾. Un à deux jours après l'injection, l'animal est tué par saignée complète; cette précaution est indispensable pour éviter l'introduction du sang dans la cavité pleurale au moment du prélèvement de l'exsudat. La cage thoracique ouverte, le liquide intrapleurale est aspiré dans des pipettes chauffées à 37°, puis placé dans des tubes portés à la même température. C'est un liquide trouble, épais, grisâtre, dont on peut recueillir une quantité sensiblement égale à celle du liquide injecté. Les tubes contenant l'exsudat sont immédiatement portés dans une chambre étuve dont la température est maintenue entre 37° et 39°. C'est dans cette chambre que sont disposés tous les appareils (turbine, microscope, liquides employés etc.) et que se font toutes nos manipulations et recherches.

L'examen direct de l'exsudat dans des préparations en gouttes pendantes permet déjà de s'assurer jusqu'à un certain point de la vitalité des leucocytes par l'observation des mouvements qu'ils effectuent. Mais cette méthode, outre qu'elle est très longue — les leucocytes se meuvent généralement avec lenteur — est loin de rendre un compte exact de la richesse de l'exsudat en éléments vivants: beaucoup de leucocytes, n'étant pas sollicités dans leurs propriétés amœboïdes, conservent la forme sphérique qui est la forme du repos, comme aussi celle de la mort, et restent immobiles. Aussi avons nous adopté un autre critérium de vitalité basé sur la propriété dont jouissent les globules blancs vivants d'englober les corps étrangers mis à leur portée, et notamment certains microbes. Nous avons choisi la bactérie charbonneuse, à cause de ses dimensions qui rendent l'observation plus facile. Si nous mettons une émulsion de ce microbe en contact avec l'exsudat, nous voyons bientôt les leucocytes, même ceux qui par leur aspect et leur immobilité

1) Préparation de la solution de gluten-caséine: 1 g. de gluten-caséine pulvérisé est mis à digérer à 37° dans 10 c.c. d'une solution de potasse à 0,5% pendant 24 heures. On précipite par une solution concentrée d'acide chlorhydrique. Le précipité filtré est redissous dans 20 c.c. de soude à 0,5%. On obtient ainsi un liquide louche d'aspect grisâtre, prêt à être utilisé (Voir Collard, Ann. Pasteur. 1899. p. 735).

paraissaient altérés, se mettre à pousser activement des pseudopodes. Ceux-ci finissent par être englobés dans le protoplasme leucocytaire auquel ils restent fixés. Le phénomène est pour ainsi dire général dans nos exsudats frais, la grande majorité des leucocytes se montrant très apte à la phagocytose. Pierallini¹⁾ a déjà signalé que des leucocytes de cobaye retirés de la cavité péritonéale sont d'abord immobiles, mais recouvrent leurs mouvements après une heure à 37°.

C'est par l'examen des propriétés phagocytaires à 37° que nous contrôlerons dans la suite la persistance de la vitalité des leucocytes après les manipulations destinées à vérifier leur résistance.

La première épreuve à laquelle nous avons soumis les leucocytes a consisté dans la centrifugation légère de l'exsudat (environ 1000 tours à la minute dans la chambre à 37°, pendant 5 minutes). Le dépôt leucocytaire est émulsionné à nouveau dans le liquide surnageant et soumis à l'épreuve de la phagocytose. Il se montre tout aussi actif que l'exsudat primitif: les phagocytes ayant englobé des éléments microbiens sont après un temps déterminé tout aussi nombreux que dans l'exsudat frais.

Ensuite, nous soumettons l'exsudat à une centrifugation énergique (2500 tours, pendant 10 minutes). Le dépôt, après décantation, est émulsionné, non plus dans le liquide d'exsudat, mais dans de l'eau physiologique pure. Malgré le changement de milieu et la centrifugation, les leucocytes ne semblent pas avoir perdu de leur énergie. Pour observer une diminution de celle-ci, il faut recourir à un traitement plus rigoureux.

Nous centrifugeons deux ou trois fois successivement, en décantant chaque fois les liquides surnageants et en émulsionnant le dépôt dans l'eau salée (9 p. 1000). Examinés immédiatement au microscope en présence de bacilles du charbon, les leucocytes paraissent altérés: la plupart ont pris la forme sphérique et restent immobiles, indifférents. Peu à peu cependant on voit quelques uns d'entre eux se mettre à pousser des prolongements. Le phénomène, d'abord rare et disséminé, ne tarde pas à s'accroître et au bout d'une demi-heure à une heure suivant le cas, on peut dire que la phagocytose est à peu près générale.

L'influence exercée sur les leucocytes par des centrifugations répétées, même avec changement du liquide ambiant, se réduit donc à un engourdissement passager de ces éléments; une demie heure de repos suffit dans les cas favorables pour leur rendre leurs propriétés vitales²⁾.

Il était intéressant de connaître la sensibilité des globules blancs pour les variations de température. Dans ce but nous centrifugeons nos exsudats à la turbine hydraulique à la température ordinaire; enfin nous entourons nos tubes de glace pendant la centrifugation, nous rapprochant ainsi des conditions dans lesquelles Falloise et Lambotte ont préparé leur plasma d'oiseau. Nous émulsionnons le dépôt dans l'eau physiologique et le replaçons à 37°. Cette fois encore les leucocytes ne paraissent pas avoir énormément souffert: la proportion des leucocytes non altérés n'est pas inférieure à celle des essais à 37°. On note seulement une différence, c'est que le retour à l'activité est plus lent, la période d'engourdissement des leucocytes est plus longue. Mais après une heure de repos, nous avons maintes fois pu évaluer à 60—70% la

1) Pierallini, Ann. Pasteur. 1897. p. 308.

2) Sawtchenko a également observé que la centrifugation ne détruit pas les leucocytes, qui sont encore capables de phagocyter des hématies in vitro. (Ann. Pasteur. 1902. p. 119.)

proportion de leucocytes ayant résisté aux conditions anormales de nos expériences.

Ajoutons que des leucocytes centrifugés et lavés se sont encore montrés actifs après un séjour de 7—8 heures à l'étuve à 37°. Et même, des leucocytes abandonnés à la température du laboratoire étaient encore capables, 6 heures après, de phagocyter la bactériodie charbonneuse.

Ces résultats montrent que les cellules du sang ne sont pas des éléments fragiles, facilement désorganisés dès leur sortie de l'organisme. On a tort de parler constamment de l'extrême fragilité des globules blancs: ceux-ci sont en réalité plus résistants qu'on ne le croit généralement. Dans un savant travail publié récemment¹⁾, le professeur Nolf s'élève contre la conception de la phagolyse invoquée si souvent pour l'interprétation de divers faits observés dans les recherches sur les globules blancs. Mr. Nolf a beaucoup étudié la leucocytose à la suite des injections de propeptone: il produit toute une série d'arguments irréfutables, démontrant que les leucocytes ne sont nullement les éléments fragiles que beaucoup s'imaginent subir l'action destructive des influences les plus légères. L'expérience ne permet pas d'admettre qu'une simple centrifugation puisse les détruire, pas plus que les hématies d'ailleurs. Si les leucocytes secrètent l'alexine et si leur mort est indispensable à sa mise en liberté, nous ne comprenons pas comment les plasmas obtenus par Mr. Falloise et l'un de nous auraient pu devenir aussi fortement alexiques après une seule et unique centrifugation.

Aussi ne pensons nous pas que l'interprétation de Mr. Metchnikoff réponde à la réalité, et croyons nous que la présence de cytase dans les humeurs est absolument indépendante de la vie ou de la mort des leucocytes. Cette conclusion nous paraît d'autant plus autorisée que nos exsudats, bien débarrassés des globules blancs, alors que ces éléments sont encore parfaitement en vie, se sont toujours montrés pourvus d'alexine, tant bactéricide qu'hémolytique, au même titre que le sérum correspondant; nous ne donnons pas ici les détails des expériences faites dans cette direction; ils trouveront leur place dans la suite de notre mémoire.

Mr. Herman dans un travail publié par l'Académie Royale de médecine de Belgique²⁾ semble être arrivé à des résultats différents. Mais en suivant de près le texte de ce savant, on s'aperçoit qu'il est extrêmement sobre de détails sur les phénomènes observés. Il a choisi notamment pour étudier l'alexine bactéricide le sang de rat qu'il fait agir sur le charbon: or, d'après le travail de Pir en ne³⁾ le sang de rat, débarrassé de son alexine normale, est encore bactéricide pour ce microbe; en outre l'observation a été faite uniquement sous le microscope et l'auteur indique simplement une altération du protoplasma microbien (?). Pour le reste des observations, les expériences ont été très peu concluantes, et pour autant qu'on puisse en juger d'après l'exposé sommaire de Mr. Herman, la preuve n'est pas faite que son sérum fût plus actif que le plasma. Mioni⁴⁾, qui a aussi étudié la question, déclare qu'à son avis, chez le

1) Nolf, De la nature de l'Hyperleucocytose propeptonique. (Arch. internat. de Physiol. Vol. I.)

2) Herman, Sur l'origine des alexines. (Acad. de méd. de Belgique. 1904. No. 2. p. 137.)

3) Pirenne, Recherches sur les alexines et les substances microbicides du sérum normal. (Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXIV. 1904.)

4) Mioni, Le développement de l'hémoglobine dans le sang sorti des vaisseaux. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. LV. 1903. 19 déc.)

bœuf, l'alexine n'existe pas dans le sang circulant. Mais Falloise est arrivé à un résultat absolument contraire à celui de Mioni, avec des procédés identiques.

II.

Si l'alexine circule librement dans les plasmas, est-il réellement démontré que cette substance soit secrétée sur le vivant par les leucocytes mono- ou polynucléaires?

La théorie de Metchnikoff admet l'existence de deux espèces distinctes d'alexines: la macrocytase sécrétée par les grands leucocytes mononucléaires, capable d'activer les fixateurs spécifiques des éléments cellulaires (hématies p. ex.) et la microcytase élaborée par les polynucléaires, active seulement sur les microbes. Cette théorie repose principalement sur deux travaux, invoqués fréquemment par Mr. Metchnikoff, ceux de Gengou et de Tarassevitch.

La manière de voir de Gengou et Tarassevitch n'a pas été admise par tout le monde: Petrie¹⁾ notamment n'a pas observé la destruction du *Bac. coli*, du *Bac. typhosus*, du *Bac. de Gärtner* par les leucocytes obtenus au moyen d'aleuronate, alors que le sérum des animaux était actif sur ces microbes.

En Allemagne on a beaucoup attaqué les données de Tarassevitch²⁾, concernant la présence d'alexine hémolytique dans les extraits d'organes profonds; on soutient que ces hémolysines ne sont pas de vraies alexines.

Si on examine de près le travail de Tarassevitch on s'aperçoit combien sont loin d'être démontrés par les faits les arguments invoqués par l'auteur pour mettre en lumière la dualité des alexines et leur sécrétion par les leucocytes. Encore que, de l'avis même de l'auteur, les extraits des glandes digestives et des organes riches en macrophages ne renferment pas toujours l'alexine hémolytique, on trouve d'autres contradictions qui font penser à la nature toute différente de la substance active de ces extraits. C'est ainsi que l'extrait d'organe chauffé pendant une demi-heure à 55–56° conserve parfois toute son activité, tandis que cette opération suffit toujours pour détruire la cytase du sérum. D'autre part, quand on fait agir ces extraits sur des hématies préalablement sensibilisées par un immun-sérum correspondant, on constate que les phénomènes de globulolyse sont moins rapides et exigent une plus forte proportion de produit qu'avec du sérum frais. Les recherches de l'auteur sur les propriétés des extraits obtenus à l'aide, non plus d'organes plus ou moins riches en éléments leucocytaires, mais directement des leucocytes eux-mêmes, ne donnent pas des résultats plus probants en faveur de la théorie qu'il soutient. L'auteur nous montre bien que de tels extraits provenant de leucocytes en grande partie polynucléaires (plus de 80%) sont absolument dépourvus d'alexine hémolytique, tandis qu'il sont capables d'arrêter le développement des colonies microbiennes par le procédé des cultures successives. Mais ce dernier fait ne prouve nullement, à notre avis, l'existence de la microcytase dans l'extrait de polynucléaires: les leucocytes peuvent parfaitement renfermer des substances actives sur les microbes, substances qui ne seraient pas de l'alexine. Faisons remarquer en effet que l'auteur n'a pas recherché

1) Petrie, On the relationship of the leucocytes and organ-extracts to the bacteriolytic power of the blood. (*Journ. of Pathol.* Vol. IX. 1903. p. 130.)

2) Tarassevitch, Sur les cytases. (*Ann. Pasteur.* 1902. p. 127.)

ce que devenaient les propriétés bactéricides des ces extraits leucocytaires après chauffage à 55°. Il ne dit pas davantage si ces propriétés sont activées par les fixateurs spécifiques.

La même lacune existe dans le beau mémoire de Gengou¹⁾ sur les cytases. Ici aussi, l'auteur ne nous dit pas ce que devient, après chauffage, le pouvoir bactéricide si marqué de ses extraits qu'il prépare avec des leucocytes de lapin, par le procédé de Buchner.

En raison du grand intérêt que présente le problème de l'origine des alexines, nous avons repris à ce point de vue l'étude des propriétés des exsudats inflammatoires.

Nous nous sommes d'abord préoccupés de savoir si des vibrions cholériques subissent la transformation granuleuse, connue sous le nom de phénomène de Pfeiffer, lorsqu'ils sont introduits par phagocytose dans des leucocytes baignant dans un milieu absolument indifférent pour ces microbes. On sait en quoi consiste le phénomène de Pfeiffer: quand on injecte dans la cavité péritonéale d'un cobaye neuf des vibrions du choléra additionnés de sérum préventif, ou chez un animal vacciné des vibrions normaux, les microbes ne tardent pas à se modifier dans leur forme; par un mécanisme encore inexplicé les éléments en virgule prennent la forme sphérique, granuleuse et deviennent de véritables boules. Cette transformation très caractéristique, si on peut la provoquer artificiellement comme l'a fait Fischer²⁾ au moyen de solutions salines très concentrées, ne peut être obtenue par aucun liquide ayant la composition chimique des humeurs physiologiques ou pathologiques, que quand il renferme de l'alexine de Buchner: la formation des boules est donc un critérium excellent de la présence de cette substance dans un milieu. Cette transformation peut se réaliser in vitro à 37°, quand on met en présence des vibrions sensibilisées par l'immun-sérum et du sérum frais d'animal normal.

Si les leucocytes sont les producteurs de l'alexine, il est évident que des vibrions sensibilisés englobés intacts, doivent subir la transformation granuleuse au sein de la masse protoplasmique leucocytaire. La condition essentielle pour réaliser cette expérience est d'avoir des leucocytes bien vivants dans un milieu inactif, comme par exemple l'eau salée ou le sérum chauffé et dépouillé d'alexine. Nous y sommes arrivés grâce à la résistance des leucocytes que nous avons mise en lumière dans la première partie de notre mémoire.

Des exsudats de lapin obtenus par l'injection intra-pleurale de gluten-caséine sont recueillis 24 à 48 heures après l'injection. A ce moment les polynucléaires prédominent dans l'exsudat: après un jour notamment ils sont très abondants (90 à 95%); dans les exsudats de deux jours nous n'avons jamais noté moins de 75 à 80% de polynucléaires pour 15 à 25% de grands mononucléaires.

1) Gengou, Origine de l'alexine des sérums. (Ann. Pasteur. 1901. p. 68.)

2) Fischer, Empfindlichkeit der Bakterienzelle. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV. 1900. p. 1.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Antilipase.

[Hygienisches Institut der Königl. Universität Turin.
Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani.]

Von Dr. E. Bertarelli.

Unsere Kenntnisse über die Lipase wurden in den letzten Jahren erheblich vermehrt. Nicht nur wurden die Lipasen des menschlichen und des tierischen Organismus besser erforscht, indem man ihre quantitativen Veränderungen bei den verschiedenen pathologischen Zuständen untersuchte, sondern man hat sich auch um die pflanzlichen Lipasen bemüht, deren Existenz schon vor vielen Jahren Pelonge vorausgeahnt hatte.

Die Lipasen des tierischen Organismus betreffend, wird augenblicklich am meisten über das Vorhandensein der Lipase im Blute, über die Schwankungen derselben in den verschiedenen normalen und pathologischen Zuständen und über die Bedeutung dieses Gärstoffes diskutiert. Ich habe nicht die Absicht, hier die zahlreichen Forschungen über die Lipasen des Blutes zu erwähnen, welche nach Hanriot veröffentlicht wurden, oder die von Arthus angeregte Diskussion. Es wird genügen, daß ich hier einige Hauptpunkte der Frage kurz resumiere.

Nachdem Hanriot 1896¹⁾ einen neuen, zur Spaltung des Monobutyryns fähigen Gärstoff des Blutes beschrieben hatte, veröffentlichte er seine Forschungen über die Messungsmethode dieser Lipase, über ihre Verteilung im Organismus, über die Identität dieses lipatischen Fermentes mit anderen Lipasen, über gewisse Eigentümlichkeiten desselben, und über das physikalische Verhalten des angenommenen Gärstoffes. Später erforschte Carrière²⁾ die Veränderungen der Lipase in normalen und pathologischen Zuständen, Achard und Clerc³⁾ vermehrten die Kenntnisse über die Lipase in pathologischen Zuständen, Benech und Guyot⁴⁾, Doyen et Morel⁵⁾, Garnier⁶⁾, Bitny-Schljachtö⁷⁾, Hewlett⁸⁾, Boldyrew⁹⁾, Stade¹⁰⁾, Garnier und Fruchinsholtz¹¹⁾, Kastle¹²⁾, Lewkowitsch¹³⁾, Boldireff¹⁴⁾ u. a. vermehrten unsere Kenntnisse über die Lipase des Blutes oder anderer Gewebe.

Gegen das Vorhandensein einer wirklichen Lipase im Blute äußerte sich zwar Arthus, welcher gegen die Arbeiten von Hanriot und allen denen, welche nach demselben Forschungen auf diesem Gebiete

1) Hanriot, Comptes rendus de la Société de Biologie. 1896.

2) G. Carrière, Comptes rendus de la Société de Biologie. 1899.

3) Achard et Clerc, Ibid. 1899.

4) Benech et Guyot, Ibid. 1903.

5) Doyen et Morel, Ibid. 1903.

6) C. Garnier, Ibid. 1903.

7) Bitny-Schljachtö, Bericht im Biochem. Centralbl. Bd. III. 1904.

8) Hewlett, Ibid. Bd. III. 1904.

9) Boldyrew, Ibid. Bd. I. 1904.

10) Stade, Hofmeisters Beiträge. Bd. III.

11) Garnier et Fruchinsholtz, Arch. de Med. expérim. 1903.

12) Kastle, Johnston, Ilvom, Amer. Chem. Journ. 1904.

13) Lewkowitsch, Pr. Roy. Soc. London 1903.

14) Boldireff, Centralbl. f. Physiol. Bd. XVIII.

gemacht hatten, einwendete, daß man nicht vom Vorhandensein einer Lipase im Blute, sondern höchstens einer Monobutyrimase reden kann; aber diesem Einwande entgegnete Hanriot, daß man im Blute tatsächlich einen zur Spaltung verschiedener Fetté fähigen Gärstoff nachweisen kann.

Gleichzeitig erweiterten sich auch unsere Kenntnisse auf dem Gebiete der pflanzlichen Lipasen.

W. Connstein, Hoyer und Wartenberg¹⁾, Braun und Behrendt²⁾, Fockin³⁾, Nicloux⁴⁾, Braun⁵⁾, Bitny-Schljachtö⁶⁾ und einige andere Autoren erforschten eine ganze Reihe lipolitischer Gärstoffe der öligen Samen, indem sie die Eigentümlichkeiten und die Wirkungsgesetze derselben bestimmten, ihre Eigenschaften beschrieben und ihre Eigentümlichkeiten auch in Bezug auf andere lipolitische Fermente feststellten. Vor allem hat Nicloux wichtige Forschungen auf diesem Gebiete gemacht, indem er die Lipase des Ricinus frei von anderen Substanzen erhielt. Natürlich war deshalb der Gedanke, diese Gärstoffe vom Immunitätsstandpunkte zu erforschen, sei es um unsere genauen Kenntnisse auszudehnen, sei es um zu beobachten, ob auch die Lipasen die Entstehung von Antikörpern, wie es bei vielen anderen Gärstoffen (Lablaktase etc.) geschieht, veranlassen können. Bei diesen Forschungen konnte man auch die Lipasen verschiedenen Ursprungs in Bezug auf die Antikörper untersuchen, und so dahin kommen, die Lipasen verschiedenen Ursprungs zu differenzieren, oder in eine oder in mehrere Gruppen zu vereinigen.

Ich hatte schon meine Untersuchungen begonnen, bei denen ich die Lipasen der Bauchspeicheldrüse des Ochsen und des Schweines und die Lipasen der Nuß und des Ricinus anwendete, als der kurze Aufsatz von Schütze⁷⁾ erschien.

Es war diesem Autor gelungen, mit Lösungen von dem von Grübler in den Handel gebrachten Steapsin bei den Kaninchen die Bildung von Antikörpern zu erzielen, welche die vom Steapsin auf das Ricinusöl ausgeübte Spaltungswirkung verhinderten.

Da wir nun nicht wissen, was das Grübler'sche Steapsin ist, so bleibt in unseren Kenntnissen über diese Antikörper, welche die Wirkung eines Fermentes aufheben, von dem wir nicht wissen, was es ist, von wo es herrührt und aus welchem Material es ausgezogen ist, eine große Lücke.

Außerdem scheint Schütze nicht die tatsächliche oder angenommene lipolitische Wirkung des Blutes in Erwägung gezogen zu haben, wodurch in seinen Angaben ein geringer, durch die Lipase des Blutes bedingter Fehler eingetreten sein kann.

Wie bei anderen Antifermenten, konnten die Stoffe, welche die Wirkung der Lipase aufheben, einen tiefen Einblick in die Natur der verschiedenen Lipasen ermöglichen.

In der Tat konnte man die Frage stellen, ob die verschiedenen tierischen Lipasen einander ähnlich sind, ob sie wenigstens gemein-

1) W. Connstein, Hoyer, Wartenberg, Chem. Ber. Bd. XXXV. Rezens. in Biochem. Centralbl. Bd. I.

2) K. Braun und E. Behrendt, Biochem. Centralbl. Bd. I.

3) S. Fockin, Biochem. Centralbl. Bd. I.

4) N. Nicloux, Société de Biologie. 1904.

5) K. Braun, Ber. D. chem. Gesellsch. 1903.

6) Bitny-Schljachtö, D. med. Wochenschr. 1904.

7) Schütze, D. med. Wochenschr. 1904.

schaftliche Gruppen besitzen und ob sie konstitutionelle Beziehungen zu den pflanzlichen Lipasen haben. Wenn man die Antikörper dieser Lipasen untersuchte, sie miteinander verglich und sie in Bezug auf ihre verhindernde Wirkung auf die Lipase erforschte, konnte man die Lipasen mit identischen Antikörpern in einer, diejenigen mit unter sich nur ähnlichen Antikörpern in einer zweiten, und diejenigen mit unter sich verschiedenen Antikörpern in einer dritten Gruppe vereinigen.

Es war ferner interessant, zu erforschen, ob die Darreichung von antilipasischem Serum eine deutliche Zunahme der Lipase in den geimpften Tieren ermöglichte, und ob diese Darreichung von antilipasischer Substanz eine wahrnehmbare Veränderung des Stoffwechsels bedingte.

Deshalb habe ich, ungeachtet der Veröffentlichung Schützes, meine Arbeiten über den vorgenommenen Gegenstand fortgesetzt. Dabei wendete ich Lipasen verschiedener Art und später auch Gräublers Steapsin an.

Eines der ersten Resultate meiner Erforschungen war, daß ich im Verlauf meiner Untersuchungen, die ich vermittelt der Antilipasen ausführte, das Wesen von Gräublers Steapsin erkennen konnte. Darüber werde ich weiter unten Gelegenheit haben, mich zu unterhalten.

Wenige Worte über die angewandte Technik: Die pflanzlichen Lipasen wurden aus Ricinussamen und aus der Nuß bereitet. Ich mußte auf die Abrinlipase verzichten, infolge der enormen Schwierigkeiten, die Lipase vom Abrin zu befreien, wieweil letzteres alle meine Versuchstiere tötete.

Die Bereitung der Ricinuslipase gelingt etwas besser, wenn man den Ricinussamen von seinen äußeren Hüllen befreit. Jedoch ist auch in diesem Falle die Flüssigkeit leicht giftig und schwerlich rettet man die eingeimpften Tiere. Heutzutage kann man leicht nach Nicloux eine wirkliche reine Ricinuslipase (Lipasidin) haben. Nach vielen Versuchen erhielt ich von einem sehr langsam und durch sehr kleine Gaben immunisierten Hunde ein Serum mit Antikörpern.

Weniger gefährlich ist dagegen die Behandlung mit Gräublers Steapsin, welches, aus Gründen, die ich weiter unten anführen werde, als eine pflanzliche Lipase, und zwar nach meiner Meinung als eine Ricinlipase zu betrachten ist. Jedoch beobachtet man auch bei dem Steapsin häufig das Auftreten von Abscessen in den Impftieren, und zwar entfernt vom Einimpfungspunkte, besonders auf der äußeren Haut des Unterleibes.

Die Lösungen der Nußlipase wirken wenig auf die Tiere.

Man bereitet sie einfach, indem man die Nußsamen in einer physiologischen Lösung zerdrückt, sie dann 24 Stunden lang bei 8° stehen läßt und dann filtriert. Die Einspritzungen wurden, wie bei allen diesen Lipasen, alle 6—7 Tage gemacht, wobei verschiedene Quantitäten des Materials gebraucht wurden, deren lipolitisches Vermögen vorher durch Ricinusöl und durch Olivenöl geprüft war.

Unter den tierischen Lipasen wurde die pankreatische Lipase, diejenige aus der Ochsenleber und die Serumlipase des Ochsen ausgewählt. Die zwei ersten Lipasen wurden auf verschiedenem Wege bereitet: Anfangs machte ich einfach Infusionen von den ganz frischen und im sterilen Mörser zerdrückten Organen, mit einer sterilen physiologischen Lösung, ließ sie 24 Stunden bei 8° mazerieren und filtrierte dann mit Chardin-Papier. Später versuchte ich auch die Filtrate durch Be-

handlung mit essigsaurom Uran von den Proteinsubstanzen zu befreien, aber die Flüssigkeiten, welche ich mit dieser Methode erhielt, die empfohlen wird, um die Fermente von der parenchymalen Substanz zu befreien, waren sehr wenig wirksam. Deshalb zog ich vor, durch einfache Infusion in physiologischer Lösung frisch bereitete, wenn auch sehr unreine Lipasen anzuwenden.

Zur Bestimmung des Spaltungsvermögens der verschiedenen Lipasen wendete ich Ricinus- und Olivenöl an. Letzteres wird wegen seiner hohen und wechselnden Acidität als zu solchen Versuchen wenig geeignet angesehen. Ich habe aber beobachtet, daß die Olivenöle guter Marke nie eine so hohe Acidität haben wie die Ricinusöle, wenigstens die in Turin käuflichen; deshalb habe ich vorgezogen, bei meinen Versuchen Olivenöl, und zwar immer vom gleichen Typus anzuwenden.

Bei den acidimetrischen Bestimmungen verwandte ich zu den Titrierungen alkoholische $\frac{n}{10}$ -Natronlösung.

Gewöhnlich wurden zu den Versuchen 10 ccm Oel verwandt, welchen das bestimmte Quantum Lipase zugefügt wurde. Diese Mischung ließ man 2 Stunden lang bei 37° stehen, fügte dann 50 ccm Aether hinzu und bestimmte die Acidität. Von derselben wurde die ursprünglich vorhandene Acidität des Oels abgezogen und so die durch die Wirkung der Lipase bedingte Acidität bestimmt.

In ähnlicher Weise wurde bei den Untersuchungen über die Wirkung der Antilipase vorgegangen: Dem Oel wurde zuerst das als antilipatisch angesehene Serum und dann die Lipase beigefügt; dann ließ man sie 2 Stunden lang bei 37° stehen. Man verdünnte mit Aether und bestimmte durch $\frac{n}{10}$ -Natronlösung die Acidität.

Vom Serum resp. von der Lipase wurden jedes Mal 2—1—0,5 ccm angewendet, und meistens wurde eine Reihe mehrmals wiederholter Versuche gemacht.

Um stark lipolitische Sera zu erhalten, habe ich große Kaninchen mit unter die Haut eingespritztem oder mittelst der Sonde in den Magen eingeführtem Olivenöl behandelt. Verschiedene Autoren behaupten, daß die Einspritzungen von Oel das lipasische Vermögen des Serums erhöhen; ich habe diese Tatsache nie beobachten können, und obwohl ich sie 3 Monate lang behandelte, habe ich bei Tieren in keinem einzigen Fall eine Erhöhung des lipatischen Vermögens des Serums beobachtet.

Pflanzliche Antilipasen. — Wie gesagt, wurde zu der Behandlung Ricinus- und Nußlipase gebraucht und Grüblers Steapsin.

Mit der Ricinlipase habe ich einen Hund 5 Monate lang immunisiert. Am Ende der Behandlung ließ ich das Tier zur Ader und mit dem Serum stellte ich folgende Versuche an:

10 ccm Oel = Acidität (durch $\frac{n}{10}$ -Natron abgemessen) entsprechend 3,3 ccm des

$\frac{n}{10}$ -Natrons

10 ccm Oel + 1 ccm der Ricinlipase = Acidität 5,3

10 „ „ + 1 „ Serum des immunisierten Hundes = Acidität 3,7

10 „ „ + 1 „ „ + 1 ccm Ricinlipase = Acidität 3,9

10 „ „ + 2 „ „ + 1 „ „ = „ 4,4

Dieser erste Versuch ist sehr lehrreich; das Serum des immunisierten Hundes enthält ohne Zweifel eine Antiricinlipase, aber besitzt auch eine eigene Serumlipase. Die immunisierende Behandlung hat also nicht auf

die Lipase des Serums gewirkt, während sie die Bildung einer Antilipase für das Ferment des Ricinus bedingt hat.

Ich habe derartige Versuche mehrmals wiederholt und das Resultat war, abgesehen von kleinen Differenzen in den absoluten Werten, konstant; man kann eine Antiricinlipase erhalten. Dieser Antikörper wird durch eine Erwärmung auf 70° nicht beeinflusst, erst bei ungefähr 80° scheint seine Wirksamkeit etwas vermindert. Er ist auch bei 17–18° wirksam, bei 25–28° ist er am wirksamsten.

Seine Wirkung scheint nicht den Mengen des angewandten Serums proportional zu sein, wie übrigens auch die Wirksamkeit der Lipase nicht zu dem bei der Reaktion angewendeten Quantum der fermentativen lipolitischen Flüssigkeit im Verhältnisse steht.

Beeinflusst dieser Antikörper andere Lipasen? Zunächst beeinflusst er nicht die Lipase des Serums, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht:

10 ccm Oel = Acidität 3,2	
10 „ „ + 1 ccm Kaninchenserum = 3,6	
10 „ „ + 1 „ „ + 1 ccm Serum vom immunis. Hunde = 4,1	
10 „ „ + 2 „ „ + 1 „ „ „ „ „ = 4,4	
10 „ „ + 1 „ „ + 2 „ „ „ „ „ = 4,5	

Ebenso beeinflusst er nicht die pankreatische Lipase des Kalbes und des Schweines:

10 ccm Oel = Acidität 3,35	
10 „ „ + 1 ccm Pankreas-Infusion = 4,7	
10 „ „ + 1 „ „ + 1 ccm vom immunisierten Hunde = 5,2	
10 „ „ = Acidität 3,2	
10 „ „ + 1 ccm Infusion von Schwein-Pankreas = 5,4	
10 „ „ + 1 „ „ „ „ „ + 1 ccm Hundeserum = 5,9	

Ebenso beeinflusst er nicht die Leberlipase des Kalbes und die Serumlipase des Kalbes und anderer Hunde.

Auch auf eine andere pflanzliche Lipase, die Nußlipase, hat er keine Wirkung. Ich bereitete eine Infusion von Nußsamen, welche schwach sauer reagierte, und stellte folgende Versuche an:

10 ccm Oel = Acidität 3,2	
2 „ „ Nußlipase = 0,1	
10 „ „ Oel + 1 ccm Nußlipase = 3,8	
10 „ „ + 1 „ „ Serum vom immunisierten Hunde = 3,6	
10 „ „ + 1 „ „ „ „ „ + 1 ccm Nußlipase = 4,1–4,2	

Ein ähnlicher Versuch wurde mit Grüblers Steapsin angestellt. Das Resultat ist sehr lehrreich:

10 ccm Oel = Acidität 3,4	
10 „ „ + 1 ccm Steapsin 4,9	
10 „ „ + 1 „ „ Serum vom immunisierten Hunde = 3,8	
10 „ „ + 1 „ „ „ „ „ + 1 ccm Steapsin = 4,1	

Dieses Resultat bleibt mit geringen Schwankungen in den absoluten Werten konstant.

Es entstand deshalb die Vermutung, daß Grüblers Steapsin eine Ricinlipase oder eine sehr verwandte Lipase sei, und dieselbe wurde bekräftigt, als ich beobachten konnte, daß das Serum der mit Steapsin immunisierten Tiere in hindernder Weise auf die Ricinlipase wirkt.

Eine Reihe ähnlicher Versuche wurde mit der Lipase der Nuß (Nußlipase) angestellt. Diese Lipase ist sehr unbeständig und die Infusionen der zerstoßenen Nußsamen verlieren nach wenigen Stunden ihre Fähigkeit, die Fette zu spalten; außerdem ist die Wirksamkeit dieser Lipase von einem Male zum anderen sehr verschieden. Auch ist

die Reaktion der Kaninchen sehr gering; in 3 Kaninchen, welche ich 2 Monate lang behandelte, konnte ich noch kein die lipolitische Wirkung hinderndes Vermögen beobachten. Erst später zeigte sich dieses Vermögen in leichtem Grade.

Mit dem Serum dieser Kaninchen wurden die oben erwähnten ähnlichen Versuche angestellt. Die Resultate derselben unterrichten uns über die Wirkungsweise der Nußlipasen und der Antilipasen:

10 ccm Oel = Acidität 3,2
1 " Nußlipase = Acidität 0,1
10 " Oel + 1 ccm Nußlipase = 3,8
10 " " + 1 " Antinußlipaseserum = 3,9
10 " " + 1 " " " + 1 ccm Nußlipase = 4—4,1

Die anderen Versuche bestätigen dieses Resultat: In den mit Nußlipase behandelten Kaninchen erhielt ich die Bildung von Antilipase. Diese Lipase ist wenig wirksam, sie beeinflusst in keiner Weise die tierische Lipase und hindert nicht die Wirkung der Lipase des Ricinus.

Man kann deshalb annehmen, daß die Nußlipase von der Lipase des Ricinus und dem Steapsin verschieden ist; ohne Zweifel sind die Antikörper dieser Lipasen nicht homolog. Hierauf wurden Versuche mit Grüblers Steapsin angestellt, indem mit diesem Material Kaninchen immunisiert wurden und diese Behandlung 8—9 Wochen lang fortgesetzt wurde.

Nicht alle Tiere erzeugen hierbei Antifermente; bei der größten Zahl der Kaninchen jedoch bilden sich tatsächlich Antikörper für das Steapsin. In dieser Hinsicht kann ich deshalb nur die Versuchsergebnisse schützen bestätigen.

Dagegen stimmen seine Angaben mit meinen Resultaten darin nicht überein, daß in dem Serum der von mir behandelten Kaninchen sich immer neben dem Antisteapsin das Vorhandensein einer eigenen Serumlipase zeigte.

Wenn man dem Oele das antisteapsinische Serum hinzufügt, erhält man schon eine Erhöhung der Acidität des Oeles; das bedeutet, daß das Antisteapsin die Wirkung der Serumlipase in keiner Weise beeinflusst.

Ich bringe hierfür ein Beispiel vor:

10 ccm Oel = Acidität 3,2
10 " " + 1 ccm Steapsin = 4,9
10 " " + 1 " Antisteapsinserum = 3,8
10 " " + 1 " " " + 1 ccm Steapsin = 3,9
10 " " + 2 " " " + 1 " " = 4,3

Ohne Zweifel ist demnach neben dem Antisteapsin die Serumlipase vorhanden.

Die Wirkung des Antisteapsins in Bezug auf die anderen lipasischen Fermente anlangend, kann man aus den Resultaten der Versuche folgendes schließen:

Das Antisteapsin beeinflusst keine der untersuchten tierischen Lipasen. Ebenso entfaltet es keine hindernde Wirkung auf die Nußlipase; dagegen wirkt es stark hindernd auf die Ricinlipase.

Grüblers Steapsin ist deshalb mit der Ricinlipase identisch, oder besitzt wenigstens viele gemeinschaftliche Gruppen mit derselben und ohne Zweifel sind die Antikörper des Steapsins und diejenigen der Ricinlipase homolog.

Tierische Antilipasen. — Mit den tierischen Lipasen wurden Hunde und Kaninchen behandelt, und zwar wurde dazu der Pankreas, und die Leber und Serum von Ochsen angewendet.

Obwohl die Behandlung in allen Fällen viele Monate lang fortgesetzt wurde, gelang es mir nie, die Bildung von Antifermenten zu erhalten, deshalb verzichte ich darauf, alle die negativen Resultate meiner Versuche anzuführen.

Auch die Antilipasen für die Ricinlipase, für Gräublers Steapsin und für die Nußlipase zeigen keinen merklichen Einfluß auf die Wirkung der tierischen Lipasen.

Man muß deshalb annehmen, daß es, wenn nicht unmöglich, doch sehr schwierig ist, Antifermente für diese Lipasen zu erhalten.

Diese Versuche erlauben uns, unterscheidende Merkmale für die verschiedenen Lipasen aufzustellen. Die tierischen Lipasen scheinen nicht leicht Antifermente erzeugen zu können, die pflanzlichen Lipasen können im allgemeinen die Bildung von Antifermenten bedingen¹⁾.

Die Struktur der pflanzlichen Lipasen ist deshalb mit derjenigen der komplexen Nahrungsmoleküle in Bezug auf die tierischen Protoplasmen verwandt, und die pflanzlichen Lipasen können wie jene Moleküle Antikörper erzeugen.

Unter sich unterscheiden sie sich jedoch glatt durch ihre Antikörper, wenigstens soviel die untersuchten Lipasen anlangt, bei denen es keine gemeinschaftlichen Gruppen zu geben scheint, welche von den heterologen Antilipasen beeinflußt werden können.

Ich habe mir auch die Frage gestellt, ob die pflanzlichen Antilipasen nicht vielleicht die Bildung der Lipasen des Organismus beeinflussen könnten. Aber bei den Kaninchen, welche ich mit für Gräublers Steapsin antilipasischem Serum behandelte, hat sich kein durch die Inokulation dieses antilipasischen Serums bedingter Einfluß gezeigt, und der lipolytische Wert des Serums schien sich vor und nach der Behandlung nicht merklich zu ändern.

Deshalb findet der Gedanke, die lipolytische Wirkung *in vivo* zu verhindern, oder durch die Inokulation von antilipasischen Sera zu befördern, keine Rechtfertigung. Dagegen beweisen diese Versuche, daß es nicht nur möglich ist, Antikörper zu erhalten für gewisse Lipasen, sondern, daß es auf Grund dieser Eigenschaft möglich ist, Lipasen verschiedenen Ursprungs und verschiedener Herkunft voneinander zu unterscheiden.

1) Ich habe ausdrücklich gesagt, daß sie nicht leicht Antikörper erzeugen, denn, wenn man andere Bereitungsweisen der Lipase und vor allem, wenn man reine Lipasen anwendet, oder wenn man andere Tiere zur Behandlung braucht, kann man nicht die Möglichkeit ausschließen, ein Antiferment zu erhalten. So gelang es mir beispielsweise nicht, für das antikoagulierende Ferment des Blutegels, welches ich direkt bereitete, Antikörper zu erhalten, dagegen ist es Bergell und Schütze gelungen, welche dasselbe Ferment auf andere Weise bereiteten (wahrscheinlich das Irudin von C. S a c h s e - Leipzig), ein Antiferment zu erhalten (s. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XL Heft 2).

Nachdruck verboten.

Ueber die Frage der Widerstandsfähigkeit der Granulationen dem Milzbrand gegenüber¹⁾.

[Aus dem pathologischen Institut der Universität Turin.
(Direktor: Prof. Dr. B. Morpurgo).]

Von Dr. **Raffaello Giani**, Privatdozent der chirurgischen Pathologie.

Seitdem Billroth²⁾ durch Versuche bestätigen konnte, daß der infektiösfähige Eiter, welcher durch subkutane Injektion ein Tier zu töten vermochte, wirkungslos blieb, wenn er auf nicht blutende Granulationsgewebe gebracht wurde, wurde es die allgemeine, durch die alltägliche klinische Erfahrung bekräftigte Meinung, daß die unversehrten Granulationen das Eindringen mehrerer Arten von Krankheitserregern in den Kreislauf tatsächlich verhindern.

Durch welchen Mechanismus konnte dies erfolgen?

Zur Beantwortung dieser Frage brachte Afanassieff³⁾ Milzbrandbacillen von bedeutender Virulenz in Berührung mit dem an empfänglichen Tieren (Meerschweinchen) erzielten Granulationsgewebe. Er konstatierte nicht allein, daß die Infektion nicht entstand, sondern auch, daß die Milzbrandbacillen durch die längere Berührung mit den Granulationen zu einem Teil zerstört, zum anderen erheblich abgeschwächt waren und daß die so behandelten Tiere in der Folge eine bedeutende Widerstandskraft, wenn direkt geimpft, dem Milzbrand gegenüber erwarben.

Nötzel⁴⁾, die Versuche Afanassieffs wiederholend, bestreitet sowohl die bakterientötende oder irgendwelche abschwächende Wirkung der Granulationen den Milzbrandbacillen gegenüber, als auch die Widerstandskraft, welche die mit Milzbrand behandelten Meerschweinchen gegen die Infektion erwerben sollen; infolgedessen deutet er die durch das Granulationsgewebe bewirkte Verteidigung als eine rein mechanische Wirkung.

Dieser Anschauung schließt sich auch Jürgelūnas⁵⁾ an, welchem es weder gelang, nach längerem Aufenthalt von sehr aktiven Milzbrandbacillen auf oberflächlichen und tiefen Granulationsgeweben des Meerschweinchens diesen Tieren die Immunität zu verleihen, noch eine bestimmte bakterientötende Wirkung seitens der Bestandteile der Granulationen klarzulegen, wenn er auch manchmal Degenerationsvorgänge an den Milzbrandbacillen beobachtete.

Indem ich die Erörterung dieses Gegenstandes mit einer feineren und sichereren Technik wieder aufnahm, hatte ich mir das Ziel gesteckt, die behauptete Undurchdringlichkeit der Granulationsgewebe dem Milzbrand gegenüber zu kontrollieren und nachzuforschen, wann dieses Verteidigungsvermögen anfängt und auf welche Weise es seine Wirkung ausübt.

1) Eine vorläufige Mitteilung dieser Arbeit machte der Verf. in der Sitzung des Pathologenkongresses in Rom vom 29. April 1905.

2) Billroth, Beobachtungsstudien über Wundfieber und accidentelle Wundkrankheiten. Zweite Abhandlung. (Archiv f. klin. Chir. Bd. VI. 1865. p. 443 f.) — Die allgemeine chirurgische Pathologie und Therapie in fünfzig Vorlesungen. 4. Aufl. 1869. p. 158, 159.

3) Afanassieff, Zieglers Beitr. Bd. XXII.

4) Nötzel, Fortschr. d. Med. 1898. H. 5 u. f.

5) Jürgelūnas, Zieglers Beitr. Bd. XXIX.

Ich habe meine Versuche an Meerschweinchen angestellt und Milzbrandkulturen auf Agar verwendet, welche 12 Stunden bis einige Tage alt waren und das Kontrolltier binnen 24—48 Stunden zu töten vermochten.

Auf die durch Verbrennungen am Rücken mit dem Thermokauter erzeugten Granulationen legte ich die infizierte Seite eines zentimetergroßen Stückes sterilen Fließpapiers, auf welchen ich zwei reichliche Oesen des Milzbrandbelages ausgebreitet hatte. Das Fließpapier saugte sich mit der Sekretion des Granulationsgewebes voll und haftete sofort an diesem. Das Ganze bedeckte ich mit einem großen runden Stücke Kautschukpapier, welches mittelst Kollodiums auf der Haut ringsherum befestigt wurde.

Als Träger für die Keime verwendete ich das Fließpapier ausdrücklich deshalb, weil dasselbe mir zwei bedeutende Vorteile gewährte, d. h. 1) die durch die Sekretion bedingte mechanische Fortschaffung des Kulturmaterials hinderte und 2) die Möglichkeit, dadurch die Milzbrandbacillen mehrere Tage in unmittelbarer und andauernder Berührung mit dem Granulationsgewebe zu erhalten, bot.

Den Beweis dieser Tatsache erhielt ich in einem Falle, bei welchem ich das Tier am 10. Tage opferte und sowohl durch die histologische Untersuchung der Läsion als auch durch den Kulturversuch des lokal zurückgebliebenen Stückes Fließpapier die Anwesenheit von Milzbrandbacillen bestätigte.

In allen Fällen, bei welchen der Milzbrand auf recht deutliches Granulationsgewebe gelegt wurde, blieb immer die Infektion aus und das Tier überlebte.

Die Undurchdringlichkeit der Granulationen dem Milzbrand gegenüber, auch nach einer längeren Berührung der lebenden und virulenten Bacillen mit dem feuchten Gewebe, erhielt also eine unbestreitbare tatsächliche Begründung.

Ich beschloß dann, nachzuprüfen, ob es bei einer Verletzung oder Wunde im allgemeinen unbedingt erforderlich ist, um das Durchdringen der Milzbrandkeime zu verhindern, daß die Wunde mit Granulationsgewebe bedeckt sei.

Zu diesem Zwecke legte ich am Rücken mehrerer Meerschweinchen eine zentimeterlange Wunde an, welche sich bis in die Papillarschicht der Cutis erstreckte; das nachfolgende reichlich durchsickernde Blut wurde mittels steriler, feuchter, öfters erneuerter Gaze bis zur vollständigen Stillung aufgesaugt

Nach einer verschiedenen, regelmäßig sich abstufoenden Zahl von Stunden, während der die verletzte Stelle in angemessener Weise geschützt wurde, legte ich auf die feuchtgebliebene Wunde das mit Milzbrand eingeschierte Fließpapier, welches sofort an derselben aufs engste haftete; dann schützte ich das Ganze mit einem Stück Kautschukpapier, welches in einen aus Kollodium und Watte bestehenden Ring gefügt war und sich schon seit 24 Stunden am Orte befand. Dies hatte bloß den Zweck, das eventuelle weitere Einreißen der Wunde im Verlaufe des Versuches zu verhindern.

Aus den Versuchen ergab sich folgendes:

Zeitdauer zwischen der Anlegung der Wunde und der Ansteckung	Zahl der Meerschweinchen:		
	operierte	überlebende	gestorbene
18 Stunden	2	2	—
14 "	2	2	—
10 "	2	1	1
8 "	1	1	—
6 "	2	1	1
2 "	16	10	6

Wenn wir gleich die Aufmerksamkeit auf die 16 Versuche lenken, bei denen nur 2 Stunden zwischen der Zeit der Verletzung und der Applikation des Milzbrandbacillus verflossen waren, so sehen wir, daß 10 Tiere endgültig überlebten; die anderen starben an Milzbrandinfektion, und zwar 3 am 3., 1 am 6. und 2 am 8. Tage.

In allen diesen Fällen blieb das Unterhautödem auf dem Gebiete der Wunden und anderswo weg; in einem einzigen war es vorn an den Thoraxseiten entstanden.

Bei der Sektion der gestorbenen Tiere habe ich an den Wundrändern die Anwesenheit von sehr kleinen Blutkrusten beobachtet, welche sich bis zur Berührung des Fließpapieres erstreckten.

In diesen Fällen kann man mit Sicherheit annehmen, daß, nachdem die Milzbrandbacillen in Kontakt mit dem Gewebe gekommen waren, eine neue, obwohl kleine Zerreißung dieser letzteren stattgefunden habe.

Um die Verhältnisse zu erörtern, welche sich zwischen Fließpapier, Milzbrandbelag und Wundoberfläche einstellten, opferte ich in einer gleichlaufenden Reihe von Versuchen das Meerschweinchen nach resp. 6, 12, 24 Stunden und nach 2, 3, 4, 5, 6, 7 Tagen und so weiter, bis die vollständige Vernarbung der Wunde stattgefunden hatte. Nachdem ich das Stück so entnommen hatte, daß außer der ganzen verletzten Oberfläche zusammen mit dem an dieser haftenden entsprechenden Papier noch ein kleiner Saum unverletzter Haut unbegriffen war, führte ich einen kleinen Teil desselben unter die Haut einer kleinen Maus ein und härtete den Ueberrest in konzentriertem Alkohol.

Die kleine Maus starb an typischer Milzbrandinfektion und zwar in 24 Stunden bei den kurz andauernden Versuchen, mit einem größeren Abstand bis zu 4 Tagen bei den 6–7-tägigen Versuchen.

Nach dem 8. Tage war die Wunde fast gänzlich vernarbt und das Papier entweder mit der Wunde abgefallen oder mit dieser letzteren so einverleibt, daß es mit bloßem Auge nicht mehr erkennbar war; auf jeden Fall blieben die mit diesem Material oder mit kleinen Stücken der frischen Narbe ausgeführten Einimpfungen auf die Maus ohne Wirkung.

Andererseits hat die histologische Untersuchung jedes einzelnen Stückes den inneren und unmittelbaren Kontakt klargelegt, welcher zwischen Milzbrandbelag und verletztem Gewebe fortwährend bestand.

Von den allerersten Stunden ab sammelt sich auf der Wundoberfläche eine dichte Schicht von Wanderzellen, welche, indem sie beständig an Zahl wachsen, sich zwischen die Maschen des Fließpapieres drängen und mit diesem aufs innigste mischen. Man sieht, daß nicht allein der Milzbrandbelag von dem äußersten Teile solcher Wanderzellenanhäufung vollständig durchdrungen wird, sondern auch, daß sowohl einzelne als auch gehäufte Milzbrandbacillen zwischen diese Bestandteile überall hineingelangen und sich bis in eine gewisse Tiefe erstrecken.

Im größten Teile der von mir untersuchten Stücke gelang es den Milzbrandbacillen nicht, diese dicke Zellenplatte zu überwinden und auf diese Weise sich in das Unterhautgewebe zu begeben oder aber die in unmittelbarer Nähe der Wundränder gelegenen Gewebe zu durchdringen. Dies konnte ich nur in 2 Fällen (in einem 2-tägigen und in einem anderen 5-tägigen Versuche) bestätigen, bei denen die Tiere mit großer Wahrscheinlichkeit, ungeachtet des negativen Befundes aus dem Herz- und Milzblute, an Milzbrandinfektion eingingen.

Sowohl der biologische Beweis, als die histologische Untersuchung der Stücke ergaben nach dem 8. Versuchstage negative Resultate.

Mit jedem Meerschweinchen dieser Reihe stellte ich immer in methodischer Weise Agar- und Bouillonkulturen sowohl aus dem Herzblute als aus der Milz her und die Kulturböden blieben jedesmal steril.

Nachdruck verboten.

Ueber einige Eigenschaften des Antimilzbrandserums Slavos¹⁾.

[Hygienisches Institut der kgl. Universität Turin (Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

Von Dr. Ettore Cler.

Mit 1 Tafel.

Die Säfteveränderungen, die im Innern der Organismen nach verschiedenartiger Einführung von heterogenen Zellelementen, wie Mikroben, roten oder weißen Blutkörperchen, Organzellen etc., vor sich gehen, bildeten in den letzten Jahren den Gegenstand zahlreicher Studien, aus denen Tatsachen hervorgingen, die unsere Kenntnisse auf dem Gebiete verwickelter biologischer Erscheinungen bedeutend erweitert haben. So ist heute nachgewiesen, daß durch Aufsaugung fremder Stoffe von seiten des Organismus das Serum des Tieres auf Grund eines allgemeinen Gesetzes in ihrer Zusammensetzung noch unbekannte Stoffe aufnimmt, die den Namen Antikörper führen und eine Schutzreaktion besitzen, die mit der Ernährung der Zelle in innigem Zusammenhange steht.

Ich erwähne hier nur den besonderen Fall, daß nämlich, was allgemein bekannt ist, sobald Tiere derart mit Mikroorganismen behandelt werden, daß sie immun werden und diese Immunität passiv vermittelt ihres Serums auf andere Tiere zu übertragen vermögen, dann die Schutzkraft zwei Stoffen zugeschrieben werden muß, nämlich dem Komplement (Ehrlich) oder Alexin (Bordet), das vor der Behandlung im Organismus existierte, und dem Immunkörper (Pfeiffer und Ehrlich) oder Sensibilisatrice (Bordet), eine verschiedenartige Benennung, die der verschiedenen Auffassung über die Wirkung dieser Körper entspricht.

Ich versuchte nun vor allem ausfindig zu machen, ob in dem Antimilzbrandserum (ich bediente mich des Slavoschen) spezifische Ambozeptoren vorhanden sind, d. h. nach Ehrlich jene Körper, die dank ihrer doppelten Affinität zum Bindeglied zwischen den Alexinen und den sensiblen Zellen werden. In zweiter Linie beabsichtigte ich dann angesichts der Beziehungen, die in mehreren Fällen zwischen dem Mechanismus der Immunität und den Leukocyten sowie zwischen der Widerstandsfähigkeit des Tieres und der Phagocytose unterlaufen, im Rahmen der in vitro beobachtbaren Erscheinungen nachzuforschen, ob sich irgend ein Zusammenhang zwischen der Wirksamkeit des Anti-

1) Bericht an die R. Accademia di medicina von Turin. Sitzung vom 30. Juni 1905. Mit mikrophotographischen Demonstrationen.

milzbrandserums und der Phagocytose nachweisen läßt, was in diesem besonderen Falle nicht ohne Interesse zu sein scheint, nachdem die Teilnahme der Leukocyten an der Milzbrandinfektion als angenommen gilt (Pettersson, Marchoux, Casagrandi).

Da nun die Therapie des hämatischen Milzbrandes mit dem Slavischen Serum bei Menschen und Tieren sichere Ergebnisse geliefert hat, so habe ich zu meinen Versuchen eben dieses Serum gewählt, und zwar gerade so, wie es in der Klinik zur Verwendung kommt. Ueber das Wesen dieses Serums und seine Wirkungsweise sprechen schon verschiedene eingehende Untersuchungen. So veröffentlichte Ottolenghi im Jahre 1902 eine Arbeit über den Schutzwert des Serums und den künstlichen Milzbrand bei Kaninchen, in der er zu Schlüssen gelangt, die der Auffassung Ehrlichs über die durch die bakteriziden Seren ausgeübte Sammelwirkung, d. h. die eines thermolabilen und die eines spezifischen thermostabilen Teiles, entgegenzustehen schienen. Mit einer späteren Untersuchung über die Eigenschaften des Serums eines stark immunisierten Esels wies derselbe Verf. in vitro das hohe bakterizide Vermögen genannten Serums nach, das bei Inaktivierung verschwindet und nach Zusatz einer kleinen Quantität normalen Serums verschiedener Tiere, besonders aber des Kaninchens, zurückkehrt.

Die Ergebnisse aller mit dem Serum gegen Milzbrand natürlich immuner Tiere angestellten Beobachtungen berechtigen zu der Annahme, daß das Aufsuchen der Sensibilisatrices im künstlichen immunisierenden Serum kein unnützes Bemühen ist. Ich erinnere hier z. B. an die Nachforschungen Malvoz', die dartun, daß der erwachsene Hund, der doch als das dem Milzbrand gegenüber am wenigsten empfindliche Tier bekannt ist, im Serum eine Fülle spezifischer Fixatoren führt, dagegen der eben geborene, der Infektion gegenüber empfindliche Hund, gerade wie das ebenfalls empfindliche Rind, deren keine führt, sowie daß schließlich das Kaninchen, das zuweilen eine gewisse Widerstandsfähigkeit aufweist, in diesen Fällen in seinem Serum den Keimen gegenüber die Eigenschaften der Sensibilisatrices wahrnehmen läßt.

Bedeutungsvoller ist das Verhalten des Rattenserums, denn, wenn gleich das Blut dieses Tieres in vitro dem Milzbrand gegenüber als ausgesprochen bakterizid zu Tage tritt, so vermag es der Infektion gegenüber doch keineswegs Widerstand zu leisten (Metschnikoff und Roux). und wenn man im Augenblick der Injektion die bakterizide Wirkung des längs des Stichkanals ausgetretenen Blutes zu vermeiden versteht, so wird die Ratte der Infektion gegenüber äußerst empfindlich. Nun enthält aber ihr Serum keine für den Bacillus spezifischen Antikörper.

Es tritt somit in den von Natur immunen Tieren eine direkte Beziehung der Immunität zur Gegenwart spezifischer Fixatoren im Serum zu Tage, die viel konstanter ist als diejenige zum bakteriziden Vermögen.

Bei der ersten Versuchsreihe, wobei die von Bordet zur Auffindung der Sensibilisatrices vorgeschlagene Methode zur Anwendung kam, dienten mir als Bakterienelement Kulturen hämatischen Milzbrandes drei verschiedener Stämme. Einer kam aus der Sammlung unseres Laboratoriums, ein anderer war uns kurz vorher vom hygienischen Institute in Siena übersandt worden; der letzte entstammte dem bakteriologischen Institute von Král. Die beiden letzten Stämme waren in hohem Grade virulent.

Das Antimilzbrandserum wurde mir freundlichst von dem Laboratorium des städtischen Gesundheitsamtes überlassen. Nun schien mir aber der dem Serum zu seiner Erhaltung beigegebene Schwefeläther auf das Ergebnis der Versuche störend einzuwirken, zwar nicht in Bezug auf die Eigenschaften des Serums (Versuche Ottolenghis haben dargetan, daß der Zusatz von Aether bis zu 10 Proz. selbst 20 Proz. das bakterizide Vermögen in keiner Weise beeinträchtigt), wohl aber in Bezug auf die Hämolyse, die ein Indikator für die Versuche ist. Aus diesem Grunde befreite ich das Serum mittels Verdampfung in einem mit einer Saugpumpe in Verbindung stehenden Exsikkator von seinem Aethergehalt; im übrigen ist die Wirkung der zur Inaktivierung des Serums erforderlichen Wärme (Erhitzung auf 55° C 1/2 Stunde lang) zur Entfernung des Aethers hinreichend.

Nachstehend gebe ich in Form einer Tabelle in Kürze die hauptsächlichsten Ergebnisse der verschiedenen Proben, zu denen ich sterilisiertes Material verwandte und alle Sorgfalt obwalten ließ, damit in den verschiedenen Momenten der Zubereitung sich keine Verunreinigung einstellen konnte.

Probe	Emulsion mit Milzbrandbacillen ¹⁾	Emulsion mit Colibacillen	Inaktiviertes Antimilzbrandserum	Inaktiviertes Schafserum	Inaktiviertes Eselserum	Physiologische Lösung	Frisches Kaninchenserum (Alexin)	Hämolytischer Befund
	Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen	
1.	8	—	24	—	—	—	3	negativ
2.	8	—	—	24	—	—	3	positiv
3.	8	—	—	—	24	—	3	—
4.	—	—	24	—	—	—	3	—
5.	8	—	24	—	—	—	—	negativ
6.	—	8	24	—	—	—	3	positiv
7.	8	—	—	—	—	24	3	—
8.	—	—	—	—	—	24	3	—

Nach ca. 6 Stdn. werden auf 20° C 4 Tropfen sensibilisierter roter Blutkörperchen beigefügt.

In der Tabelle ist der Ausfall der Proben dargestellt, für die alle Kontrollröhrchen den guten Zustand der Elemente der betreffenden Proben nachgewiesen hatten, und zwar: Ausreichende Sensibilisation der roten Blutkörperchen, Wirksamkeit des Alexins, geeignete Berührungzeit zwischen Serum und Keimen etc.

Daraus kann nun folgendes abgeleitet werden: Der hämatische Milzbrandbacillus erwirbt (Probe I) durch Einwirkung des Slavoschen Antimilzbrandserums die Eigenschaft, Alexin zu fixieren, d. h. in dem Serum ist für den Keim selbst eine Sensibilisatrice vorhanden. Die Eigenschaft tritt nicht zu Tage, wenn der Bacillus mit dem Serum eines frischen Tieres (Esel und Schaf) oder mit physiologischer Lösung (Probe II, III und VII) in Berührung kommt. Das Schutzserum besitzt keine Einwirkungsfähigkeit auf andere Keime (B. coli, Probe VII).

Ueberdies verhindert das Serum an und für sich bei Abwesenheit der Mikrobenemulsion die Hämolyse nicht (Probe IV), ebensowenig wie die Blutkörperchen bei fehlendem Alexin in Hämolyse übergehen (V). Der letzte Versuch erprobt die gute Anpassung des Alexins an die

1) Von einer ca. 20-stündigen in wenig physiologischer Lösung emulsierten Agarkulturpatine.

hämolytischen Antikörper, die die beigefügten roten Blutkörperchen in Fülle besitzen.

Schließlich sei noch bemerkt, daß bei allen 3 Stämmen der Ausfall der Proben derselbe war.

Hat nun das inaktivierte Antimilzbrandserum (d. h. das ohne Alexin und ohne Bakterienabtötungsvermögen) einen Einfluß auf das Verhalten der Bacillen in Beziehung zu den Leukocyten? Ist da, wo ein Einfluß sich geltend macht, der Grund dafür in der Bindung jener Ketten (spezifische Fixatoren) an den Keim zu erblicken, deren Existenz vorstehend nachgewiesen worden ist?

Die Beziehungen der Leukocyten zu der Evolution der Infektionskrankheiten ist bekanntlich der Angelpunkt der durch die Studien Metschnikoffs und seiner Schule angeregten, wissenschaftlichen Bewegung, Studien, welche hauptsächlich darauf hinausgingen, die Erscheinungen nachzuweisen, die in dem immunen oder empfindlichen Organismus infolge der Mikrobeninvasion auftreten.

Was nun ganz besonders den Milzbrand betrifft, so wurde das Einschreiten der Leukocyten als Schützer des Organismus von mehr als einem Forscher hervorgehoben. So behauptet Pettersson, der sich lange mit diesem Argumente abgab, daß der Ausgang der Infektion von dem Grade der Leukocytose abhängt, und daß der Unterschied zwischen dem frischen und dem immunisierten Tier in dem in letzterem vorkommenden stärkeren Zufluß von Leukocyten bestehe, der eintritt, sobald dem Tiere Bacillen inokuliert werden. Andererseits pflichtet er jedoch der Ansicht Metschnikoffs nicht bei; denn er ist nicht der Ansicht, daß dem Zufusse von Leukocyten Phagocytose folge. Nach ihm ist die Zerstörung der Keime extracellulär.

Ich erinnere hier noch an die Ansicht Kisskalts, für den die Immunität eine auf die Verdauung der Mikroben gerichtete Funktion der Leukocyten ist, sowie an die von De Nittis mehrfach beobachtete Phagocytose bei gegen Milzbrand geimpften Tieren.

Bevor ich nun zur Aufzählung der von mir in vitro bei den Untersuchungen mit Sclavoschem Serum beobachteten Erscheinungen schreite, gedenke ich einer Arbeit Neufelds und Rimpaus, die festgestellt haben, daß das Antistreptokokkenserum eine lebhaftere Phagocytose hervorruft, die sich jedoch nur bei solchen Streptokokken äußert, die zuvor vom Serum beeinflusst worden waren. Verff. behaupten überdies, daß dieselbe Erscheinung, wenn auch in schwächerem Maße, ebenfalls bei den Pneumokokken wahrgenommen werden kann. Aehnliches wurde auch schon von Savtchenko beobachtet bezüglich der sensibilisierten roten Blutkörperchen, nur legte dieser Verf. die Erscheinung in einer Weise aus, die hier übergangen werden kann.

Zu meiner zweiten Versuchsreihe dienten außer dem Immunserum und den schon zu der ersten Versuchsreihe verwandten Kulturstämmen die weißen Blutkörperchen der Meerschweinchen.

Ich injizierte zur Sicherheit des Gelingens gleich 2 Meerschweinchen in die Bauchhöhle 8—10 ccm einer passend präparierten alkalischen Leguminlösung. Mit einem Abstand von 8—9 Stunden öffnete ich die Bauchhöhle und suchte dabei jede Blutung möglichst zu vermeiden, sog dann das Exsudat der Bauchhöhle, eine fadenziehende, citronengelbe Flüssigkeit, in eine physiologische Lösung (ca. 37°) enthaltende Pipette ein. Das Exsudat erwies sich unter dem Mikroskop leukocytenreich.

Ich trennte diese nun und wusch sie mit wiederholter Zentrifugation. Bei dieser Behandlung veränderten sich zwar viele Zellen und gingen auch ganz zu Grunde, auf dem Boden des Versuchsglases aber schlug sich eine bedeutende Quantität meist vielkerniger Leukocyten nieder, deren vorzüglich erhaltener Zustand durch die mikroskopische Prüfung unzweifelhaft erwiesen war. Ich schüttelte hierauf den Leukocytenniederschlag mit einigen Kubikcentimetern physiologischer Lösung durch und erhielt so die gewünschte Aufschwemmung weißer Blutkörperchen.

I. Verhalten der weißen Blutkörperchen gegenüber den mit inaktiviertem Antimilzbrandserum behandelten Milzbrandbacillen.

Ich emulsierte einige Oesen Agarkulturpatine (ca. 20-stündige) in wenigen Kubikcentimetern inaktivierten Serums, ließ beide 6 Stunden lang bei 37° in Berührung, während deren ich zeitweise die Mischung umschüttelte. Dann zentrifugierte ich, entfernte das Serum und ersetzte es durch ca. 2 ccm physiologischer Lösung. In einem Serumreaktionsröhrchen vermischte ich hierauf 12—15 Tropfen einer Bacillenemulsion mit gleicher Quantität Leukocytenaufschwemmung und beließ diese Mischung bei 37°.

Mit Zwischenabständen von 15 Minuten untersuchte ich dann unter dem Mikroskop im hängenden Tropfen und auf dem geheizten Objektisch eine Oese der Mischung. Schon bei der ersten Beobachtung war ein beginnender phagocytärer Prozeß deutlich erkennbar, der bei den nachfolgenden Beobachtungen immer deutlicher zu Tage trat; nach Verlauf von 2—1 Stunde war er vollständig.

Wenngleich nun die Phagocytose bei der Prüfung im hängenden Tropfen mit Vorliebe in ihren charakteristischen Formen erscheint, so kann man das Präparat doch auch im gewünschten Augenblicke fixieren und färben. Auf beigefügter Tafel sind einige Felder dieser Präparate getreulich mikrographisch ohne jede Retouche wiedergegeben, welche die successiven Momente der Erscheinung illustrieren und von der strahlen- oder kettenförmigen Anordnung der Bacillen an der Peripherie der Leukocyten (Fig. 1), von der Einhüllung des Keimes durch amöboiden Bewegungen des Protoplasmas (Fig. 2) bis zu den bald wenige, bald zahlreiche Mikroorganismen enthaltenden Phagocytformen gehen (Fig. 3—6).

II. Wiederholung der I. Probe mit gradweiser Verminderung der Berührung zwischen Serum und Keimen.

Auf Grund verschiedener Versuchsbefunde muß ich annehmen, daß die Erscheinung bei 4—5-stündiger Berührung sich nicht verändert. Im Durchschnitt beobachtet man bei weniger langer Berührungszeit eine geringere und abfallende Tätigkeit des phagocytären Prozesses, der bei nur 1—2-stündiger Berührung äußerst spärlich ist.

III. Verhalten der weißen Blutkörperchen gegenüber normalen Bacillen.

Gleiche Dosen einer Bacillenemulsion in physiologischer Lösung und einer Aufschwemmung weißer Blutkörperchen werden unter den in Probe I obwaltenden Bedingungen in Berührung gebracht und gehalten. Bei diesen Versuchen tritt ungefähr innerhalb 2 Stunden wohl in einigen Blutkörperchen Phagocytose auf, doch wird dieser Befund nur äußerst

selten festgestellt, was besonders im Vergleich mit dem aktiven Prozeß, der unter den Bedingungen der Probe I beobachtet wurde, ganz besonders in die Augen springen mußte.

Wollte ich die Intensität der Erscheinung in beiden Fällen zahlenmäßig und annähernd wiedergeben, so könnte ich auf Grund der Zählung der aktiven und der inaktiven Leukocyten sagen, daß, während man unter den Verhältnissen der Probe III ein aktives Blutkörperchen auf 20 passive zählte, bei Probe I das Verhältnis der beiden ca. 15 zu 20 war.

IV. Verhalten der weißen Blutkörperchen bei Behandlung mit Immunsorum den normalen Bacillen gegenüber.

Ich schwemmte Leukocyten in intaktem und inaktiviertem Antimilzbrandserum auf, verteilte die Aufschwemmung auf 5 Versuchsröhrchen, die ich auf 37° C hielt. Jede Stunde wurde ein solches herausgenommen und das Serum nach Zentrifugation entfernt, dann durch physiologische Lösung ersetzt und schließlich eine kleine Quantität Bacillenaufschwemmung hinzugefügt, so daß also in den 5 Röhrchen die Zeit der Einwirkung des Serums auf die Elemente von 1—5 Stunden geht.

Auch hier beobachtete ich selten Phagocytose, die als Erscheinung bewertet, mit der bei Probe III beobachteten verglichen werden kann.

Weisen nun aber die mit dem Slavoschen Serum in Berührung gebliebenen Leukocyten hinsichtlich der mit dem Serum behandelten Keime doch positive Chemotaxis auf, die der der normalen gleichkommt?

Um dies zu erproben, schwemmte ich in physiologischer Flüssigkeit Leukocyten auf, auf die das Serum 2—5 Stunden lang eingewirkt hatte, setzte eine vorher mit dem Serum selbst behandelte Bacillenemulsion bei, und erhielt damit eine aktive starke Phagocytose, wie wenn es sich um normale Blutkörperchen gehandelt hätte.

V. Verhalten der Leukocyten gegenüber den mit inaktiviertem Schaf- und Eselsserum oder mit physiologischer Lösung behandelten Bacillen.

Ich beobachtete mit der gewöhnlichen Technik nur wenige Beispiele von Phagocytose, somit also ein Befund, wie der bei Probe III¹⁾.

Der jeweils angeführte Ausfall des Versuches entbindet mich davon, in eingehender Weise besondere Schlüsse vorzuführen, die sich ohne weiteres von selbst ergeben. Ich beschränke mich also darauf, hier das Wichtigste zusammenzufassen.

Die hinreichend verlängerte Einwirkung des Slavoschen inaktivierten Antimilzbrandserums auf den Bacillus des hämatischen Milzbrandes läßt ersteren derartige Veränderungen annehmen, daß der nur ausnahmsweise normalen Bacillen gegenüber aktive Phagocytose dem Bacillus gegenüber eine starke positive Chemotaxis hervortreten läßt.

Im Verlaufe der beschriebenen Untersuchungen bot sich mir nicht die geringste Erscheinung dar, die darzutun vermocht hätte, daß die die

1) Laut Befund der mit Mikroorganismen (*B. coli*, *Kommabacillus*, *Staphylococcus pyogenes aureus*) angestellten Versuche ruft das in Frage stehende Serum, was die Phagocytose anbetrifft, nur seinem spezifischen Keime gegenüber Phagocytose hervor.



Fig. 1.

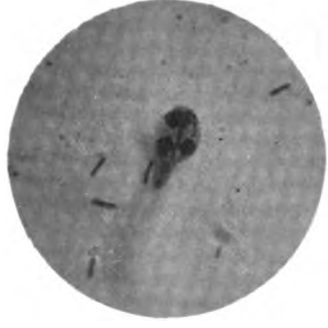


Fig. 2.

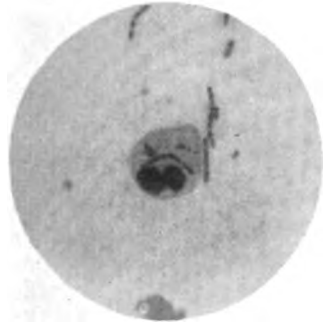


Fig. 3.

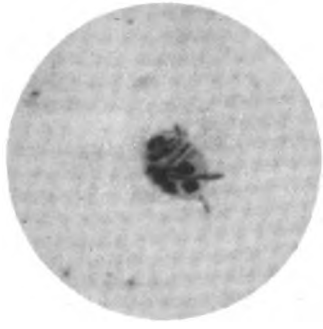


Fig. 4.

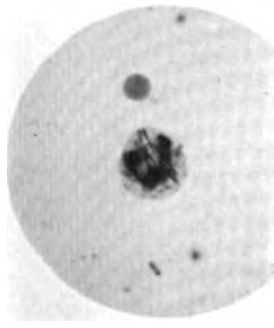


Fig. 5.

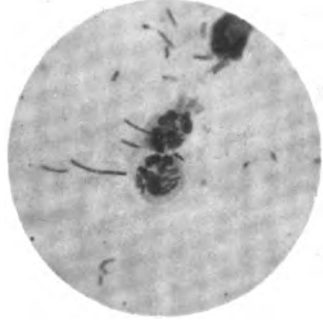


Fig. 6.

Chemotaxisvariation herbeiführenden bakteriellen Veränderungen der Bindung derselben Ketten zugeschrieben werden müssen, die wir Antikörper oder Sensibilisatrices nennen, Ketten, die das Alexin bei der Bordet-Gengouschen Probe fixieren. Glaubt man nun wirklich, daß man es hier tatsächlich mit 2 verschiedenen Stoffen zu tun habe, so würden sie verschiedenen Merkmalen zufolge verwandt erscheinen, und zwar zufolge ihrer spezifischen Beschaffenheit, zufolge ihrer Widerstandsfähigkeit gegen $\frac{1}{2}$ -stündiges Erhitzen auf 56° C, zufolge der notwendigen ca. 3-stündigen (37°) Berührung mit dem spezifischen Objekt, die erforderlich ist, damit ihr Einfluß wahrgenommen werden kann.

Wenn den wenigen bis jetzt vorhandenen bezüglich experimentellen Erfahrungen neue Studien und neue Untersuchungen angereicht und wenn diese beweisen werden, daß es sich um eine einzige Substanz handelt, so ist die auf Erkennung des phagocytären Prozesses gerichtete Untersuchungsmethode, die eventuelle spezifische Fixatoren entdecken soll, dazu berufen, wenigstens die Bedeutung einer wichtigen Kontrolle zur Probe der Alexinfixation zu erhalten, ein Nachweis, der infolge schon bekannter und für die Pluralität der Alexine sprechende Tatsachen ins Schwanken geraten ist.

Literatur.

- Ehrlich, Dtsche med. Wochenschr. 1901: p. 865, 888, 913.
 Pattersson, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. Heft 1.
 Marchoux, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1895. No. 12.
 Casagrandi, Batteriologia im Man. dell' Igiene di Celli.
 Sclavo, Rivista d'Igiene e san. pubblica. Vol. XIV. 1903; 1904. Vol. I.
 Ottolenghi, Atti dell' Accad. dei Fisiocrit. Serie 4. Vol. XIV.
 — —, Ibid. Vol. XVI.
 Malvoz, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. No. 8.
 Metschnikoff et Roux, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891.
 Bordet, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901. No. 5.
 Kiskalt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. Heft 1.
 De Nittis, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901.
 Neufeld u. Rimpau, Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 40.
 Savgchenko, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. No. 2.

Nachdruck verboten.

Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik.

[Aus der I. deutschen medizinischen Klinik in Prag
 (Vorstand: Hofrat Prof. Pribram).]

Von Viktor Kafka.

Die Frage nach der Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik hat eine umfangreiche Literatur aufzuweisen, die weit auseinandergelungene Meinungen und Vorschläge enthält. Obzwar die meisten der angegebenen Methoden im Laufe der seit Jahren an dieser Klinik geführten Untersuchungen über die Agglutination einer vergleichenden Prüfung unterzogen und während dieser Zeit einzelne als zu wenig verläßlich aufgegeben und andere gewählt worden sind, haben wir bis jetzt es für überflüssig erachtet, auf diese methodische Seite der Agglutinationsdiagnostik näher einzugehen. Erstens war bis

vor kurzem die Ausführung dieser Reaktion so gut wie ausschließlich nur in eigens dafür eingerichteten Laboratorien möglich; die meisten der größeren Laboratorien haben ihre eigenen Arbeitsmethoden oder mindestens ihre eigenen methodischen Abweichungen; die Ausführung der nötigen Kontrolluntersuchungen, die im Laufe der Zeit gewonnene Erfahrung und Uebung vermochten es, jedes der genannten Institute trotz verschiedener Methoden in gleich sicherer Weise vor Irrtümern und Fehldiagnosen zu bewahren; — zweitens war, indem man die Agglutination bis vor kurzem als artspezifisch ansehen und sich bei Ausführung der Reaktion auf eine, höchstens zwei als beweisend geltende Verdünnungen beschränken konnte, das für praktisch diagnostische Zwecke notwendige Verfahren verhältnismäßig noch sehr einfach.

Diese Sachlage hat aber in beiden genannten Richtungen eine wesentliche Aenderung erfahren.

Zupnik und seine Mitarbeiter¹⁾ haben bewiesen, daß die Agglutination nicht art-, sondern gattungsspezifisch ist, d. h. daß untereinander verschiedene, jedoch derselben Gattung angehörige Bakterienarten von einem und demselben Blutserum spezifisch agglutiniert werden. In besonders prägnanter Weise ist diese Gattungsspezifität bei jenen Krankheitsprozessen vorhanden, die Zupnik als „typhoide“ zusammenfaßt. Von menschlichen Infektionskrankheiten gehören hierher der Abdominaltyphus; die beiden Arten von Paratyphus, die Psittakose und die in ihrer Zahl noch nicht genau definierbaren Arten von Fleischvergiftungen. Der moderne, wie es schien, ätiologisch einheitliche Begriff: „Typhus abdominalis“ der bakteriologischen Aera stellt demzufolge nur einen Sammelnamen ätiologisch differenter „typhoider“ Erkrankungen sui generis dar; bei exaktem Vorgehen kann vom klinisch symptomatologischen Standpunkte nicht von einem „Typhus“, sondern nur im allgemeinen von einer „typhoiden“ Erkrankung die Rede sein; die nähere Natur der Krankheit ist, wie es die Arbeiten genannter Autoren beweisen, nur durch eigens darauf gerichtete Untersuchungen zu ermitteln.

Ihrem Wesen nach hat diese, die Erkennung des Krankheitsprozesses allein ermöglichende Agglutinationsdiagnostik folgende sowohl in qualitativer, wie quantitativer Beziehung wichtigen Aenderungen aufzuweisen: bei jeder klinisch als „Typhus“ imponierenden oder verdächtigen Erkrankung müssen erstens für Agglutinationszwecke von vornherein die Erreger aller bekannten menschlichen typhoiden Erkrankungen herausgezogen werden, zweitens, es muß für jede dieser Bakterienarten der oberste Agglutinationstitre ermittelt und drittens die Agglutininstruktur bei einzelnen typhoiden Erkrankungen gekannt und berücksichtigt werden²⁾.

1) Zupnik und Posner, Typhus und Paratyphus. (Prag. med. Wochenschr. 1903. No. 18.) — Güttler, Vorteile und Nachteile des Fickerschen Typhusdiagnostikums. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 51 u. 52.) — Zupnik, Ueber gattungsspezifische Immunitätsreaktionen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLIX. 1905. Heft 3.)

2) Die näheren Kriterien dieser Diagnostik sind in der genannten Arbeit von Güttler kurz skizziert. Weitere Einzelheiten in dieser Richtung enthält die aus dieser Klinik von Klemens publizierte Arbeit: Ueber die praktische Leistungsfähigkeit diagnostischer Flüssigkeiten für typhoide Erkrankungen des Menschen (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 40), insbesondere aber die vor kurzem erschienene Publikation von Zupnik: Ueber die differentialdiagnostische Bedeutung des Agglutinationstiters für Typhus und Paratyphen. (Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 44.)

Die andere der eingangs erwähnten Aenderungen der Sachlage ist den Bemühungen Fickers zu danken. Die weitesten Kreise praktischer Aerzte sind heute in der Lage, mit Hilfe der von diesem Forscher hergestellten diagnostischen Flüssigkeiten eine, wie es die Mitteilung von Klemens¹⁾ beweist, ätiologisch exakte Diagnose der drei häufigsten typhoiden Erkrankungen des Menschen zu stellen.

So scheint es denn jetzt an der Zeit, die vielen Methoden der Agglutinationstechnik einer kritischen Sichtung und vergleichenden Prüfung zu unterziehen; es gilt hierbei zunächst die Frage zu beantworten, welche von diesen Methoden den oben angeführten modernen Forderungen zu entsprechen vermögen; dann: welche der letzteren die sichersten Resultate liefert; schließlich: welche der verlässlichsten Methoden sich durch größte Einfachheit auszeichnet. Dies zu beantworten, ist der Zweck der vorliegenden Publikation.

Mit Rücksicht auf den Umfang des Gegenstandes wollen wir die in Betracht kommenden Punkte einer gesonderten Besprechung unterziehen. Es betreffen dieselben zunächst die Technik der Blutentnahme und Serumgewinnung, — dann die zweckmäßigste Beschaffenheit der Bakterienkulturen — die Versuchsanordnung, den Verdünnungsmodus, — die Beobachtungsweise, — die Beobachtungszeit — den Einfluß verschiedener Temperaturen und schließlich jenen der Bewegung auf Raschheit und Stärke der Reaktion.

Es sei hier bemerkt, daß wir selbstverständlicherweise die Literatur dieses Gegenstandes, soweit sie uns zugänglich war, genau berücksichtigt haben; in der experimentellen Ueberprüfung einzelner Angaben konnten wir uns hingegen — auf die reichen Erfahrungen dieser Klinik gestützt — auf bestimmte Punkte beschränken. Eine Anzahl von Methoden, die für die ursprünglichen, einfachen Verhältnisse bestimmt waren, vermag nämlich von vornherein den heutigen Anforderungen der Agglutinationsdiagnostik nicht zu entsprechen, und hat darum nur ein historisches Interesse; eine Anzahl von anderen Methoden wurde an dieser Klinik früher geübt und dann, aus weiter unten anzuführenden Gründen verlassen; hier haben wir, trotzdem uns zahlreiche Versuchsprotokolle zur Verfügung stehen, es für hinreichend gehalten, das Resultat dieser vergleichenden Prüfung nur summarisch, ohne experimentelle Belege für jede einzelne, anzuführen.

Was nun die Technik der Blutentnahme betrifft, so finden wir in Bezug auf das geeignetste Instrument, die zu wählende Körperstelle und das Sammelgefäß die verschiedensten Angaben. Gruber²⁾, Haedke³⁾, Bensaude⁴⁾, Hammerschlag⁵⁾, Stäubli⁶⁾ empfehlen eine Lancette zum Anstechen, Widal⁷⁾, Clamann⁸⁾, Blum⁹⁾ bedienen

1) l. c.

2) Gruber, Beitrag zur Serumdiagnostik des Typhus abdominalis. (Münch. med. Wochenschr. 1897.)

3) Haedke, Die Diagnose des Abdominaltyphus und Widals diagnostisches Verfahren. (Deutsche med. Wochenschr. 1897. p. 21.)

4) Bensaude, Le phénomène de l'agglutination des microbes. (Thèse pour le doct. en méd. Paris 1897.)

5) Hammerschlag, Ueber Widals Typhusreaktion. (Prager med. Wochenschr. 1897. No. 30—32.)

6) Stäubli, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 48. p. 2127.

7) Widal, Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. (Sem. méd. T. XXXIII. p. 259.)

8) Clamann, Zur Technik der serodiagnostischen Reaktion mittels des Fickerschen Typhusdiagnostikums. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 28. p. 1025.)

9) Blum, Zur Serodiagnostik des Typhus abdominalis mittels des Fickerschen Diagnostikums. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 41. p. 1829.)

sich einer Spritze; C. Fraenkel¹⁾, Lichtheim²⁾, Breuer³⁾ verwenden eine Hohlnadel, v. Jaksch⁴⁾ und Ficker⁵⁾ ziehen den Schröpfkopf vor. Was die Körperstelle anbelangt, so wird die Fingerbeere von Grünbaum⁶⁾, Haedke⁷⁾, Hammerschlag⁸⁾, C. Fraenkel⁹⁾, Pfaundler¹⁰⁾, v. Tiling¹¹⁾, Skutetzky¹²⁾ empfohlen, das Ohrläppchen von Gruben¹³⁾, Schottelius¹⁴⁾, Martineck¹⁵⁾, eine Vene der Ellenbogenbeuge von Bensaude¹⁶⁾ (bei Anwendung des procédé de culture à l'étuve), Breuer¹⁷⁾, Mesnil de Rochemont¹⁸⁾, Fischer¹⁹⁾, Blum²⁰⁾. Auch bezüglich des Aufnahmegefäßes ist Verschiedenes vorgeschlagen worden, doch soll, da von vielen Autoren dieses Gefäß direkt zum Anstellen der Verdünnungen benutzt wurde, davon weiter unten gehandelt werden. An dieser Stelle sei bemerkt, daß es nicht an Autoren fehlt, die die Verwendung von getrocknetem Blut oder Serum empfehlen. So ließ Widal²¹⁾ das entnommene Blut 6 Stunden auf Papier trocknen, dann den Tropfen heraus schneiden und in Wasser lösen, Pick²²⁾ verfuhr ähnlich, Richardson²³⁾ ließ das Serum auf Fließpapier trocknen und gab $\frac{1}{4}$ qcm desselben in $\frac{1}{2}$ ccm Typhusbouillonkultur, Mac Farland²⁴⁾ zertrümmerte das getrocknete Blut im Mörser und setzte zu dem abgewogenen Pulver die Bacillenkultur; auch Libman²⁵⁾, v. Tiling²⁶⁾ empfehlen die Anwendung von getrocknetem Blute.

Zu den voranstehenden Mitteilungen wäre folgendes anzuführen: zunächst bezüglich der Trockenmethode, daß sich gegen dieselben schon Trumpp²⁷⁾ ausgesprochen hat, weil, wie er angab, Gummi- und Leimlösungen positive Agglutination vortäuschen können. Außerdem spricht gegen diese Methode, schon davon abgesehen, daß sie die für differential-

- 1) Fraenkel, C., Ueber den Wert der Widalschen Probe zur Erkennung des Typhus abdominalis. (Deutsche med. Wochenschr. 1897. No. 3.)
- 2) Lichtheim, Zit. nach Paltauf, Die Agglutination in Kolle-Wassermanns Handbuch. Bd. IV. p. 645.
- 3) Breuer, Berl. klin. Wochenschr. 1897. No. 47 u. 48.
- 4) v. Jaksch, Zeitschr. für Heilkunde. 1903. Heft 11. p. 420.
- 5) Ficker, Ueber ein Typhusdiagnostikum. (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 45.)
- 6) Grünbaum, Lancet 19. Sept. 1896.
- 7) Haedke, l. c.
- 8) Hammerschlag, l. c.
- 9) Fraenkel, C., l. c.
- 10) Pfaundler, Eine handliche Methode zur Messung der agglut. Fähigkeit des Blutes Kranker. (Wien. klin. Wochenschr. 1898. No. 21.)
- 11) v. Tiling, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 48. p. 2129.)
- 12) Skutetzky, Ueber den Wert des Fickerschen Typhusdiagnostikums. (Zeitschr. f. Heilk. 1904. Heft 8.)
- 13) Gruber, l. c.
- 14) Schottelius, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 15.
- 15) Martineck, ibidem.
- 16) Bensaude, l. c.
- 17) Breuer, l. c.
- 18) Mesnil de Rochemont, Ueber die Gruber-Widalsche Serumdiagnostik bei Typhus abd. (Münch. med. Wochenschr. 1897. No. 5. p. 105.)
- 19) Fischer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. 1899.
- 20) Blum, l. c.
- 21) Widal et Sicard, Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. p. 20.
- 22) Pick, G., Wien. klin. Wochenschr. 1897. No. 4.
- 23) Richardson, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXI. p. 445.
- 24) Mac Farland, New York Journ. of med. Soc. Vol. CIII. p. 441.
- 25) Libman, Medical News. March 1902.
- 26) v. Tiling, l. c.
- 27) Trumpp, Arch. f. Hyg. Bd. XXIII.

diagnostische Untersuchungen nötigen Mengen von Serum nicht zu liefern vermag, vor allem der Umstand, daß sie ein genaues quantitatives Arbeiten — das heute die Grundbedingung einer sicheren Diagnose abgibt — unmöglich macht. Eine wenn auch geringere quantitative Ungenauigkeit haftet der direkten Verwendung von nativem, in besonderen Mischapparaten¹⁾ verdünntem Blute an. Das Verhältnis zwischen Blutflüssigkeit und festen Blutelementen weist nämlich bei verschiedenen Kranken verschiedene Werte auf und es sind daher die bei dieser Methode erhaltenen Titre nur approximativer Natur. Ueberdies bietet das Arbeiten mit nativem Blute speziell für weniger Geübte noch eine weitere Fehlerquelle dar, indem, selbstverständlicherweise nur bei makroskopischer Beobachtungsweise oder Lupenbetrachtung, durch die Erythrocytensuspension eine schwache positive Reaktion einerseits verdeckt, andererseits vorgetäuscht werden kann. Gegen die Verwendung nativen Blutes spricht ferner der nicht gering zu veranschlagende Umstand, daß die mit so viel Mühe von zahlreichen Forschern ermittelten Werte sich auf das abgeschiedene Blutserum beziehen. Es ist somit aus genannten Gründen das Arbeiten mit getrocknetem wie nativem Blute unzuverlässig, und es ist als das einzig verlässliche Ausgangsmaterial das Blutserum zu betrachten.

Was nun die genannten Angaben über die Instrumente zur Blutentnahme, über den Ort, an dem diese ausgeführt werden soll, über die Aufnahmegefäße betrifft, so ist alles dies von ganz unwesentlicher Bedeutung, weil ohne jeglichen Einfluß auf Verlauf und Ausfall der Reaktion. Eines nur ist im Auge zu behalten: es muß soviel Blut gewonnen werden, daß die abgeschiedene Serummenge für die nötigen Untersuchungen ausreicht. Für praktisch-diagnostische Zwecke sind alle besonderen Apparate und Instrumente überflüssig. Ein einige Millimeter breites Messer, mit dem man den Einstich in eine Fingerbeere vornimmt, und ein beliebiges, ca. 1 cm breites, nicht steriles Gefäß, irgend ein Gläschen, eine Eprouvette, ein Fläschchen, genügen vollkommen. Für diagnostische Zwecke arbeiten wir an dieser Klinik seit vielen Jahren — jährlich werden hierbei bei durchschnittlich mehr als 100 Typhuskranken die differentialdiagnostischen Untersuchungen ausgeführt — in dieser einfachen Weise; zu besonderen Maßnahmen zwecks Blutentnahme, so z. B. zu einer Venaepunctio, greifen wir nur dann, wenn für spezielle, den Rahmen der praktisch-diagnostischen Bedürfnisse überschreitende Untersuchungen entweder steriles Serum oder größere Mengen desselben benötigt werden.

Wurde das Blut auf die beschriebene einfache Weise entnommen, so gewinnt man das Serum am zweckmäßigsten, indem man das Blut 1–2 Stunden stehen läßt, nach Ablauf dieser Zeit das Koagulum mit Hilfe eines sterilen oder sorgfältig gereinigten Instrumentes von der Wand des Gefäßes ablöst und letzteres zwecks besserer Abscheidung des Serums im Kühlen weiter aufbewahrt. Auch der praktische Arzt wird das im allgemeinen durchführen können. Das Wichtigste ist nämlich die Ablösung des Koagulums von der Wand; ob man das Gefäß nachher stehen läßt oder durch eine gewisse Zeit bei sich trägt, oder aber einer Untersuchungsstation einsendet, ist mehr oder weniger gleichgültig; denn wir können aus unserer Erfahrung mitteilen — wir er-

1) Die einzelnen Apparate werden weiter unten angeführt.

halten oft aus entfernten Orten auf diese Weise behandeltes Blut zugesickt — daß diese Proben uns stets die nötige Menge von Serum liefern; im Falle einer Trübung läßt sich dieselbe durch Zentrifugieren leicht beseitigen. Die Serumquantität selbst, die zur Ausführung der differentialdiagnostischen Untersuchung erforderlich ist, wird weiter unten im Zusammenhang mit der Versuchsanordnung besprochen werden.

Wir wenden uns nun der Besprechung des zweiten Reagens: der bakterienhaltigen Flüssigkeit zu. Hier sind die Meinungen der Autoren geteilt; die einen, wie Gruber¹⁾, Scheffer²⁾, Haedke³⁾, Stern⁴⁾, Fischer⁵⁾, Kolle⁶⁾ empfehlen Agarkulturen, sei es in direkter Anwendung (ösenweise), oder nach vorausgegangener Suspension derselben in einer indifferenten Flüssigkeit; die anderen, wie Widal⁷⁾, Breuer⁸⁾, Mesnil de Rochemont⁹⁾, Richardson¹⁰⁾, Pfuhl¹¹⁾, Laubenheimer¹²⁾, Rostoski¹³⁾, Bouillonkulturen. Alle sind darin einig, daß das Resultat der Agglutination vom Alter der Kulturen beeinflußt wird, indem ältere Kulturen viel zu leicht agglutiniert werden und infolgedessen wenig Verlässlichkeit bieten; die einzelnen Angaben verschiedener Autoren weisen in dieser Richtung nur ganz geringe Abweichungen auf und es kann die Forderung: brauchbare Kulturen müssen 12, höchstens 24 Stunden alt sein, als allgemeines Postulat bezeichnet werden.

Was nun den Kulturboden selbst anbelangt, so muß Bouillonkulturen der Vorzug gegeben werden, vorausgesetzt, daß die zu prüfenden Bakterien in Bouillon eine gleichmäßige Trübung bilden: zunächst erfordert das Anlegen der Kultur bei diesem Nährboden viel weniger Mühe, als auf Agar, dann ist die entwickelte Kultur als solche, ohne jede weitere Präparation für den Versuch fertig, während Agarkulturen zuvor steril aufgeschwemmt und zumeist zum Zwecke der Befreiung von größeren Partikelchen filtriert werden müssen; des ferneren gelingt es nur schwer, die auf der Agaroberfläche in Verbänden zusammenhängenden Massen so zu verteilen, daß in der Emulsionsflüssigkeit nur einzelne Bacillen und keine Häufchen enthalten sind. Diese Schwierigkeiten sind in der vor kurzem erschienenen Publikation von Porcile¹⁴⁾ besonders betont. Es weist dieser Verf. darauf hin, daß manche Agarkultur „sich

1) Gruber, l. c.

2) Scheffer, Berl. klin. Wochenschr. 1897. p. 224.

3) Haedke, l. c.

4) Stern, Die Fehlerquellen der Serodiagnostik. (Berl. klin. Wochenschr. 1897. No. 11 u. 12.) — Ueber den Wert der Agglutination für die Diagnose des Typhus abdominalis. (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 30 u. 31.)

5) Fischer, l. c.

6) Kolle, Serodiagnose des Typhus abdominalis. (Deutsche med. Wochenschr. 1897. No. 9.) — Ueber den jetzigen Stand der Choleradiagnose. (Klin. Jahrb. Bd. XI. Heft 3. p. 394.)

7) Widal, l. c.

8) Breuer, l. c.

9) Mesnil de Rochemont, l. c.

10) Richardson, l. c.

11) Pfuhl, Centralbl. für Bakt. Bd. XXI. 1897.

12) Laubenheimer, Experimentelle Beiträge zur Veränderlichkeit der Agglutination bei Typhus abdominalis. [Inaugural-Dissertation.] Gießen 1903.

13) Rostoski, Die Serumiagnostik. (Würzburger Abhandlungen aus dem Ges. der prakt. Med. Bd. IV. 1902. Heft 2.)

14) Porcile, Beitrag zur differentialdiagnostischen Untersuchung der Typhus- und typhusähnlichen Bakterien mit Hilfe der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. L. 1905. Heft 2. p. 215.)

trotz aller erdenklichen Sorgfalt und Vorsicht sehr schwer zerreiben läßt“ (p. 224) und daß oft auch nach gelungener gleichmäßiger Verteilung „erst nachträglich bei einer völlig homogenen Bakterienaufschwemmung“ das Bild der sogenannten „Pseudoagglutination“ auftritt. Diese in der zu prüfenden Flüssigkeit von vornherein vorhandenen Flocken können nämlich Anlaß zu Irrtümern geben, indem sie bei mikroskopischer Beobachtung eine positive Agglutination vortäuschen und bei makroskopischer eine solche gewissermaßen verursachen können. Denn durch Untersuchungen von Zupnik¹⁾ steht fest, daß Bakteriensuspensionen, die an und für sich Bakterienhäufchen enthalten, gleichgültig, ob es Agaraufschwemmungen oder Bouillonkulturen sind, schon durch Zusatz von normalen Seris bei makroskopischer Beobachtung einen starken positiven Ausschlag zeigen können.

Mit besonderer Prägnanz kommt diese Tatsache dort zum Vorschein, wo die betreffenden Stämme von Hause aus größere, mit bloßem Auge leicht wahrnehmbare Flocken bilden. Hier bewirken öfters normale Sera eine komplette Ausfällung der Bakterien sogar in Verdünnungen von über 1:100000.

Schließlich bietet das Arbeiten mit Bouillonkulturen gegenüber den Agarkulturen auch den Vorteil einer größeren Gleichmäßigkeit und Gleichwertigkeit, indem auch nur annähernd gleich starke Agarkultursuspensionen viel schwerer darzustellen sind, als annähernd gleichwertige Bouillonkulturen. So werden wir zu Agarkulturen nur dann Zuflucht nehmen, wenn die zu prüfende Bakterienart, wie z. B. viele Streptokokken oder Diphtheriebacillen, die Bouillon klar läßt oder in derselben schon von Hause aus Flocken bzw. Flöckchen bildet.

Den Bestrebungen, ein ungefährliches, zu jeder Zeit brauchbares und überall erhältliches Untersuchungsmaterial zu haben, entsprang eine Reihe von Angaben, die für Agglutinationszwecke abgetötete Bakterien empfehlen. Schon im Jahre 1896 konnten Widal und Sicard²⁾ mitteilen, daß Kulturen, die entweder durch $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ -stündige Erhitzung bei 57—60° oder durch Formolzusatz im Verhältnis von 1:50 abgetötet wurden, verwendbar sind. Durham³⁾ hat zur Abtötung das Chloroform, Van de Velde⁴⁾ Sublimat, Karbolsäure (1:100) und Thymol bis zur Sättigung empfohlen. Rolly⁵⁾ tötete durch Toluol im Ueberschuß ab; nach Aufbewahrung im Brutschrank wurden die Kulturen geschüttelt und in Arzneitropfgläser mit Glasstöpsel abgefüllt. Die meisten Anhänger hat die Formolabtötung. Sie wurde geübt von Arsamasskow⁶⁾ (0,5 Proz.), Pröscher⁷⁾ (auf 100 Teile einer eintägigen Typhusbouillonkultur einen Teil einer 40-proz. Formollösung,

1) Zupnik, Ueber gattungsspezifische Immunitätsreaktion. (Zeitschr. für Hyg. 1905. Heft 3. p. 527.)

2) Widal et Sicard, La réaction agglutinante sur les bacilles morts. (Bull. de l'Acad. de méd. Sept. 1896.) — Widal, Etude sur le sérodiagnostic. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.)

3) Durham, A theory of active and passive immunity. (The Lancet. 1897. Vol. II. p. 410.)

4) Van de Velde, zit. nach Bensaude l. c.

5) Rolly, Zur Diagnose des Typhus abdominalis. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 24.)

6) Arsamasskow, Bolitschnaia Gazeta Botkina. 1897.

7) Pröscher, Zur Anstellung der Widalschen Reaktion. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. p. 400.)

2 Tage bei 37°, vom Satz abgießen und dann im Eisschrank); Kretz¹⁾ (Formoldämpfe); Rostoski²⁾ (zu 48-stündiger Bouillonkultur 1 Proz. einer 10-proz. Formollösung, 24 Stunden bei 37° und dann Abfüllung in gut geschlossene kleine Röhrchen); Lion³⁾ (1 Proz.).

Alle diese diagnostischen Flüssigkeiten wiesen jedoch das Uebel auf, daß sich die darin enthaltenen Bakterien nach kürzerer oder längerer Zeit sedimentierten und die Flüssigkeiten daher für diagnostische Zwecke nicht mehr geeignet waren. Ficker⁴⁾ nun ist ein brauchbares Emulsionsverfahren gelungen. Da die Vorteile und Nachteile des Typhusdiagnostikums des genaueren in der genannten, aus dieser Klinik hervorgegangenen Publikation von Güttler⁵⁾, und die Leistungsfähigkeit der beiden Paratyphusdiagnostika von Klemens besprochen werden, können wir uns an dieser Stelle darauf beschränken, zu betonen, daß die Fickerschen Paratyphusdiagnostika in ihrer Agglutinationsfähigkeit den bestagglutinablen lebenden Stämmen beider Paratyphusarten gleichkommen und daß voraussichtlich auch das Typhusdiagnostikum mit dieser Qualität ausgestattet werden wird⁶⁾.

Für den praktischen Arzt kommt demnach die Auswahl des Nährbodens und die Züchtung überhaupt nicht in Betracht, indem die Fickerschen diagnostischen Flüssigkeiten bei den drei häufigsten typhoiden Erkrankungen eine verlässliche ätiologische Diagnosenstellung erlauben.

Wir gelangen nun zur Besprechung der Versuchsanordnung. Einleitend wollen wir bemerken, daß die vielen Wandlungen, die gerade auf diesem Gebiete zu verzeichnen sind, in allererster Linie den jeweilig herrschenden Ansichten über die Höhe der diagnostisch benutzbaren quantitativen Werte verdanken. Außer diesen Momenten waren da selbstverständlich Gründe rein praktischer Natur, wie Einfachheit in der Anordnung und Raschheit der Ausführung — Umstände, welche, wie sonderbar es auch klingt, gerade die kompliziertesten Methoden gezeitigt haben — bei der Wahl resp. Modifikation der Versuchsanordnung mitbestimmend.

Wir wollen jedes der genannten Momente einer gesonderten Besprechung unterziehen. Zunächst sollen die von verschiedener Seite angeführten, als beweisend angesehenen quantitativen Forderungen kurz genannt werden; denn wollen wir die verschiedenen Apparate und Verfahren, die zur Ausführung der nötigen Verdünnungen angegeben wurden, kurz skizzieren und zum Schlusse auf jene Versuchsanordnung eingehen, wie sie durch die Forschungsergebnisse der jüngsten Jahre sich als letztes und, wie wir glauben, richtiges Verfahren ergibt.

1) Kretz, Beiträge zur Kenntnis der Agglutination. (Jahrb. d. Wien. Krankenanst. Bd. VI. 2. Teil.)

2) Rostoski, l. c.

3) Lion, Die Methoden zur Ausführung der Gruber-Widalschen Reaktion. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 21. p. 908.)

4) Ficker, Ueber ein Typhusdiagnostikum. (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 45.)

5) Güttler, l. c.

6) Die Verbesserung hat bereits stattgefunden. Näheres in der genannten Publikation von Klemens. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 40.)

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*Rolle des MgH_4PO_4 bei der Zubereitung von Nährböden¹⁾.[Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie der Universität
Warschau (Direktor Uschinsky).]

Von Dr. Ar. Cache.

Es steht fest, daß die Mikroorganismen dieselben Elemente der Asche brauchen, wie die höheren Organismen; eigentümlich ist den Mikroorganismen, daß zu ihrer Entwicklung oft eine unbedeutende Menge von Nährsalzen genügt. Indes wachsen Mikroorganismen nicht in gut destilliertem Wasser, wiewohl auch dieses eine gewisse Menge Salze enthält, eine Tatsache, die sich nicht auf chemischem Wege feststellen läßt, wohl aber durch die Untersuchung der elektrischen Leitungsfähigkeit des Wassers. Nun findet man in der Literatur Angaben über den Wert verschiedener Elemente für die Entwicklung der Mikroben. Die von verschiedenen Autoren (Robin, Koch, Nencki, Kramer und anderen) vorgenommenen Analysen der Asche von Mikroorganismenleibern widersprechen sich häufig sehr; diese Tatsache erklärt sich nicht sowohl daraus, daß die angewendeten chemischen Methoden für die geringen Mengen zu roh gewesen wären, als vielmehr aus der verschiedenen Zusammensetzung der Nährböden, von denen man die Kulturen zur chemischen Analyse entnommen hatte. Von diesem Gesichtspunkte aus sind die Resultate interessant, die man bei der Anwendung eiweißfreier Nährböden zur Kultur der Mikroorganismen gewonnen hat. Die Arbeit von Raulin über das Wachstum von *Aspergillus niger* kann als Beispiel dafür dienen.

Verschiedene Autoren haben später eiweißfreie Nährböden vorgeschlagen, deren elementare Zusammensetzung die folgende Tabelle wiedergibt:

Ferd. Cohn	C, O, N, H	S, P, K, Mg, Ca,
Nägeli	C, O, N, H	S, P, K, Mg, Ca, Cl,
Uschinsky	C, O, N, H	S, P, K, Mg, Ca, Cl, Na
C. Fraenkel	C, O, N, H	P, K, Cl, Na
Gamaleya	C, O, N, H	P, Na
Proskauer und Beck	C, O, N, H	S, P, K, Mg,
Loew	C, O, N, H	S, P, K, Mg, Ca, Cl, Na
Winogradsky	C, O, N, H	P, K ohne organische Substanz.

Wir haben nur die charakteristischsten unter den vorgeschlagenen eiweißfreien Nährböden ausgewählt; die anderen stellen nur Varianten der angeführten dar. Bei Prüfung der Zusammensetzung der soeben erwähnten Nährböden sehen wir, daß die von Loew und Uschinsky am meisten Elemente enthalten. Der wesentliche Unterschied zwischen ihnen ist, daß der Nährboden von Loew nur einen organischen Körper, das Natriumsalz der Oxymethylsulfosäure, enthält, während die Lösung Uschinskys das Salz der Asparaginsäure, das Salz der Milchsäure und Glycerine enthält. Andere Autoren haben die Zusammensetzung zu vereinfachen gesucht, was nach meinen Beobachtungen die Entwicklung der Mikroben bedeutend beeinträchtigt.

Das für die Untersuchung des Einflusses der Salze auf die Ent-

1) Mitgeteilt in der russischen medizinischen Gesellschaft der Universität Warschau November 1904.

wicklung der Mikroorganismen geeignetste Objekt scheint mir das *Bacterium coli commune* zu sein, mit Rücksicht darauf, daß dieser Mikroorganismus in zuckerhaltigen Nährböden Gas produziert, dessen Menge uns einen bequemen Anhalt gibt, um die Fortschritte des Wachstums und der Entwicklung der Kulturen zu beurteilen. Von der großen Zahl von Arbeiten, die dem *Bacterium coli commune* gewidmet sind (Kolle und Wassermann führen vor 1901 deren über 600 an), beschäftigen sich nur sehr wenige mit dem Studium der sehr variablen biologischen Eigenschaften dieses Mikroorganismus. Ich will nur erwähnen, daß man verschiedene Arten des *Bacterium coli commune* unterscheidet, je nach ihrer Kultur, nach der Fähigkeit, Zucker zu vergären oder nicht, und daß die Versuche auf eiweiß- oder peptonhaltigen Nährböden angestellt worden sind, d. h. in Medien von unbekannter Zusammensetzung an Salzen, daß indessen die letztere durchaus nicht ohne Einfluß auf den allgemeinen Gang des Gärungsprozesses ist.

Ich habe mich zur Bereitung von Nährböden in Glasgefäßen destillierten Wassers bedient und nach den Angaben von Kohlrausch nur den mittleren Teil des Destillates genommen, während ich den ersten und letzten weggoß. So zubereitetes Wasser hatte eine elektrische Leitungsfähigkeit, die einer Lösung von einem Grammmolekül in 10,000 l entsprach; dies genügte, zumal in diesem Wasser nur Ammoniak- und kohlen saure Salze vorhanden waren. Ueberdies wurde das gewonnene Destillat spektroskopisch geprüft, und eine Verstärkung des an sich kaum sichtbaren Natriumstreifens wurde nicht beobachtet. Unser Wasser ließ weder Schimmel noch andere Mikroorganismen zur Entwicklung gelangen.

Die zubereiteten Nährböden enthielten 1 Proz. Glukose, deren Reinheit auch durch die elektrische Leitungsfähigkeit und die Bestimmung des Gefrierpunktes festgestellt wurde.

Unsere Nährböden enthielten folgende Elemente:

No. 1: C, O, N, H (Glukose, Asparagin, NH_3 zur Alkalisierung).

No. 2: wie 1 + Na (NaOH und asparaginsaures Natrium).

No. 3: wie 2 + K + P (K_2HPO_4).

No. 4: wie 3 + S (Na_2SO_4).

No. 5: wie 1 + Amm. lact. + KCl.

No. 6: wie 3 + Glycerin + MgSO_4 (C, O, N, H, Mg, S, K, P).

No. 6': dasselbe ohne Glycerin.

Die Salze sind in denselben Verhältnissen genommen worden wie in dem Nährboden von Uschinsky.

Außer diesen sind auch noch verschiedene andere Nährbodenzusammenstellungen verwendet worden.

Aus all den sehr zahlreichen Impfungen von *Bacterium coli commune* auf diesen Nährböden geht klar hervor, daß die Gärung, bezw. die Abspaltung von Gas, nur unter ganz bestimmten Verhältnissen stattfinden kann. In den Nährmedien No. 1 und No. 2 ist genügendes Wachstum sichtbar, aber ohne Bildung von Gas; auf No. 3 und No. 4 ist das Wachstum üppiger, aber ohne Gasbildung; mit Cl im Nährboden bemerkt man manchmal eine geringe Produktion von Gas. Erst die Zufügung von Mg veranlaßt regelmäßig Gas, dessen Menge jedoch auch von anderen Umständen abhängt, von dem Verbrauch größerer oder geringerer Mengen von C und N zum Beispiel, u. s. w.

Ca (Calcium) zeigt einen dem Mg gleichen, aber schwächeren Einfluß. In der verhältnismäßig älteren Literatur (Mayer und andere) findet

man Angaben über die Rolle der Mg- und Ca-Salze bei den durch Hefen veranlaßten Gärungsprozessen; kürzlich hat beispielsweise Bokorny (1903) gezeigt, daß die Mg-Salze für diesen Vorgang notwendig sind.

Die alkoholische Gärung des *Bacterium coli commune* ist nur eine Nebensache im Leben der Bakterien; der Einfluß der Mg-Salze indes, der sich auch dabei geltend macht, läßt uns annehmen, daß es sich um etwas Wichtigeres als um ein einfaches Zusammentreffen von Tatsachen handelt. Neben anderen hat auch diese Beobachtung mich zum Nachdenken angeregt über die Wichtigkeit der Mg-Salze in Nährböden. Ohne daß ich alle Tatsachen, die mir betreffs dieser Frage zur Verfügung stehen, anführen will, werde ich mich darauf beschränken, eine Methode für die Zubereitung von Bouillon zu beschreiben, sehr bequem, und doch einen Nährboden von immer derselben Zusammensetzung für eine Serie von Bouillons abgebend.

Die Zubereitung der Bouillon bietet erhebliche Schwierigkeiten, wenn es einem auf Gleichmäßigkeit der Zusammensetzung und Reaktion ankommt. Dies erklärt vielleicht die Verschiedenheit der Ansichten in der Frage der Brauchbarkeit dieser oder jener Bouillon für einen bestimmten Mikroorganismus. Der wichtigste und schwierigste Moment bei der Zubereitung der Bouillon scheint mir die Herstellung einer geeigneten Reaktion zu sein. Eine unbedeutende Aenderung der Korrektion u. s. w. hat erhebliche Modifikationen in der molekularen Zusammensetzung der Flüssigkeit zur Folge. Indem ich den Einfluß der verschiedenen Mg-Verbindungen auf die Entwicklung der Kulturen beobachtete und mich von der wichtigen Rolle dieses Elements überzeugt hatte, kam ich auf den Gedanken, es als Ammoniakmagnesiaphosphat ($MgNH_4PO_4$) zuzusetzen, das in Wasser nur wenig löslich ist (0,07 auf 10000,0). Die Bouillon wird folgendermaßen zubereitet: Man nimmt 250 g Fleisch, 500 g Wasser und 1,0 $MgNH_4PO_4$ und läßt dies in einem Kolben 24 Stunden in der Kälte stehen. Durch Filtration gewinnt man 500 g Fleischsaft, der auf seine alkalische Reaktion geprüft wird; dann fügt man 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. NaCl zu, setzt das ganze in den Autoklaven und läßt die Temperatur während 2 Minuten auf 120° steigen. Ehe man den Autoklaven schließt, ist es wichtig, den Kolben öfters zu schütteln, um die ganze Flüssigkeit gleichmäßig zu erwärmen, aus dem gleichen Grunde ist es auch gut, keine großen Portionen zu nehmen. Wenn man nicht genau dafür sorgt, daß die Flüssigkeit gleichmäßig erhitzt wird, wird man nach der Sterilisation einen unvermeidlichen Niederschlag bemerken, der die Bouillon trübt und sich auch bei der Abkühlung nicht löst.

Nach dem Filtrieren der abgekühlten Flüssigkeit haben wir eine klare und durchsichtige Bouillon von sehr guter, gegenüber Lackmus leicht alkalischer Reaktion. Die Entwicklung der Mikroorganismen in unserer Bouillon geht sehr gut von statten, sogar besser, als in den auf gewöhnliche Weise zubereiteten Nährböden. Ein so empfindlicher Mikrobe wie der *Streptococcus pyogenes* lebt darin viel länger als in gewöhnlicher Bouillon. Auch die Virulenz hält sich darauf verhältnismäßig lange, und die frischen Kulturen erweisen sich auf unserer Bouillon viel virulenter als auf einem gewöhnlichen Medium: wenn eine, von einer gewöhnlichen Bouillon genommene Kultur eine Maus am 4. bis 6. Tage tötet, so tötete sie eine Kultur von den unserigen in 2 bis 3 Tagen. Von einer Magnesiabouillon entnommenes Tetanustoxin tötete

in einer Dosis von 0,06 ein Meerschweinchen von 600 g in 28 Stunden; eine von gewöhnlicher Bouillon genommene Dosis 0,06 tötete ein Meer-schweinchen von 400,0 g in 36–40 Stunden. Die Diphtherie entwickelt sich darauf auch vorzüglich; ihre Toxine sind nicht schwächer als die von gewöhnlicher Bouillon.

Typhus, Coli, Pyocyaneus und andere wachsen darauf sehr üppig.

Die mit unserer Bouillon hergestellten festen Nährböden zeichnen sich durch ihre Durchsichtigkeit aus; alle Arten Mikroben, die geprüft wurden, entwickeln sich sehr gut; besonders wunderschön wachsen der Streptococcus erysipelatis und der Diplococcus pneumoniae darauf.

Um nochmals zusammenzufassen, vereinfacht ein Zusatz von Mg NH₄PO₄ zum Nährboden die Technik der Bouillonbereitung und gibt sehr gute durchsichtige Nährböden von gleicher molekularer Zusammensetzung für die ganze Serie; die Mikroorganismen wachsen sehr gut auf diesen Nährböden: also kann ich unsere Methode zum allgemeinen Gebrauch empfehlen.

Nachdruck verboten.

Die auf dem v. Drigalski-Conradischen Nähragar wachsenden Bacillen, nebst einigen Bemerkungen über den Bacillus faecalis alcaligenes. [Aus dem hygienischen und bakteriologischen Institute des Herrn Prof. Dr. R. H. Saltet, Amsterdam.]

Von Dr. J. Th. Terburgh.

Durch die Untersuchungen von v. Jaksch und Rau (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI. p. 584) ist deutlich hervorgetreten, daß das Plattenverfahren von v. Drigalski-Conradi, kombiniert mit der Koffein-Fleischwasser-Anreicherungsmethode von Hoffmann und Fischer (Hyg. Rundschau. Bd. XIV. Heft 1, sowie Arch. f. Hygiene. Bd. XLIX. Heft 3), das Auffinden von Typhusbacillen in Fluß- und Leitungswasser bedeutend erleichtert.

Bei dieser Methode wird die Identität der verdächtigen auf dem Agar in blauen Kolonien wachsenden Bakterien durch ihr Verhalten dem Typhusimmunserum gegenüber festgestellt. Für die schnelle Diagnose bietet diese Methode viele Vorteile, aber sie kann mitunter auch zur Fehldiagnose führen. Doeber (Arch. f. Hygiene. Bd. LII. p. 70) fand z. B. einen Alcaligenes-Stamm, welcher einen Agglutinations-titer von $\frac{1}{800}$ mit Typhusserum zeigte.

Es war darum nicht unerwünscht, unsere Kenntnis über den auf dem v. Drigalski-Conradischen Nähragar wachsenden Bacillus zu erweitern. Zu diesem Zwecke wiederholte ich die Experimente von v. Jaksch und Rau mit dem sehr von Fäkalien und Hauswasser verunreinigten Kanalwasser von Amsterdam.

Diese Untersuchungen wurden in der folgenden Weise eingeleitet: 900 ccm Kanalwasser wurden, wie vorgeschrieben, gemischt mit sterilen Auflösungen von 10 g Nutrose auf 80 ccm Wasser, 5 g Koffein auf 20 ccm Wasser und 10 mg Krystallviolett auf 10 ccm Wasser.

Dieses Gemisch verweilte während 12 Stunden in dem Brütöfen bei 37° C und nachher wurden von dieser Vorkultur wechselnde Mengen auf mehreren v. Drigalski-Conradischen Platten ausgesät¹⁾.

Diese Platten wurden jetzt während 24 Stunden bei 37° C gehalten, nach welcher Zeit viele rote, blaue und blaugrüne Kolonien aufgegangen waren. Von diesen Kolonien wählte ich diejenigen aus, welche makroskopisch in Farbe, Größe und Wachstum Unterschiede zeigten. Auf diese Weise bekam ich aus fünf Wasserproben, welche an verschiedenen Stellen von Amsterdam geschöpft waren, 59 g Kulturen. Nachdem ich ihre Reinheit auf v. Drigalski-Conrad-Platten abermals untersucht hatte und dabei 2mal einer Mischkultur begegnete, erhielt ich endlich im ganzen 61 Kulturen.

Von diesen 61 Kulturen hatten sich 18 rote Kolonien auf den Platten gebildet, wovon 16 ihrem kulturellen Verhalten nach als zu der Coli-Gruppe gehörend erkannt wurden. Wie aus folgender Tabelle hervorgeht, waren viele Varietäten dabei vertreten:

	Gasbildung in Glukosebouillon	Indolbildung	Milchgerinnung
Gruppe 1	+	+	+
2	+	+	—
3	+	—	+
4	+	—	+
5	—	—	—
6	—	+	—
7	—	—	—

Alle Stämme gehörten zu den beweglichen Arten, obwohl große Unterschiede im Grade der Beweglichkeit sich zeigten.

Bei dem Wachstum auf den v. Drigalski-Platten hatten die gefundenen Stämme in der Hauptsache nur eine Eigenschaft gemein, nämlich die rote Farbe der durch sie verursachten Kolonien und ihrer Umgebung. Weiter waren aber viele Unterschiede zu konstatieren.

So bildeten einzelne Stämme nach 24 Stunden nur 1½ mm breite Kolonien, während andere in derselben Zeit zu 5 mm großen Kolonien heranwuchsen. Die Ränder waren meistens scharf; einzelne Arten bildeten eine gelappte Kultur. Bei den meisten Stämmen waren die Kolonien im Zentrum undurchsichtig, mit weißer Auflagerung, bei einzelnen war das Zentrum ganz durchsichtig und hell.

Es gab aber nicht die geringste Uebereinstimmung zwischen dem Aussehen der Kolonien und ihren Kultureigenschaften. Kulturen, welche

1) Bei der Herstellung dieses Nährbodens änderte ich um etwas die von v. Drigalski gegebenen Vorschriften, da ich hiermit wechselnde Resultate bekam.

Es schien mir zweckmäßig, den Milchzucker nicht mit der Lackmustinktur gemischt zu sterilisieren, sondern jede Substanz für sich.

Bei 1 l Bouillon wurde also eine sterile Auflösung von 15 g Milchzucker auf 100 ccm Wasser zugesetzt, nachher schwach alkalisiert und gemischt mit:

2 ccm einer 10-proz. wässrigen Sodalösung,
18 ccm konzentrierter, wässriger Lackmustinktur*),
10 ccm Krystallviolettlösung (0,1 : 100).

*) Die Lackmustinktur wurde einfach so hergestellt, daß der aus dem Handel bezogene rohe Lackmus, nach Pulverisation, mit kochendem Wasser übergossen und der Aufguß nach Abkühlung filtriert wurde. Auch habe ich es probiert, vorher den rohen Lackmus mit Alkohol auszuwaschen, womit der rote Farbstoff entfernt wird, ohne aber Vorteile von dieser Bereitungsweise zu beobachten.

nach ihrem Aussehen auf den gewöhnlichen Nährböden zu einer bestimmten Gruppe zu rechnen waren, differenzierten sich auf den Drigalski-Platten.

Die Stämme der Gruppe 7. wurden noch auf ihre Agglutination mit Typhusimmunserum (1:10000) geprüft, doch hatte das Serum in einer Verdünnung von 1:10 keinerlei Einfluß.

Die zwei weiteren, rote Kolonien bildenden Bacillen verflüssigten die Gelatine und waren auch nach ihren anderen Kultureigenschaften zur Proteus-Gruppe zu rechnen.

Die jetzt noch restierenden 43 Kulturen hatten auf den v. Drigalski-Platten keine Säure gebildet, sondern waren als blaue Kolonien gewachsen.

Unter dieser *Alcaligenes*-Gruppe befanden sich zwei Kulturen, welche sich schließlich noch als, wenn auch schwache, Säurebildner zeigten. Sie bildeten einen schwach rot gefärbten, sehr schmalen Hof, rings um die blaue Kolonie.

Nach ihrer Form gehörten sie aber zu den Spirillen; sie bewegten sich lebhaft, färbten sich nicht nach Gram und zeigten in Peptonwasser nach 24 Stunden bei 37° C nach Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure eine gut sichtbare Nitrosoindolbildung. Im Gegensatz zu dem *Cholera vibrio* verflüssigten sie die Gelatine nicht.

Bei Nachprüfung zeigte sich, daß der *Cholera vibrio* keinen roten Hof auf den v. Drigalski-Platten bildete, sondern nur ein wenig intensive Entfärbung hervorrief. Inwieweit diese Erscheinung auf Säurebildung oder Reduktion zurückzuführen ist, wurde nicht weiter nachgeforscht.

Aus neun anderen blauen Kolonien konnte ein *Coccus* gezüchtet werden, welcher nicht näher bestimmt wurde, da eine Verwechslung mit typhusähnlichen Bacillen, der Form wegen, nicht möglich war.

Die jetzt noch restierenden Kulturen enthielten ohne Ausnahme Stäbchen, von deren 15 zu den folgenden Gruppen gehörten:

- Bacillus pyocyaneus* (2mal),
- „ *fluorescens liquef.* (4mal),
- „ „ *non liquef.* (6mal),
- „ *proteus vulgaris* (3mal).

Auf den v. Drigalski-Platten bildeten diese Bacillen immer blaue oder blaugrüne Kolonien, welche nach 24 Stunden bei 37° C einen Durchmesser von 1—2 mm erreicht hatten.

Auffallend ist es, daß in der Proteus-Gruppe sowohl Säure- wie Alkalibildner anzutreffen sind.

Drei Kulturen, welche auf v. Drigalski-Platten ebenfalls blaue Kulturen gebildet hatten, färbten die Petruschky'sche Lackmusmolke in 24 Stunden rot und vergärten Glukose unter Gasentwicklung.

Diese Gruppe zeigte die folgenden Eigenschaften:

Es sind Stäbchen von großer Beweglichkeit, welche nach Gram nicht färbbar sind. Sie wachsen sowohl aërob wie anaërob, bilden kein Indol, doch koagulieren sie die Milch. Gutes Wachstum auf Agar und Gelatine, an Ueppigkeit zwischen Typhus und *Coli* stehend; alte Kulturen zeigen eine gelbe Farbe. Auf Kartoffeln ebenfalls gelbe Kulturen.

Auf dem Nähragar von Drigalski-Conradi bilden sie nach 24 Stunden bei 37° C blaue, tautropfenähnliche, 2 mm große Kolonien, welche denen des Typhus sehr ähnlich sind. Milchzucker wird von ihnen also nicht angegriffen, wenn zugleich Nutrose anwesend ist; demzufolge wird auch Nutrose-, Laktose- und Lackmuslösung nicht geändert.

Nutrose-, Glukose- und Lackmuslösung wechselte seine blauviolette Farbe nach 24 Stunden in rot, während nach 2- oder 3mal 24 Stunden sich ein Bodensatz gebildet hatte. Neutralrot-Agar wurde unter Gasentwicklung reduziert.

Der Organismus unterscheidet sich von dem Typhus und speziell von dem Paratyphus durch sein Verhalten in der Petruschkysche Lackmusmolke. Schon nach 24 Stunden war die rote Entfärbung viel mehr angedeutet, wie bei einer zu gleicher Zeit angefertigten Typhus- und Paratyphuskultur. Diese rote Farbe erhielt sich obendrein bei den aus dem Kanalwasser isolierten Bacillen während 20 darauffolgenden Tagen, indem die Kulturen von 4 unterschiedenen Typhusstämmen, 1 Paratyphus A (Schottmüller) und 1 Paratyphus B (Kayser) in derselben Lackmusmolke nach 24 Stunden nur sehr wenig Säure gebildet hatten und nach 20 Tagen die Farbe wieder in die ursprüngliche oder in ein tieferes Blau übergeführt hatten. Dies letzte war der Fall mit 2 Typhusstämmen und den beiden Paratyphi, wovon der Paratyphus B schon nach 2mal 24 Stunden diese Erscheinung hervorrief.

Der gefundene Bacillus zeigte keine Agglutination in einer Verdünnung von 1:10 eines Typhusimmunserums, welcher 4 Typhusstämme, den Paratyphus A und den Paratyphus B in einer Verdünnung von resp. $\frac{1}{10\,000}$, $\frac{1}{50}$ und $\frac{1}{200}$ noch agglutinierte.

Auch von den jetzt noch übrig bleibenden Kulturen war es möglich, mit Hilfe der Petruschkyschen Lackmusmolke die Identität festzustellen; sie bildeten alle Alkali und gehören daher zu der Gruppe des *Bacillus faec. alcaligenes*.

In kultureller Hinsicht waren aber kleine Unterschiede zu konstatieren. Auf Agar, Gelatine und Bouillon wächst der eine Stamm in derselben Zeit viel üppiger, wie der andere. Bei Bouillonkulturen zeigt sich der Unterschied am deutlichsten. Es gab Stämme, welche die Bouillon schon nach 24 Stunden bei 37° C stark trübten, während andere erst nach 4mal 24 Stunden bei der gleichen Temperatur eine geringe Trübung verursachten. Nur drei Stämme bildeten ein deutliches Oberflächenhäutchen.

Auch der Größenunterschied war bei den auf v. Drigalski-Conradi wachsenden Kolonien sehr auffallend. Der eine Stamm bildete nach 24 Stunden bei 37° C. nur kleine, kaum wahrnehmbare Kolonien, von welchen der Durchmesser höchstens $\frac{1}{3}$ mm betrug, während bei anderen Stämmen die Kolonien einen Durchmesser von $\frac{1}{2}$ mm zeigten und also mehr mit den Typhuskolonien übereinstimmten, welche auf demselben Nähragar nach 24 Stunden zu einer Größe von 2 mm heranwuchsen.

Die meisten Stämme entwickelten sich besser aërob als anaërob, während bei anderen dieser Unterschied nicht zu konstatieren war und sie sich sowohl aërob wie anaërob kräftig entwickelten.

Auch die Kartoffelkulturen waren einander nicht ähnlich. Einzelne Stämme bildeten einen voluminösen gelben Streifen, während andere sich wie Typhuskulturen verhielten und einzelne einen unsichtbaren Belag hervorriefen. Bei diesen Experimenten wurde stets der Stamm, welcher zu prüfen war, gleichzeitig mit einer Typhuskultur auf die gleiche Kartoffel geimpft.

Unter den 14 *Alcaligenes*-Kulturen gab es also mehrere Varietäten.

Die Untersuchungen von Doebert (s. oben) haben gezeigt, wie einer der von ihm verwendeten *Alcaligenes*-Stämme sich dem Typhus

sehr näherte, und also war es von Interesse zu untersuchen, ob die von mir gezüchteten *Alcaligenes*-Stämme ein ähnliches Verhältnis aufwiesen.

Bei Agglutinationsversuchen mit dem oben erwähnten Typhusimmunserum (1 : 10000) zeigte nur ein *Alcaligenes*-Stamm eine Agglutination bei einer Verdünnung von 1 : 5. Dieser Stamm wurde denn auch zu weiteren Versuchen herangezogen, worüber unten Näheres mitgeteilt wird.

Wie aus dem Vorhergehenden zu schließen ist, war es möglich, die Organismen, welche auf den v. Drigalski-Platten blaue Kolonien bildeten, nach ihren kulturellen Eigenschaften zu identifizieren, und würden zufällig anwesende Typhuskeime sogleich entdeckt sein, auch wenn die alkaligenen Bacillen nur auf ihre Agglutination mit hochwertigem Typhusserum geprüft wären.

Es ist klar, daß die in blauen Kolonien wachsenden Stäbchen, sowie der *Bac. pyocyaneus*, fluoresc. und proteus mit Typhusserum nicht agglutinierbar sein werden, was überdies von mir untersucht wurde, aber, wie zu erwarten war, mit ganz negativem Resultat.

Ein Repräsentant der *Subtilis*-Gruppe wurde bei meinen Untersuchungen gar nicht angetroffen, obgleich Organismen dieser Gruppe bei anderen Untersuchungen im Kanalwasser von Amsterdam gefunden wurden. Vielleicht ist dieses dem Anreicherungsverfahren mit Koffein zuzuschreiben, was ich aber nicht nachgeprüft habe.

Wie ich schon oben mitteilte, zeigte einer der isolierten *Alcaligenes*-Stämme eine geringe Agglutination ($\frac{1}{5}$ +, $\frac{1}{10}$?) mit Typhusimmunserum (1 : 10000).

Obwohl diese Tatsache nicht hoch anzuschlagen war, ist sie doch nicht ganz ohne Bedeutung.

Wie bekannt, fand Doebert (s. oben) einen *Alcaligenes*-Stamm (*Alc. I*), welcher von Typhusserum — der seinen eigenen Stamm in einer Verdünnung von 1 : 2000 agglutinierte — noch in einer Verdünnung von 1 : 800 stark beeinflußt wurde. Auch agglutinierte das *Alc. I*-serum, mit einem Titer von 1 : 20000 für seinen eigenen Stamm, Typhus in einer Verdünnung von 1 : 1000.

Abgesehen von diesem geringeren Agglutinationsgrad, unterschied der *Alc. I* sich auch noch von Typhus durch das positive Verhalten der für die *Alcaligenes*-Gruppe eigentümlichen Kultureigenschaften.

So bildete der *Alc. I* einen gelbbraunen Belag auf Kartoffel und bläute Lackmusmolke bereits nach 24 Stunden intensiv.

Nachdem aber Doebert diesen *Alc. I* an drei Passagen durch Meerschweinchen unterworfen hatte, änderte der Stamm sich derart, daß er mit den gewöhnlichen Methoden (Kulturen, Agglutination) von einem echten *Typhus bacillus* nicht zu unterscheiden war.

Die Bedeutung dieser Beobachtung wird jedem klar sein, und da mir durch die oben beschriebene Untersuchung 14 *Alcaligenes*-Stämme zu meiner Verfügung standen, so war es nicht ohne Interesse, nachzuschauen, ob einer dieser Stämme nach mehreren Passagen durch Meerschweinchen vielleicht auch die für Typhus eigentümlichen kulturellen Eigenschaften bekommen würde. Der Stamm, welcher schon mit Typhusserum agglutinierte — sei es auch bei starker Konzentration — eignete sich am meisten für das Experiment. Im folgenden werde ich diesen Stamm als *Alc. A* andeuten und die anderen mit den Buchstaben B—O benennen.

Der Alc. A-Stamm zeigte die charakteristischen Alkaligenes-Eigenschaften. Er wuchs auf den üblichen Nährboden bei 37° C langsamer wie Typhus. Auf Kartoffel war nach 24 Stunden nur ein unbedeutender gelber Belag zu konstatieren; im Laufe der folgenden Tage nahm die Kultur die für Alkaligenes eigentümliche gelbbraune Farbe an. Die Lackmusmolke bläute er immer nach 2mal 24 Stunden, dann und wann auch schon nach 24 Stunden und immer wurde dabei ein Oberflächenhäutchen gebildet.

Auf den v. Drigalski-Platten bildete er nach 24 Stunden kleine blaue Kolonien, wovon der Durchmesser höchstens $\frac{1}{2}$ mm betrug; seine Virulenz war geringer, als die des Alc. I-Stammes, womit Doebert experimentierte.

Diese beiden Eigenschaften (langsameres Wachstum und geringe Virulenz) verzögerten das Experiment sehr, wie aus der folgenden Beschreibung herauszusehen ist.

Es wurde eine ganze, 2 Tage bei 37° C gewachsene Schrägagarkultur mit 1 ccm steriler Bouillon abgeschwemmt und diese einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Nach 24 Stunden war das Tier noch ganz munter und zeigte keine Krankheitssymptome.

Das Tier wurde aufgeopfert und man fand bei der Sektion nicht die geringste Spur eines Exsudates in der Bauchhöhle. Auch nach Abimpfung von der Oberfläche des Peritoneums auf Agar blieben die Röhren ganz steril.

Der jetzt zum Vorschein getretenen geringen Virulenz zufolge wurde ein zweites Meerschweinchen, das mit derselben Menge intraperitoneal injiziert war, schon nach 5 Stunden getötet. Bei der Sektion waren in der Bauchhöhle etwa 2 ccm Exsudat aufzufinden, wovon 1 ccm einem zweiten Meerschweinchen eingespritzt wurde.

Ein Teil des restierenden Exsudates impfte ich auf Agar, und waren nach 2mal 24 Stunden bei 37° C nur wenige, winzige Kolonien aufgegangen (Alc. A I).

Auch das zweite Tier war nach 24 Stunden noch ganz gesund. Nach Abtötung am Ende dieser Zeit fand sich in der Bauchhöhle nur ein kleiner Tropfen einer Flüssigkeit, welcher sofort auf Agar übergeimpft und erst nach 3mal 24 Stunden im ganzen 3 Kolonien lieferte (Alc. A II). Von einer dieser Kolonien wurden aufs neue Agarkulturen angefertigt und wieder eine ganze in Bouillon aufgeschwemmte Schrägagarkultur Meerschweinchen No. 3, intraperitoneal injiziert.

Das Tier fand ich am folgenden Morgen tot daliegend, während bei der Sektion ein bedeutendes Exsudat in der Bauchhöhle zu sehen war. 1 ccm dieses Exsudates wurde sofort Meerschweinchen No. 4 eingespritzt.

Das spontane Absterben von Meerschweinchen No. 3 hatte bei mir schon die Hoffnung rege gemacht, daß infolge der drei Tierpassagen die Virulenz sich schon gehoben hatte, aber diese Erwartung erfüllte sich nicht. Meerschweinchen No. 4 starb nicht und war nach 24 Stunden noch kerngesund. In der Bauchhöhle war nur ein unbedeutendes Exsudat zu sehen und wurde dies im ganzen auf Agar übertragen; nach 3mal 24 Stunden hatten sich daraus 2 Kolonien entwickelt (Alc. A IV).

Die Injektion einer dieser Kulturen in Meerschweinchen No. 5 gab wieder ein ähnliches Resultat (Alc. A V).

Die Virulenz änderte sich also nicht.

Vorläufige Untersuchungen hatten inzwischen ergeben, daß auch

die anderen Eigenschaften sich nicht geändert hatten, und nahm ich also von mehreren Passagen Abstand und stellte jetzt den durch fünf Tierpassagen gezüchteten Alc. A V dem Alc. A gegenüber.

Im Laufe des Experimentes war ein Kaninchen mit Alc. A und ein zweites mit Alc. B behandelt. Der Alc. B war einer der übrigen 13 *Alcaligenes*-Stämme, welcher von Typhusimmunserum (1:10 000) in einer Verdünnung von 1:5 gar nicht beeinflusst wurde. Nach 2 $\frac{1}{2}$ Monaten hatte das Alc. A-Serum einen Agglutinationstitre von 1:10 000 erreicht, während das Alc. B-Serum noch sehr wenig Einfluß auf seinen eigenen Stamm ausübte. Nachdem noch drei intraperitoneale Injektionen von 2—3 ganzen Agarkulturen gemacht worden waren, war der Agglutinationstitre nur bis $\frac{1}{400}$ angestiegen.

Das Tier sah jetzt sehr elend aus und es konnten also keine weiteren Injektionen gemacht werden, ohne Gefahr zu laufen, den Tod des Tieres herbeizuführen.

Im kulturellen Verhältnisse trat kein Unterschied hervor zwischen dem Alc. A und dem Alc. A V. Beide Stämme bläuten die Lackmusmolke ohne vorherige Säurebildung; auf der gleichen Kartoffel bildeten alle zwei einen ähnlichen, braungelben Belag, während sie auf den üblichen Nährböden weniger schnell wuchsen als der Typhus.

Auch die Beweglichkeit hatte sich nicht geändert. Typhusserum (1:10 000) hatte auf die zwei Stämme ganz gleichen Einfluß $\frac{1}{5}$ +, $\frac{1}{10}$? $\frac{1}{20}$ —).

Dem Alc. A-Serum gegenüber reagierten die zwei Stämme ganz gleich, auch nachdem durch weitere Behandlung der Agglutinationstitre auf 1:40 000 gestiegen war.

Das von Doebert mit dem Alc. I-Stamme erreichte Resultat konnte ich mit dem Alc. A-Stamme nicht erreichen. Daß dieses Resultat zu erreichen wäre mit einer der übrigen 13 *Alcaligenes*-Stämme, ist sehr unwahrscheinlich, da keiner dieser Stämme nur einigermaßen von dem Typhusserum agglutiniert wurde.

Der Alc. I-Stamm, womit Doebert experimentierte, nimmt also in der *Alcaligenes*-Gruppe eine ganz besondere Stelle ein.

Von den übrigen aus dem Kanalwasser gezüchteten *Alcaligenes*-Stämmen, sowie von 4 verschiedenen Typhusstämmen, wurde noch der Agglutinationstitre mit Alc. A- und Alc. B-Serum festgestellt mit der Absicht die gegenseitige Verwandtschaft zu ermitteln.

In der folgenden Tabelle (p. 265) sind die Resultate zu eruieren.

Wir sehen hieraus, wie das Alc. A-Serum (1:10 000) nur geringen Einfluß hat auf 6 *Alcaligenes*-Stämme und die übrigen sowie die Typhusstämme ganz unbeeinflusst läßt.

Alc. B-Serum (1:400) agglutinierte, mit Ausnahme seines eigenen *Bacillus*, keinen der *Alcaligenes*-Stämme, aber man darf hierbei nicht vergessen, daß dieses Alc. B-Serum nicht so hochwertig war wie das Alc. A-Serum.

Die unerwartete und ziemlich starke Agglutination der Typhusstämme durch das Alc. B-Serum bereitete mir eine große Ueberraschung. Unser Laboratoriumsstamm (Typhus 0) wurde noch in einer Verdünnung von $\frac{1}{50}$ deutlich agglutiniert. Dieses Ereignis war sehr auffallend, da ein hochwertiges Typhusserum (1:10 000) in starker Konzentration (1:5) den Alc. B-Stamm nicht zu beeinflussen vermochte.

Uebersehen wir die erreichten Resultate, so können wir nicht sagen, daß durch diese Untersuchungen ein helles Licht auf die Gruppe der

		Alc. A-Serum				Alc. B-Serum						
		1/5	1/10	1/20	1/10 000	1/5	1/10	1/20	1/30	1/50	1/75	1/100
Alcaligenes	A	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
"	B	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++	+
"	C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	D	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	E	+	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	F	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	G	+	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	H	+	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	I	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	L	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	M	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	N	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	O	+	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Typhus	0	—	—	—	—	++	++	++	++	++	+	—
"	1	—	—	—	—	++	++	+	+	+	—	—
"	2	—	—	—	—	++	++	+	+	+	—	—
"	3	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—

Alcaligenes-Stämme geworfen ist. Im Gegenteil haben sie das bestehende Chaos noch vermehrt. Aber deutlich haben sie gezeigt, wie unsere Kenntniss von dieser Gruppe noch sehr mangelhaft ist und weitere Nachforschungen auf diesem Gebiete sehr erwünscht erscheinen.

Das Problem über die größere oder geringere Verwandtschaft, welches zwischen einem oder mehreren Repräsentanten der Alcaligenes-Gruppe auf der einen Seite und dem Typhus auf der anderen Seite bestehen kann, ist von sehr großem Interesse, und würde es sich gewiß lohnen, danach zu streben, den jetzt noch darüber hängenden Schleier zu lüften.

Herrn Prof. Dr. R. H. Saltet sage ich für das Interesse an meiner Arbeit, Herrn Privatdozenten Alex Klein für seine stets freundliche Unterstützung aufrichtigen Dank.

Nachdruck verboten.

Ueber die Adsorption von Eiweißkörpern.

[Aus dem medizinisch-chemischen Institut (Vorstand: Prof. E. Ludwig) und dem patholog.-anatomischen Institut (Vorstand: Prof. A. Weichselbaum) in Wien.]

Von Dr. **Karl Landsteiner** und **Budolf Uhlirz**.

Die Veranlassung für diese Untersuchung gab die in früheren Arbeiten¹⁾ gestützte Annahme einer in manchen Punkten bestehenden Uebereinstimmung zwischen den Reaktionen der Immunkörper und den sogenannten Ad- oder Absorptionerscheinungen. Da über die Adsorption von Eiweißkörpern nur wenige Untersuchungen vorliegen, so hielten wir es für wünschenswert, in dieser Richtung einige Erfahrungen zu

1) Vergl. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 83 u. p. 309; Münch. med. Wochenschr. 1903 u. 1904. No. 27.

sammeln. Während des Ganges unserer Untersuchung erschienen übrigens zwei von ähnlichen Gesichtspunkten ausgehende Arbeiten von Biltz¹⁾ und Dauwe²⁾, von denen die erste namentlich die Adsorption von Toxinen, Lysinen, Agglutininen und Antitoxinen, die zweite die Aufnahme von Fermenten durch feste Körper abhandelt. Dauwe neigt dazu, die Fermentabsorption durch feste Substanzen den Lösungsvorgängen anzureihen.

Um zuerst möglichst einfache Fälle vorzunehmen, haben wir damit begonnen, die Aufnahme von Eiweißkörpern durch anorganische Pulver verschiedener Art zu untersuchen. Die verwendeten Eiweißkörper waren durch fraktioniertes Aussalzen von Pferdeserum hergestellte dünne Lösungen von Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin in 1-proz. Kochsalzlösung (entsprechend Ausfällungen bei $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{2}$ und voller Sättigung mit Ammonsulfat). Von diesen Lösungen wurden je 20 ccm mit 2 g der zu untersuchenden Pulver zusammengebracht, 10 Minuten lang unter mehrmaligem Durchschütteln in Berührung gelassen und dann durch Papier klar abfiltriert. Vor und nach dieser Behandlung wurde der Eiweißgehalt der Lösungen mit Hilfe der Esbachschen Methode schätzungsweise bestimmt. Die Anwendung der keineswegs genaue Zahlen liefernden Methode schien uns nur mit Rücksicht auf den Charakter dieser Untersuchung als einer vorläufig orientierenden zulässig. Da jedesmal mehrere Bestimmungen vorgenommen wurden, so gestattet das Verfahren immerhin die groben Ausschläge, wie sie sich in unseren Versuchen ergaben, mit Sicherheit festzustellen; aus kleinen Differenzen durfte aber kein Schluß gezogen werden.

In einer Anzahl von Proben ließen wir verschieden konzentrierte Eiweißlösungen von Kaolin adsorbieren, um ein Bild von der Aenderung der Adsorption mit der Konzentration der Lösungen zu bekommen. Es zeigte sich, wie bei früheren ähnlichen Untersuchungen, deutlich eine mit zunehmender Konzentration absolut gesteigerte, relativ verminderte Aufnahme der gelösten Stoffe.

Der Gehalt der Lösungen an Eiweiß und die adsorbierten Quantitäten sind in Prozenten angegeben.

Euglobulin. Konzentration der Lösung	Vom Kaolin aufgenommene Menge	Pseudoglobulin. Konzentration der Lösung	Vom Kaolin aufgenommene Menge
2,1	10	2,4	8
2,0	15	1,4	21
0,8	25	0,28	53
0,27	43	0,23	41
0,24	58	0,22	56
0,23	70	0,19	37
0,23	67	0,17	44
0,19	63		
0,19	70		
0,18	64		
0,17	71		
0,13	92		
0,12	89		

1) Beiträge z. experim. Therapie von E. v. Behring. Heft 10. Berlin (Hirschwald) 1905.

2) Hofmeisters Beiträge. Bd VI. p. 426. Lit.

Eine zweite Versuchsreihe sollte das Verhalten der drei Serumfraktionen, sowie des Eiweißes einer Abrinlösung (Toxalbumin aus Abrusamen) gegenüber einem adsorbierenden Pulver prüfen. Es ergab sich z. B. bei der Behandlung mit Kaolin:

Konzentration der Lösungen in Prozenten	Aufgenommene Menge in Prozenten von			
	Euglobulin	Pseudoglobulin	Albumin	Abrin
0,23	70	41	26	
0,19	63	37		34
0,19	70			26
0,17	71	44	24	24

Es geht aus diesen und ähnlichen Versuchen hervor, daß die untersuchten Eiweißsubstanzen des Serums entsprechend der leichteren Fällbarkeit durch Neutralsalze auch leichter durch die angewendeten Pulver adsorbiert wurden; es wurde also von Euglobulin mehr als von Pseudoglobulin und von diesem mehr als von Albumin aufgenommen. Es ist hier daran zu erinnern, daß die bei den Immunkörperreaktionen wirksamen Substanzen in den allermeisten Fällen mit den Globulinen zusammen aussalzbar sind und daher meist als globulinartige Körper betrachtet werden [Pick¹⁾].

Eine größere Anzahl unserer Versuche beschäftigte sich mit der Frage, welchen Einfluß die chemische Beschaffenheit der als adsorbierendes Material verwendeten Pulver auf den Vorgang ausübt. Wir benützten dabei die Erfahrungen, die Suida²⁾ in einer vor nicht langer Zeit erschienenen Arbeit über die Aufnahme von Farbstoffen durch anorganische Substanzen, namentlich Silikate, mitgeteilt hat.

Suida fand, daß basische Farbstoffe nur von solchen Silikaten aufgenommen werden, die ihrer Zusammensetzung nach saure Beschaffenheit haben, während neutrale oder basische Silikate sich nicht oder nur in geringem Grade anfärben. So ließen sich z. B. Kaolin, Talk, Meerschäum, Serpentin, Lepidolith mit basischen Farben intensiv färben, dagegen waren Bergkristall, Pyrop, Schwefelblumen, ferner einige unlösliche Sulfate, Karbonate und basische Oxyde nahezu unfärbbar. Suida stellte ferner fest, daß die mit den verwendeten basischen Farbstoffen ursprünglich verbundene Salzsäure nach dem Färben der Silikate, z. B. des Kaolin, in der Lösung zurückbleibt und gelangte nach den angeführten und anderen Versuchen, in denen sich eine äquivalente Aufnahme verschiedener basischer Farbstoffe durch gleiche Kaolinmengen nachweisen ließ, zu dem Schlusse, daß bei den untersuchten Reaktionen die Farbbasen chemische, salzartige Verbindungen mit den Silikaten eingehen. Unsere Versuche über die Eiweißaufnahme durch verschiedene pulverförmige, gefällte (und verriebene) oder fein geriebene anorganische Stoffe sind in der folgenden Tabelle (p. 268) wiedergegeben. (Versuchsordnung wie oben.)

Mit Rücksicht auf die Beobachtung von Suida, daß die Eigenschaft der sauren Silikate, sich anfärben zu lassen, durch Glühen aufgehoben wird, haben, wie auch einige Adsorptionsversuche mit Kaolin und Talk vor und nach mehrstündigem Glühen im Tiegel vorgenommen. Die Pulver wurden nach dem Glühen wieder gut verrieben (s. Tabelle p. 269).

1) Hofmeisters Beiträge. Bd. I. 1902.

2) Monatshefte für Chemie. Wien 1904.

Adsorbierende Substanz	Konzentration der Euglobinlösung in Prozenten	Adsorbierte Menge in Prozenten	Adsorbierende Substanz	Konzentration der Euglobinlösung in Prozenten	Adsorbierte Menge in Prozenten
Meerschaum	0,24	100	Mangansuperoxyd	0,23	26
	0,21	100		0,23	22
Kieselsäure, gefällt, käuflich	0,24	100		Lepidolith	0,23
	0,19	100	0,24		37
	0,19	100	0,21		21
	0,19	100	0,21		15
Eisenoxyd	0,23	98	Bleikarbonat	0,3	30
	0,23	98		0,29	28
	0,23	96		0,21	19
Kaolin	0,24	58	Kieselfluorkalium	0,19	24
	0,23	70		0,19	27
	0,23	67		0,19	22
	0,19	63	Graphit	0,21	24
Cuprikarbonat	0,18	61		0,21	24
	0,18	69		0,21	22
	0,18	69		0,21	19
Antimonsulfid	0,2	60	Calciumsulfat	0,21	21
	0,2	60		0,3	23
	0,2	55		0,29	17
Serpentin	0,27	52	Fluorcalcium, gefällt	0,2	15
	0,21	57		0,2	24
	0,21	50		0,2	16
Zinkoxyd	0,3	32	Flußspat	0,23	15
	0,29	69 (?)		0,23	20
	0,24	50		0,23	17
	0,24	33	Magnesiumkarbonat	0,29	19
	0,21	48		0,2	11
	0,2	43		Bergkristall	0,24
Arsensulfid	0,2	58	0,21		14
	0,2	50	0,21		14
	0,2	58	Arsentrioxyd	0,23	9
Mangankarbonat	0,29	57		0,23	9
	0,2	43		0,23	11
	0,2	48	Pyrop	0,24	24
Zinnoxyd	0,18	50		0,21	7
	0,18	53		0,21	17
	0,18	44		0,19	4
Antimontrioxyd	0,24	48		0,19	4
	0,24	35	Schwefel (Flor. sulf.)	0,24	12 (?)
	0,24	40		0,19	0
Talk	0,19	37		0,19	4
	0,19	32		0,19	0
	0,19	49		0,19	0
	0,18	50	0,19	0	
Baryumsulfat, gefällt	0,29	35	Silber, gefällt	0,23	20 (?)
	0,23	28		0,23	0
	0,23	18		0,23	0
	0,23	18		0,23	0
	0,23	24		0,23	0

Euglobin. Konzentration der Lösung	Aufgenommene Menge		Euglobin. Konzentration der Lösung	Aufgenommene Menge	
	Kaolin	geglühter Kaolin		Talk	geglühter Talk
2,0	15	0	0,19	34	24
0,8	25	17	0,19	49	27
0,23	67	47	0,12	48	3
0,19	63	53			
0,18	64	56			
0,17	71	60			
0,12	89	61			

Es ist zu bemerken, daß die geglühten Pulver, die für diese, sowie für eine Reihe anderer, mit ganz ähnlichem Resultat verlaufenen Proben verwendet wurden, ihre Färbbarkeit durch Kristallviolett noch nicht vollständig eingebüßt hatten.

Die oben wiedergegebenen Versuche zeigen, daß den verschiedenen verwendeten Stoffen ein sehr verschiedenes Aufnahmevermögen für Eiweißkörper zukommt, ein Verhalten, das nach den angeführten Daten wohl nicht mit der Annahme zu erklären ist, daß diese Aufnahme ausschließlich von der Oberflächenbeschaffenheit oder Größe der Partikel abhänge. Was die physikalische Beschaffenheit der Pulver anlangt, so sind allerdings die stark adsorbierenden Substanzen zumeist amorphe Pulver, ähnlich wie in den Versuchen von Suida die stark färbaren Pulver zumeist amorphe Beschaffenheit hatten, doch ergibt sich hier wie dort, daß auch kristallinische Substanzen ein hohes Aufnahmeverfahren haben können. So färbt sich z. B. Lepidolith und Serpentin stark und ebenso zeigte fein verriebener, kristallisierter Serpentin ein beträchtliches Adsorptionsvermögen für Eiweiß, hinter dem die Adsorption durch einige amorphe Substanzen zurückblieb. Das Beispiel des gefällten Baryumsulfates im Vergleich zu einigen anderen Stoffen, z. B. der verwendeten Kieselsäure und dem Eisenoxyde, lehrte ferner, daß es bei den Versuchen nicht allein auf die Feinheit der Pulver ankommen kann, wenn auch dieser Umstand gewiß von Bedeutung ist. In dieser wie in anderen Richtungen wäre eine ausführlichere Durcharbeitung der Versuche wünschenswert.

Wir halten es nach den angeführten Ergebnissen für wahrscheinlich, daß der chemischen Natur der Substanzen ein maßgebender Einfluß auf ihr Adsorptionsvermögen für Eiweiß zukommt. So zeigte es sich analog wie bei den zitierten Anfärbungsversuchen, daß Kieselsäure und saure Silikate (Kaolin, Meerschäum, Serpentin) mehr Eiweiß aufnahmen als nicht saure (Bergkristall, Pyrop), daß basische Oxyde mehr adsorbierten als einige neutrale Salze, daß elementare Stoffe, wie Schwefel und Silber, wenn überhaupt¹⁾, doch sehr geringe Mengen adsorbierten. Ganz ähnlich erhielten wir in früher mitgeteilten Versuchen (l. c.) nur mit kolloiden Lösungen basischen und sauren Charakters, nicht mit Metallsol Fällungen von Eiweißlösungen, sowie Blutkörperchenagglutination.

Die Verhältnisse liegen in unseren Versuchen von vornherein komplizierter als in denen von Suida, da, abgesehen von anderen Momenten, dort nur Farbstoffe mit ausgesprochenem Basencharakter, hier aber amphotere Eiweißkörper zur Reaktion gelangten, bei denen man die Fähigkeit, mit basischen und sauren Körpern zu reagieren, voraussetzen muß. Trotzdem besteht in den Resultaten eine gewisse

1) Unsere Beobachtungen gestatten darüber keine sichere Entscheidung.

Aehnlichkeit, so daß wir gerade die leichter überschaubaren Versuche mit Farbstoffen zur Stütze der Ansicht heranziehen möchten, daß auch bei den hier untersuchten Fällen von Eiweißadsorption chemische Kräfte intervenieren bzw. elektrische Anziehungskräfte, die, wie wir früher erörterten¹⁾, von der chemischen Natur der suspendierten Partikel abhängen.

Nachdruck verboten.

Eine neue Saugvorrichtung für Pipetten zur genauen Abmessung kleinster Flüssigkeitsmengen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.
Geh. Hofrat Prof. Dr. Schottelius.]

Von Dr. med. E. Küster, Privatdozent und I. Assistent.

Mit 1 Figur.

Will man im Laboratorium kleinste Mengen von Flüssigkeiten, welche man nicht durch Verdünnungsmittel auf ein größeres Volumen bringen darf, genau abmessen, so bedient man sich dazu graduerter Kapillarpipetten. Das Füllen dieser Pipetten geschieht in der Weise, daß man das untere, spitze Ende der Pipette in die betreffende Flüssigkeit eintaucht und an dem oberen Ende entweder direkt mit dem Munde oder mit einem aufmontierten Gummiball (bzw. aufgesetzten Spitze) saugt; befindet sich die aufzunehmende Flüssigkeit im Kapillarröhrchen, so kann man auch bei umgekehrter Pipette die gefüllte Kapillare direkt auf die Pipettenspitze aufsetzen, so daß ein Ueberlaufen der Flüssigkeit stattfindet. Nach dem Einfüllen muß dann die Flüssigkeitssäule in der Pipette zwecks Abmessung noch auf eine bestimmte Stelle der Gradeinteilung eingestellt werden, wobei das obere Ende der Pipette durch den aufgelegten Finger oder mit Gummischlauch und Quetschhahn abgeschlossen wird.

Die genannten Methoden haben gewisse Nachteile: das direkte Saugen mit dem Munde und Verschließen des oberen Endes der Pipette mit dem Finger gestattet zwar rasches Arbeiten, aber es können infektiöse, ätzende Flüssigkeiten oder giftige Dämpfe aspiriert werden (Laboratoriumsinfektionen!) und sehr kleine Mengen können in dieser Weise nur sehr schwierig abgemessen werden.

Ein Benützen von Gummischlauch, Saugballon, Aspirationsspritze und Quetschhahn macht das Füllen und Abmessen so umständlich, daß man in vielen Laboratorien bald wieder davon abgekommen ist; ebenso scheint ein strenges Einhalten der Asepsis bei diesem Verfahren nahezu ausgeschlossen.

Sind sehr kleine Mengen, z. B. Tausendstel eines Kubikcentimeters, abzumessen und ist von der ganzen Lösung nur sehr wenig vorhanden — wie es häufig bei den Widalblutproben der Fall zu sein pflegt — so wird häufig die aufgesaugte Flüssigkeitssäule allein durch das Schließen des Quetschhahnes wieder ausgepreßt, auch ist das Einstellen kleiner Mengen auf eine bestimmte Stelle der Skala durch den fehlerhaften Ausschlag beim Schließen der Schlauchklemme fast unmöglich.

1) l. c.

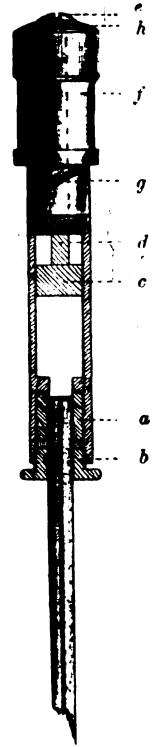
Um den obengenannten Unannehmlichkeiten und Gefahren zu begegnen, habe ich mir eine Saugvorrichtung für Pipetten konstruiert, die sich seit längerer Zeit am hiesigen hygienischen Institut und am Groß-Bad. Untersuchungsamt für Infektionskrankheiten gut bewährt hat und die ich deshalb der Beurteilung der Interessenten nachstehend übergeben möchte.

Unser Pipettenaufsatz ist wie folgt verfertigt: in einem Messingcylinder, an dessen unterem Ende die Pipette mit einer Gummidichtung *a* und Verschraubung *b* luftdicht befestigt ist, bewegt sich ein eingeschliffrer Metallkolben. Die Kolbenführungsstange *d* ist durch eine Schraube *e* und zwischengelegten Federring *h* mit einer Metallhülse *f* verbunden, welche in einem steilen Schraubengewinde *g* auf und nieder bewegt werden kann. Dieses Schraubengewinde ist auf der Außenseite des Messingcylinders angebracht und gestattet eine große Hubhöhe. Durch mehr oder weniger starkes Anziehen der Schraube *c* kann der Gang des Kolbens geregelt werden ¹⁾.

Das Benützen der oben beschriebenen Saugvorrichtung bietet folgende Vorteile: bequemes, rasches und genaues Arbeiten. Da die Pipette mit dem Saugaufsatz unbeweglich verbunden ist, so kann man das Ganze in der gewünschten Entfernung, die ein leichtes Ablesen der Skala gestattet, von sich abhalten; die beiden Hände behalten bei der Aspiration und bei der Abmessung denselben Angriffspunkt bei.

Wird die Schraube *b* nur ein wenig gelockert, so läßt die Kompression der Gummiringdichtung *a* nach und die Pipette kann leicht herausgezogen und durch

e Verbindungsschraube. *h* Stählerner Arretierungsring. *f* Führungskappe. *g* Führungsspirale. *d* Führungsstange des Kolbens. *c* Saugkolben. *a* Gummi-Dichtungsring. *b* Untere Verschlussschraube.



eine andere ersetzt werden. Die einzusetzenden Pipetten brauchen kein vollkommen gleiches Kaliber zu haben, denn die Länge der Schraube *b* gestattet ein verschiedenes starkes Zusammenpressen des Ringes *a*, so daß die lichte Weite des Gummis bis zu einer gewissen Grenze beliebig verengert und damit eine dichte Adaption an verschieden dicke Pipetten erzielt werden kann. Durch die Möglichkeit, die Pipetten leicht auszuwechseln, kann das Reinigen derselben wie üblich vorgenommen werden, durch Einsetzen steriler Pipetten ist ein keimfreies Arbeiten ermöglicht und endlich kann man durch Verwendung verschieden feiner Pipetten sich den jeweiligen Bedürfnissen rasch anpassen. Der Saugapparat selbst läßt sich durch Auskochen ebenfalls leicht sterilisieren. Bei sachgemäßem Arbeiten gelangt die abzumessende Flüssigkeit niemals in den Saugcylinder, so daß der Saugapparat also nicht nach jeder Verwendung wieder sterilisiert zu werden braucht. Die Abmessungen können mit Hilfe des Apparates so genau und so rasch erfolgen, wie es mit keiner der gebräuchlichen Methoden möglich ist. Eine Infektionsgefahr ist völlig ausgeschlossen.

1) Der Saugaufsatz und Pipetten werden in der optischen und mechanischen Werkstätte von W. u. H. Seibert in Wetzlar angefertigt und sind von dort zu beziehen.

Will man starke Säuren, deren Dämpfe den Saugcylinder anätzen könnten, abmessen, so kann der Innenraum und Kolben mit einer säurebeständigen Ausfütterung versehen werden.

Ich hoffe, daß durch Einführung unseres Saugaufsatzes für Pipetten sowohl der Bakteriologe als auch der Chemiker und Physiker sich manche Erleichterung beim Arbeiten verschaffen kann.

Freiburg i. B., 28. September 1905.

Berichtigung

zur Arbeit von Dr. Ed. Martin (Bd. XXXIX. Heft 6).

Statt Ehrenrooth und Descatello ist zu lesen: Ehrnrooth und Decastello. In den Literaturangaben muß gelesen werden:

- 16) Ollendorf, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1905. No. 14.
17) Pfeiffer, Dtsche med. Wchschr. 1904. No. 30.

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.

- Bertarelli, E.**, Ueber die Antilipase, p. 231.
Borini, Agostino, Bakteriologische Untersuchungen über den Morbillus, p. 194.
Cache, Ar., Rolle des MgH_2PO_4 bei der Zubereitung von Nährböden, p. 255.
Cler, Ettore, Ueber einige Eigenschaften des Antimilzbrandserums Slavos, p. 241.
Eisenberg, Philipp, Ueber sekundäre Bakterienkolonien, p. 188.
Fermi, Claudio, Die saccharifizierende Wirkung des Bac. tuberculosis, p. 187.
Fuhrmann, O., Das Genus Diploposthe Jacobi, p. 217.
Galli-Valerio, Bruno, Recherches expérimentales sur la rage des rats avec observations sur la rage du surmulot, de la souris et du mulot, p. 197.
Gianni, Raffaello, Ueber die Frage der Widerstandsfähigkeit der Granulationen dem Milzbrand gegenüber, p. 238.
Haass, Everhard, Beitrag zur Kenntnis der Aktinomycceten, p. 180.
Kafka, Viktor, Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik, p. 247.
Kisskalt, Karl, Blutparasiten bei Fledermäusen, p. 213.
Küster, E., Eine neue Saugvorrichtung für Pipetten zur genauen Abmessung kleinster Flüssigkeitsmengen, p. 270.
Lambotte, U. et Stiennon, T., Alexine et Leucocytes, p. 224.
Landsteiner, Karl und Uhlirz, Rudolf, Ueber die Adsorption von Eiweißkörpern, p. 265.
Löhnis, F., Bacterium agreste n. sp., p. 177.
Rosenthal, Werner, Ueber Beziehungen zwischen Hühnerpest und Lyssa, p. 204.
Sartirana, Silvio und Paccanaro, Attilio, Der Streptococcus bombycis in Bezug auf die Aetiologie der Auszehrung und Schlaffsucht der Seidenraupe, p. 207.
Schüller, M., Bemerkungen zu L. Karwackis „Beitrag zur Kenntnis der Geschwulstflora“, p. 212.
Terburgh, J. Th., Die auf dem v. Dri-galski-Connradischen Nähragar wachsenden Bacillen, nebst einigen Bemerkungen über den Bacillus faecalis alcaligenes, p. 258.

Berichtigung, p. 272.

Ueber ein hitzebeständiges Bakteriengift.

[Aus der Prosektur der k. k. Krankenanstalt Rudolfstiftung in Wien
(Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von Dr. F. A. Schwarz, Aspiranten.

Bei einem Meerschweinchen, das nicht im Versuche gestanden, sondern spontan eingegangen war, ergab die Obduktion als einzigen Befund eine eigenartige Veränderung der Leber. Diese erwies sich auf der Oberfläche und auf dem Durchschnitt allenthalben durchsetzt von kleinsten miliaren, bis hirsekorn- oder stecknadelkopfgroßen, graugelben, im Niveau der Leberoberfläche bzw. Schnittfläche gelegenen Fleckchen oder ebensolchen leicht prominierenden Knötchen. Bei der histologischen Untersuchung der Leber zeigten sich, entsprechend den Knötchen und Fleckchen, unregelmäßig begrenzte, nekrotische Herde, die ein bis zwei Seitenläppchen umfassen, in deren Bereich die Leberzellen verquollen und homogen rot gefärbt sind, und in deren Zentrum sich Anhäufungen polynukleärer Leukocyten sowie zerfallene Zellkerne finden. Neben diesen Herden sieht man auch knötchenförmige Bildungen, die aus jungem Bindegewebe bestehen, im Zentrum bisweilen nekrotisch wie verkäst aussehen und peripher reichlich Lymphocyten einschließen. Innerhalb dieser Herde erblickt man teils einzeln, teils in kleinen Häufchen kleine, bipolar gefärbte, daher bisweilen diplokokkenähnliche Stäbchen, die sich nach Gram nicht färben.

Bei der bakteriologischen Untersuchung der Leber züchteten wir in Reinkultur einen Bacillus, der kleiner als *Bacterium coli* ist, sich mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen bipolar färbt und sowohl in alten als auch frischen Kulturen in seiner Größe ziemlich wechselt, in seinen kleinsten Formen dann kokkenähnlich erscheint, gramnegativ ist und keine Eigenbewegung zeigt.

Sein kulturelles Verhalten war folgendes:

Agarplatten: Rasches und üppiges Wachstum in Form von großen, grauweißen, flachen Kolonien mit ziemlich glatten Rändern; bei schwacher Vergrößerung fein gekörnt, mit hellerem Rand und dunklerem Zentrum.

Agarstich: Gutes Wachstum sowohl auf der Oberfläche als auch im Stichkanal.

Agarstrich: Ueppiger, grauweißer Belag. Das Kondenswasser stark flockig getrübt.

Gelatineplatten: Nach 2 Tagen: kleine „weinblattähnliche“ Kolonien mit gelapptem Rande; nach 3 Tagen: ziemlich dichte, kompakte Kolonien mit lockig gezeichnetem Rand.

Bouillon: Diffuse Trübung ohne Bodensatz. Keine Kahmhaut. Die 8-tägige Kultur gibt deutliche Indolreaktion.

2-proz. Traubenzuckerbouillon: Starke Gas- und Säurebildung. Säurebildung in Lackmusmolke in 24 Stunden: in Volumprozenten der zur Neutralisierung verbrauchten $\frac{1}{10}$ -Normallauge ausgedrückt 8—10 Proz. (Ein Kontrollröhrchen, mit Typhus beschickt, zeigte 4—5 Proz.)

2-proz. Milchzuckerbouillon: Starke Gasbildung.

2-proz. Rohrzuckerbouillon: Keine Gasbildung.

2-proz. Mannitbouillon: Gasbildung.

2-proz. Maltosebouillon: Gasbildung.

Milch: Nach 24 Stunden beginnende Koagulation, nach 48 Stunden vollständig geronnen.

Kartoffel: Ueppiger, braungelber Rasen.

Neutralrot-Traubenzuckeragar (Rothberger): Gasbildung; starke Verfärbung mit gelbgrüner Fluoreszenz, wie Coli.

Lackmus-Laktoseagar (Conradi-Drigalski): Rote Kolonien mit rotem Hof, wie Coli.

Fuchsin-Natriumsulfit-Milchzuckeragar (Endo): Rote Kolonien, wie Coli.

Mannit-Nutroselösung (Doerr): Roter, fetziger Niederschlag in durchsichtiger, rötlicher Flüssigkeit, wie Coli.

Die Pathogenität des beschriebenen Bacillus im Tierversuche zeigt Tabelle I. Jedes folgende Versuchstier wurde mit der aus dem Herzblute des vorhergehenden Versuchstieres gewonnenen Kultur infiziert.

Tabelle I.

Nummer des Tieres	Art des Versuches	Tod nach
Meerschweinchen II	Ganze 24-std. Agarkult. intraperit.	ca. 14 Stunden
III	" 24 " " "	" 6 "
IV	" 24 " " "	" 3 "
IX	$\frac{1}{8}$ Oese " " "	30 "
X	$\frac{1}{8}$ " " "	ca. 12 "
XI	$\frac{1}{8}$ " " "	" 15 "
XII	$\frac{1}{10}$ " X " "	" 50 "
XIII	$\frac{1}{10}$ " XI " "	" 10 "
XIV	$\frac{1}{15}$ " " "	" 30 "
XVI	$\frac{1}{30}$ " " "	" 12 "
XVII	$\frac{1}{30}$ " " "	" 20 "
Kaninchen 149	1 " " "	" 20 "
Meerschweinchen XV	$\frac{1}{2}$ " subkutan " "	" 24 "

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß nach kurzer Passage bereits $\frac{1}{30}$ Oese, intraperitoneal injiziert, genügte, um den Tod eines Meerschweinchens in 20 Stunden herbeizuführen. Es sei hierbei bemerkt, daß die Virulenz unseres Bacillus bei längerem Fortzüchten auf künstlichen Nährböden ohne Einschaltung von Tierpassagen rasch und beträchtlich abnimmt, sich aber auch nach längerer Zeit durch fortgesetzte Tierpassage wieder herstellen läßt.

Die Obduktion der experimentell infizierten Tiere ergab eine lebhafte Injektion der Serosa des Dünndarms, der meist stark gebläht war. Häufig fand sich serös-hämorrhagische Flüssigkeit in der Bauchhöhle und fibrinöse Auflagerungen auf der Oberfläche des Darms, der Leber und der Milz. Bei einem Tiere (XII), das erst nach 50 Stunden der Infektion erlag, wies die Leber auf der Oberfläche wie am Durchschnitt kleinste grauweiße bis graugelbe Fleckchen auf. In Ausstrichpräparaten aus dem Peritonealerguß, dem Lebersaft und dem Herzblute fanden sich die injizierten Bacillen stets sehr reichlich auch dann, wenn die Tiere bereits nach wenigen Stunden eingegangen waren. Mit dem Peritonealerguß, dem Lebersaft und Herzblut beschickte Agarplatten ergaben Reinkulturen unseres Bacillus.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Leber des Meerschweinchens „XII“ erwiesen sich die beschriebenen graugelben Fleckchen als

unregelmäßig begrenzte, häufig untereinander konfluierende, nekrotische Herde, in denen die Leberzellen nicht färbbar sind, und in welchen sich allenthalben, namentlich zentral, Anhäufungen polynukleärer Leukocyten finden. In diesen Herden sind die injizierten Bacillen in geringer Anzahl zu sehen. Aus epitheloiden Zellen bestehende Knötchen, wie in der Leber des spontan eingegangenen Tieres, konnten nicht gefunden werden.

Da die Versuchstiere, wie aus Tabelle I hervorgeht, der Infektion in ungemein kurzer Zeit erlagen, lag die Vermutung nahe, daß der Bacillus ein stark wirkendes Gift bilde. Um dies nachzuweisen, filtrierten wir verschiedene alte Bouillonkulturen durch Chamberland-Filter und prüften die Filtrate, nachdem die Keimfreiheit durch Kultur erprobt war, auf ihre Giftigkeit. Verwendet wurden Filtrate von 9-, 24-, 59- und 70-tägigen Bouillonkulturen (in der Tabelle in derselben Reihenfolge mit Fa, Fb etc. bezeichnet). Die einschlägigen Versuche bringt Tabelle II.

Tabelle II.

Bezeichnung des Tieres	Menge des Filtrates	Art der Infektion	Tod nach
Meerschweinchen XIX	0,5 ccm F „a“	intraperitoneal	ca. 20 Stunden
„ XXI	0,25 „ F „a“	„	„ 90 „
„ XXXIV	5 „ F „c“	„	„ 15 „
„ XXXVIII	9 „ F „d“	„	„ 16 „
„ XVIII	1 „ F „a“	subkutan	140 „
„ XX	1 „ F „a“	„	—
Weißer Maus E	0,25 „ F „a“	intraperitoneal	15 Stunden
„ „ G	1 „ F „a“	„	8 „
„ „ L	1 „ F „b“	„	36 „
„ „ N	1 „ F „d“	„	96 „
Kaninchen 241	0,25 „ F „a“	intravenös	6 Tage
Weißer Ratte A	0,25 „ F „a“	intraperitoneal	—

Nach diesen Versuchen produziert unser Bacillus ein Gift, das für weiße Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen tödlich ist, und dessen kleinste letale Dosis für ein Meerschweinchen 0,25 ccm war. Aus dem Inhalt der Bauchhöhle, dem Herzblute und dem Lebersafte angelegte Kulturen erwiesen sich als steril.

Die Veränderung der Leber des untersuchten Meerschweinchen sowie das Ergebnis der biologischen und bakteriologischen Untersuchung erinnern mehrfach an Befunde, die in Fällen von sogenannter Pseudotuberkulose der Nagetiere erhoben wurden.

Durch den pathologisch-anatomischen und den bakteriologischen Befund sind diese Fälle wohl unterschieden von der Pseudotuberculosis rodentium, als deren Erreger wir einen von Pfeiffer gefundenen Bacillus kennen, ebenso von der Pseudotuberculosis murium, hervorgerufen durch den Bacillus Kutscher, und von der Pseudotuberkulose der Schafe, für die Preisz und Guinard einen wohlcharakterisierten Bacillus beschrieben.

Hingegen wies das anatomische Bild der Leber bei unserem Meerschweinchen einige Ähnlichkeit mit jenen Veränderungen auf, wie sie zuerst Henle und später Aschoff bei Neugeborenen fanden, bei denen die Leber gleichfalls von kleinsten Knötchen durchsetzt war, die „einfache Nekrose“ darstellten. Aschoff konnte in dem von ihm beobachteten Falle aus der Leber einen Bacillus züchten, den er in die

Gruppe des *Bacillus des Pseudotuberculosis rodentium* einreicht, namentlich mit Rücksicht auf sein pathogenes Verhalten im Tierversuche. Eine große Analogie ergab auch der Befund Pfaffs, den er bei einer Kanarienseuche in Prag erheben konnte. Es fanden sich bei den der Seuche erlegenen Tieren konstant grauweiße, nekrotische Herde in der Leber und der Milz. Als Erreger wurde ein unbewegliches gramnegatives Stäbchen nachgewiesen, das Gelatine nicht verflüssigte, Milch nicht koagulierte und weder Gas noch Indol bildete. Aus Bouillonkulturen ließ sich ein Toxin darstellen, von dem 0,25 ccm einen Kanarienvogel tötete. Der *Bacillus* war für verschiedene Vogelarten, dann für weiße Mäuse, Kaninchen und Meerschweinchen pathogen. In der Leber und Milz der experimentell infizierten Tiere fanden sich die oben beschriebenen Herde wieder. Endlich wäre eine Arbeit von Kovárzik anzuführen, der als Erreger einer Meerschweinchenepizootie in seinem Institute „eine Varietät des *Coli-Bacillus*“ beschrieb. Bei der Obduktion der Meerschweinchen waren in der Leber und Milz grauweiße, nekrotische Flecken zu sehen, je nach der Dauer der Krankheit punktförmig oder auch bedeutend größer, und zwar meist an der Oberfläche, seltener in der Tiefe des Parenchyms dieser meist hyperämischen Organe. Aus Leber und Milz wurde ein bewegliches, sich nach Gram entfarbendes Kurzstäbchen, neben dem sich auch „kokkenähnliche Individuen“ fanden, kultiviert. Auf Agarplatten zeigte dieser *Bacillus* üppiges Wachstum mit Geruch, „der an den der *Suipestifer*- und *Coli*-Kulturen erinnerte“. Gelatine wurde nicht verflüssigt. In Traubenzuckerbouillon

Tabelle III.

Bezeichnung des Tieres	Menge des verwendeten Filtrates			Tod nach
Meerschweinchen XXXV	5 ccm	Fc	5 Minuten gekocht intraperitoneal	5 Tagen
Weißer Maus „F“	1 „	Fa	80° „	18 Stunden
„ „ „J“	1 „	Fa	10 „ gekocht „	8 „
„ „ „O“	1,5 „	Fd	5 „ 70° „	16 „
„ „ „P“	1,5 „	Fd	5 „ gekocht	26 „
Kaninchen 38	4 „	Fc	5 „ 80° intravenös	10 „

Tabelle

	Koagulation der Milch	Bildung von Indol	Rothbergers Neutralrot-Zuckeragar	Conradi-Drigalskis Lackmus-Laktoseagar
<i>Bacterium coli commune</i>	+	+	Unter Gasbildung Verfärbung mit gelbgrüner Fluoreszenz	Rote Kolonien mit rotem Hof
<i>Bact. enterit. Gärtner</i> , Stämme: Moorseele etc.	—	—	Dgl	Bläuliche Kolonien wie Typhus
Kovárziks Varietät des <i>Coli-Bacillus</i>	—	—	Keine Verfärbung	Kulturell und morphologisch vom
Pfaffs <i>Bacillus</i>	—	—		
Fischers <i>Bacillus</i>	—	—		
Unser <i>Bacillus</i>	+	+	Wie <i>Coli</i>	Wie <i>Coli</i>

starke Gas- und Säurebildung. Milch wurde nicht koaguliert, Indol nicht gebildet. Außer der intraperitonealen und subkutanen Infektion waren auch Inokulationsversuche und Verfütterung (bei Ratten Tod in $1\frac{1}{2}$ bis $2\frac{1}{2}$ Tagen) erfolgreich. Bei Kaninchen hatte die subkutane Infektion Abszeßbildung zur Folge; im Eiter war der Bacillus in reicher Menge zu sehen. Das Bouillonkulturfiltrat tötete, verfüttert an weiße und graue Mäuse, in 9–10 Tagen 0,5 ccm, subkutan graue Mäuse in 14 Tagen. Meerschweinchen konnten auch größere Mengen (7,5 ccm intraperitoneal) des Filtrates vertragen. Die Virulenz wurde durch 8-monatliches Ueberimpfen nur wenig geändert.

Versuchen wir nun den von uns gefundenen Bacillus mit einer der bekannten Arten zu identifizieren, so ist in erster Linie auf Grund des kulturellen Verhaltens an das Bacterium coli zu denken. Doch unterscheidet sich unser Bacillus von diesem durch seine hohe Pathogenität und durch die Produktion eines stark wirksamen Giftes, da nach Escherich-Pfaundler einerseits als kleinste Dosis letalis 2 bis 3 ccm einer 1–2-tägigen Bouillonkultur anzusehen ist, andererseits „Versuche, toxische Produkte aus Coli-Kulturen zu gewinnen, bisher nur in wenigen Fällen zu positivem Ergebnisse führten“. Von den eben erwähnten Bacillen Pfaffs und Kovárziks ist er durch die Eigenschaft der Milchgerinnung bzw. der Gas- und Indolbildung getrennt, so daß wir ihm trotz vielfacher Analogieen mit denselben nicht identifizieren können.

Unsere weiteren Untersuchungen erstreckten sich auf die Widerstandsfähigkeit des gefundenen Giftes gegen Erhitzung, da in der Literatur bereits mehrere Beobachtungen über Hitzebeständigkeit von Bakteriengiften vorliegen. Die an unserem Bacillus erhobenen Befunde sind in Tabelle III zusammengestellt.

Aus diesen Versuchen geht mithin hervor, daß das Gift des von uns gefundenen Bacillus gegen Hitze sehr widerstandsfähig ist und selbst nach 10 Minuten langem Kochen noch eine beträchtliche Virulenz aufweist.

Die Produktion hitzebeständiger Gifte wurde bereits mehrfach bei Bacillen beobachtet, die sich als Erreger von sogenannten Fleischver-

IV.

Doerrs Mannit-Nutroselösung	Bouillon mit Zusatz von					Giftbildung
	2 Proz. Traub.-Zucker	2 Proz. Milch-zucker	2 Proz. Rohr-zucker	2 Proz. Mannit	2 Proz. Mal-tose	
Roter, fetziger Niederschlag in durchsichtiger Flüssigkeit	+	+	+	+	+	—
	+	+	+		+	+ Stämme Mooreseele etc. hitzebeständig
	+					+
Bact. coli nicht zu trennen	—					+ hitzebeständig
Wie Coli	+	+	—	+	+	+ hitzebeständig

giftungen erwiesen, und zwar namentlich bei dem Bacterium enterit. Gärtner und seinen Varietäten. Seinem kulturellen Verhalten nach gehört auch dieser Bacillus sowie der hier beschriebene in die Coli-Typhusgruppe, verhält sich jedoch zum Unterschied von unserem Bacillus typhusähnlicher, indem er Milch nicht koaguliert, kein Indol bildet und sich auf Conradi-Drigalskis Nährboden nur durch geringe Größenunterschiede der Kolonien von Bact. typhi unterscheidet. Von den verschiedenen Stämmen der Enteritis-Gruppe sind es insbesondere die Stämme „Moorseele“ (van Ermengem 1891), „Gaustadt“ (Holst im selben Jahre), „Rotterdam“ (Poels und Dolmt 1892), „Rumfleth“ (Fischer 1893), der Bacillus Breslaviensis (1893) und Drigalskis Stamm (1903), bei denen hitzebeständige Gifte gefunden wurden. Basenau erwähnt unter 6 Stämmen von Fleischbacillen 3 (II, IV, VI), deren Gifte der Siedesitze widerstanden. 1902 berichtet Fischer über ein Bakterium, das er aus einer Leberpaste züchtete und das morphologisch und kulturell von Bacterium coli nicht zu trennen war, dagegen ein Gift bildete, das, durch 10 Minuten auf 80° erwärmt, seine Wirksamkeit behielt. Bei einigen Versuchstieren, die nach längerer Zeit der Infektion erlagen, fanden sich in der Leber und Milz grauweiße, nekrotische Herde, so daß dieser Bacillus, wenn auch wesentlich anderer Provenienz, seinem kulturellen und biologischen Verhalten nach von dem durch uns in der Meerschweinchenleber gefundenen nicht zu trennen ist.

Eine Uebersicht der zur Differenzierung der hier in Betracht kommenden Bacillen verwertbaren Eigenschaften gibt Tabelle IV.

Aus Tabelle IV läßt sich ersehen, daß zwischen unserem Bacillus und den Bakterien der Fleischvergiftungen (mit Ausnahme des erwähnten Bacillus Fischers) trotz weitgehender Analogieen im kulturellen und biologischen Verhalten doch auch ziemlich wesentliche Unterschiede bestehen, und daß unser Bakterium sich namentlich auch vom Bacterium enterit. Gärtner unterscheidet. Ob diese Unterschiede (Milchgerinnung und Indolbildung) in Ansehung der Analogie namentlich des biologischen Verhaltens zu einer Trennung unseres Bacillus vom Bacterium enterit. Gärtner ausreichen, wollen wir dahingestellt sein lassen. Es sei hierbei auf die Ausführungen van Ermengems in Kollé-Wassermanns Handbuch verwiesen, der betont, da „die differentialdiagnostischen Eigenschaften unbedeutend und nicht konstant“ sind, daß die Bakterien dieser Gruppe als Vertreter ein und derselben Species zu betrachten sind.

Jedenfalls müssen wir unseren Bacillus in die Gruppe der Bakterien der Fleischvergiftungen im weiteren Sinne einreihen und glauben, daß er dem Bacterium enterit. Gärtner zum mindesten sehr nahe steht, vielleicht sogar nur eine Varietät desselben darstellt. Er ist durch die Produktion eines hitzebeständigen Giftes bemerkenswert.

Literatur.

- Aschoff, Ein Fall von Pseudotuberkulose bei Neugeborenen. (Verhandl. d. dtsh. pathol. Gesellsch. 4. Tagung.)
 Basenau, Weitere Beiträge zur Geschichte der Fleischvergiftung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXII. 1898.)
 v. Drigalski, Ueber eine durch Genuß von Pferdefleisch verursachte Massenvergiftung. [Beitrag zur Aetiologie der Fleischvergiftung.] (Festschrift zum 60. Geburtstag von Robert Koch.)

- van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. II. p. 637.)
 Escherich-Pfaundler, *Bacterium coli commune*. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. II. p. 334 u. ff.)
 Fischer, Zur Aetiologie der sogenannten Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXIX.)
 Grabert, Pseudotuberkulose. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. III. 1903.)
 Kovárzik, Ueber eine Meerschweinchenepizootie, durch eine Varietät des *Coli-Bacillus* verursacht. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII.)
 Pfaff, Eine infektiöse Erkrankung der Kanarienvögel. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 3.)

Nachdruck verboten.

Zur Biologie eines pathogenen *Bacterium viscosum*.

Von Dr. Nicola Pane,
 außerord. Professor der Bakteriologie an der Universität Neapel.

Mit 1 Tafel.

Im Juni 1903 begann einer der in meinem serotherapeutischen Institut gegen Pneumokokken immunisierten Esel ohne nachweisbare Ursache etwa 20 Tage nach einem Aderlaß seine Lebhaftigkeit zu verlieren. Nach einigen Tagen zeigte sich in der Abdominalregion eine Geschwulst, weich, und in Form einer Beule begrenzt. Gleichzeitig begann das Tier, die gewohnte Nahrung zum größten Teil zu verweigern. Die Geschwulst verschwand nach täglichen Einreibungen mit 1-prom. Sublimatlösung vollständig nach 8 Tagen, aber der Zustand des Tieres verschlechterte sich fortdauernd, und nach 26 Tagen vom Beginn der Erkrankung ab starb es nach langer Agonie.

Die Sektion wurde nach weniger als 1 Stunde mit in kochendem Wasser sterilisierten Instrumenten vorgenommen. Die vergrößerte (Gewicht 920 g), dunkle, breiartig erweichte Milz, das dunkle Herzblut, die Abwesenheit makroskopischer Veränderungen, welche auf die Todesursache hinwiesen, ließen dieselbe in einer Allgemeininfektion vermuten. Tatsächlich ergab die kulturelle Untersuchung des Blutes und der Milzpulpa die Anwesenheit eines einzigen Bakteriums, das sich im Blut ziemlich spärlich (14 Kolonien pro Kubikcentimeter Blut im Mittel), dagegen sehr reichlich in der Milz fand.

Morphologisch handelt es sich um einen Bacillus, der meistens paarweise auftritt (*Diplobacillus*) und der in jungen Kulturen in Bouillon dem *Pneumococcus* ähnelt, aber ausgesprochen größere Dimensionen hat (s. Fig. a). In Bouillonkulturen, die älter als 24 Stunden sind, und ebenso in Agarkulturen überwiegen polymorphe Formen; einen ausgesprochenen Pleomorphismus findet man im Peritonealexsudat der durch den Bacillus getöteten Meerschweinchen (s. Fig. b). Läßt man den Bacillus 24 Stunden in sterilem menschlichen Urin, wo er sich übrigens nicht entwickelt, so kann man durch geeignete Färbung mit Ziehlscher Lösung Kapselformen (s. Fig. c) darstellen, die augenscheinlich Degenerationsphasen sind.

Kulturelles Verhalten.

Auf gekochten Kartoffeln findet keine Entwicklung statt, in sterilisierter Milch keine Entwicklung oder höchstens spärliche Vermehrung, wenn viele Oesen des Kulturmaterials zugefügt werden.

Auf gewöhnlichem Agar entwickelt sich in der Oberflächenkultur eine dünne Decke von grauweißer Farbe, gut sichtbar in durchfallendem Licht. In der Tiefe der Stichkulturen ist die Entwicklung sehr üppig. Keine Gasbildung in Glukoseagar.

In Bouillon üppige Entwicklung. Nach 24—30 Stunden bei 37° wird die Bouillon gleichmäßig getrübt, beim Aufschütteln macht die Kultur einen viskösen Eindruck, und entnimmt man aus derselben ein wenig mit der Platinöse, so zeigt sie sich fadenziehend, wie eine Mucinlösung. Neutrale oder auch schwach alkalische Bouillon nimmt mit der Entwicklung der Kultur saure Reaktion an. Ist jedoch die Alkalinität der Bouillon vor der Beimpfung ziemlich stark (0,2 Proz. kristallisiertes Natriumkarbonat), so bleibt die Kultur trotz üppiger Entwicklung alkalisch und wird nicht fadenziehend. Das Maximum der Bildung der viskösen Substanz erhält man in gewöhnlicher, leicht saurer oder neutraler Bouillon, die 1,5 Proz. Pepton Witte enthält. Die Viscosität wird noch beträchtlicher, wenn man der Bouillon 0,5 Proz. Traubenzucker oder Glycerin zufügt.

Entwicklung auf Gelatine. Da die untere Temperaturgrenze für das Wachstum des Bakteriums 21° beträgt, ist die gewöhnliche Gelatine mit niedrigem Schmelzpunkt nicht brauchbar zum Studium seiner kulturellen Charaktere. Ich habe deshalb die Gelatine angewandt, die ich seit langem für die Kultur des Pneumococcus benutze, um dessen Virulenz dauernd zu erhalten. Diese Gelatine schmilzt erst bei einer Temperatur von über 30°¹⁾. Auf diesem Nährboden beginnt der Bacillus bei 22° sich langsam zu entwickeln und wenn die Temperatur konstant bleibt oder höchstens zwischen 20° und 23° schwankt, bildet sich nach einigen Tagen eine mit bloßem Auge sichtbare Kultur, die Gelatine wird nicht verflüssigt, auch nicht, wenn die Kultur alt geworden ist. Nach Ausstrich auf der schrägen Gelatineoberfläche bildet sich eine dünne Schicht von grauweißer Farbe, die besonders im durchfallenden Licht gut sichtbar ist. Die Entwicklung in der Tiefe ist viel ausgesprochener, wie sich in Stichkulturen zeigt, in denen die Oberflächenentwicklung nicht mit bloßem Auge wahrzunehmen ist. Die Plattenkulturen sind grauweiß, rund, von glatter Oberfläche und können einen Durchmesser von 1 mm im Maximum erreichen, wenn man Sorge trägt, nur eine geringe Zahl von Kulturen sich entwickeln zu lassen, etwa einige 10 in 10 ccm Gelatine. In einigen Hunderten von Plattenkulturen, die ich angelegt habe, ist es mir nie gelungen, eine Oberflächenkultur sich entwickeln zu sehen, was sich übrigens dadurch erklärt, daß der Nährboden infolge der schnellen Entwicklung der Tiefenkulturen ungeeignet wird für das langsame Wachstum der an der Oberfläche gebliebenen Bakterien.

Setzt man dagegen die beimpfte Gelatine der Temperatur von 24° bis 27° aus, so tritt eine üppige Entwicklung der Kultur ein, und nachdem die Kultur schon gut entwickelt ist, beginnt die Verflüssigung der Gelatine langsam in der Umgebung der Kolonien, um sich nach und nach über die ganze Masse auszudehnen. Die verflüssigte Gelatine einer nicht zu alten Kultur ist noch stärker fadenziehend als die Bouillonkultur.

Der Bacillus, wie er aus den Kulturen oder von Tieren, die der Infektion erlegen sind, gewonnen wird, ist unbeweglich und färbt sich mit allen basischen Anilinfarben. Er färbt sich nach Gram; wenn man jedoch den Alkohol etwas zu lange einwirken läßt, verliert er zum großen Teil, aber nicht völlig die Färbung.

1) Pane, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. 1894. p. 288.

Wie schon bemerkt, beträgt das Temperaturminimum für die Entwicklung des Bacillus 21°. Das schnellste Wachstum erhält man bei 37°. Bei 43° hört das Wachstum auf, bei 52° stirbt die Kultur ab.

Pathogene Wirkung bei Meerschweinchen und Kaninchen.

Einige Tage nach der Züchtung des Bacillus aus dem Blute des Esels erlagen Meerschweinchen von 300—350 g fast konstant der intraperitonealen Einverleibung von 0,5 ccm Bouillonkultur (20—24-stündige Kultur bei 37°). Die Meerschweinchen starben in der Regel nach weniger als 15 Stunden und nur selten verzögerte sich der Tod bis zu 30 Stunden. Mit der Zeit zeigte der Bacillus eine erhebliche Abschwächung, so daß zur Erreichung desselben Effektes die Injektion der doppelten oder einer noch größeren Dosis notwendig wurde. Wenn das Meerschweinchen länger als 30 Stunden der Infektion widersteht, bleibt es am Leben und erholt sich langsam. Ein Meerschweinchen, das von der ersten Infektion völlig geheilt ist, zeigt sich bei einer zweiten Infektion empfindlicher, so daß es einer geringeren Dosis erliegt, als zur Tötung des Kontrolltieres nötig ist.

Bei der Sektion zeigten die Meerschweinchen eine Peritonitis mit freiem Exsudat, das um so beträchtlicher war, je später der Tod eingetreten war und das fast fehlte, wenn derselbe nach wenigen Stunden erfolgt war. Das etwas getrübte, gelbliche, häufig fadenziehende Exsudat zeigte sich bei der mikroskopischen Untersuchung fast frei von cellulären Elementen. Dagegen waren die Bakterien zahllos. Ihre Form ist schon angegeben (s. Fig. b). Im Blut waren die Bakterien relativ sehr spärlich, so daß die Kultur selten viele Hunderte von Kolonien aus einer Oese Blut ergab, meistens schwankten diese zwischen weniger als 100 und 300. Subkutane Injektionen, auch großer Dosen, führten nicht zum Tod der Tiere, aber zur Bildung von Abscessen, häufig mit Nekrose der Hautdecke.

Kaninchen verhielten sich der subkutanen Infektion gegenüber wie die Meerschweinchen. Injektionen sehr großer Dosen (8—12 ccm) der Bouillonkultur führen nicht zum Tode, bringen aber eine schwere Hinfälligkeit des Tieres hervor, das einige Tage fast vollständig die Nahrung verweigert, sich aber dann nach und nach erholt. Lokal bildet sich ein großer Absceß, der nach 2 oder 3 Monaten sich zu einem Knötchen verkleinert. Oeffnet man einen solchen Absceß, so kann man aus dem Eiter zahlreiche Kolonien der injizierten Bacillen erhalten.

Bei intraperitonealer Injektion war die tödliche Dosis der Bouillonkultur einige Tage nach der Züchtung des Bacillus aus dem Blute des Esels 2 ccm. Dann erfolgte nach und nach eine Abschwächung und damit Ansteigen der Dosis letalis auf 4 ccm. Wenn der Tod nicht in den ersten 30 Stunden eintritt, erholt sich das Kaninchen mit äußerster Langsamkeit und ist erst nach 2 Monaten nahezu völlig wieder hergestellt. Die Läsionen in der Bauchhöhle sind dieselben wie beim Meerschweinchen.

Nach intravenöser Injektion stirbt das Kaninchen unter dem Krankheitsbild einer wahren Intoxikation. Unmittelbar nach Injektion der Dosis mortalis (anfänglich 2 ccm, später, nach der Abschwächung der ursprünglichen Virulenz 4 ccm) in die Randvene eines Ohres wird das Kaninchen niedergeschlagen, der Herzschlag nimmt an Frequenz ab und wird nach kurzem unfühlbar. Dann erholt sich das Herz mit starken Schlägen, die aber viel weniger frequent sind als normal. Aehnlich wird anfänglich die Respiration beschleunigt, wird dann viel weniger frequent (50—60 pro Minute),

aber tief. Das Kaninchen liegt im Käfig, äußerst niedergeschlagen, steif, der Leib auf die Erde hängend. So bleibt es bis zum Tod, wenn dieser am Anfang des zweiten Tages eintritt (ausnahmsweise nach wenigen Stunden); widersteht es dagegen länger, so tritt eine Agonie ein, die bis zum 4. Tage dauern kann und in welcher das Tier stundenlang wie tot auf einer Seite liegt, dann sich umdreht, um sich mit dem Bauch auf der Erde auszustrecken, und so fort bis zum Tode.

Von 20 Kaninchen, die zu intravenösen Injektionen verwendet wurden, erholten sich 6, obwohl sie 3—5 Tage in diesem Zustand geblieben waren, nach und nach wieder, so daß sie nach 3 Monaten ihr ursprüngliches Gewicht wieder erreichten.

Bei der Sektion ist das Herzblut der Kaninchen dunkel, fast schwarz, die Milz nicht stark vergrößert, weich, breiig, die Leber dunkel.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des Blutes im Trockenpräparat findet man sehr spärliche, sehr kurze, gut färbbare Bacillen. Setzt man das Blut im Reagenzglas oder in zugeschmolzenen Röhrchen 24 Stunden der Temperatur von 37° aus und untersucht dann wieder, so haben die Bacillen an Zahl zugenommen. Man findet dann in jedem Gesichtsfeld mehrere Bacillen, welche meist länger als die zuerst beobachteten sind. Eine oder mehrere Oesen des Blutes, auf Nährböden gebracht, geben immer Reinkulturen des inokulierten Bacillus.

Versuche zur Immunität und Serumtherapie.

Sowohl die Kaninchen, welche ausnahmsweise nach der intravenösen Injektion einer Kulturdosis überleben, welche für tödlich gehalten worden war, als auch diejenigen, denen eine geringere Dosis injiziert wurde, erholen sich anscheinend erst nach langer Zeit (2—3 Monate). Das Fell jedoch bleibt struppig und das gesamte Verhalten, ausgenommen das Körpergewicht, das die ursprüngliche Höhe erreichen, sogar übersteigen kann, zeigt, daß das Tier noch nicht den normalen Zustand erreicht hat. Und tatsächlich, injiziert man ihm die nämliche Dosis Bouillonkultur, welche nicht genügt, das Kontrolltier von gleichem Gewicht zu töten, so erliegt es, oder, falls es überlebt, verfällt es in Marasmus. Auch eine viel kleinere Dosis ruft schwere Störungen hervor, während das Kontrolltier nur leichte, vorübergehende Erscheinungen zeigt.

Es scheint mir angezeigt, auf einen speziellen Prozeß am Ohr hinzuweisen, welcher sich infolge der Injektion in eine Randvene einstellt. Der Abschnitt des Ohres, wo die Nadel der Spritze eingestochen wurde, wird in einer Strecke von $\frac{1}{2}$ —1 cm nekrotisch und der trockene Schorf wird nachher abgestoßen, so daß nach der Heilung der äußere Ohrtrand halbmondförmig erscheint. Bei der Immunisierung mit Streptokokken und Pneumokokken auf intravenösem Wege habe ich nie etwas ähnliches gesehen; nur nach Injektionen von Sublimatlösungen 1:10000 in nicht tödlicher Dose in die Ohrvene habe ich analoge, wenn auch weniger ausgedehnte Prozesse beobachtet. Ich habe weiter untersucht, ob die Ursache der nekrotischen Wirkung auf in der Bouillonkultur gelösten Substanzen beruhte oder auf den Bakterienzellen selbst, indem ich Bacillenkulturen injizierte, die durch Filtration durch Chamberland-Kerzen von den Bakterien befreit waren. Mit dieser Flüssigkeit erzielte ich Endophlebitis mit darauffolgendem Verschuß des Lumens der Randvene, aber der Substanzverlust war relativ geringfügig im Vergleich zu dem, der der Injektion nicht filtrierter Bouillonkultur folgte. Das weist meiner Ansicht nach darauf hin, daß, wenn sich die venösen Kapillaren des Stammes der

Randvene durch den Druck, welcher der Flüssigkeitssäule durch die Spritze erteilt wird, mit Bakterienzellen angefüllt haben, die reizenden Substanzen dieser Bakterienzellen, durch deren Auflösung in Freiheit gesetzt, eine akute Endophlebitis mit nachfolgender Nekrose hervorrufen.

Der Einwand, daß primär, und nicht erst sekundär die Gerinnung des Blutes ins Spiel treten könnte, scheint mir nicht wahrscheinlich, da nach Beendigung der Injektion das Blut aus der Wunde tröpfelt, wie gewöhnlich nach der Injektion irgend einer beliebigen Flüssigkeit.

In der Bouillonkultur, nach Filtration unter 600 mm Hg, einem Drucke, bei dem die viscöse Substanz nicht filtriert, finden sich gleichfalls giftige Substanzen, die aber in der Dosis, die ich jedesmal venös dem Kaninchen injizierte (0,8 ccm pro 100 g Körpergewicht), den Tod des Tieres nicht hervorrief. Dieses zeigte nach der Injektion einer solchen Dosis sofort Schwäche, starke Depression der Herztätigkeit und heftige Dyspnoe; vollständige Zurückweisung der Nahrung während einiger Tage, mit Verminderung des Gewichtes bis zu 13 Proz.; dann erholt sich das Tier ziemlich rasch.

Sowohl die Kaninchen, die eine einzige schwere Infektion überlebt hatten, wie auch diejenigen, die 2—3mal hintereinander dieselbe überstanden hatten, wurden zu verschiedenen Zeiten zur Ader gelassen, um die agglutinierende und immunisierende Fähigkeit zu untersuchen, welche das Serum etwa erlangt haben könnte. Zur Kontrolle wurde das Serum normaler Kaninchen verwendet. Das Resultat dieser Untersuchungen war, daß das aktivste Serum, welches ich erhielt, in der Dosis von 1 ccm, gemischt mit der sicher tödlichen Dosis Bouillonkultur, diese vollkommen unschädlich machte für die intraperitoneale Injektion beim Meerschweinchen. Wurde dagegen 1 ccm des Serums mit der doppelten Kulturmenge gemischt injiziert, so erlag das Tier mit beträchtlicher Verzögerung.

In diesen Versuchen zeigte sich wiederholt die Tatsache, daß bei Injektion einer Serumdosis, die nicht zur vollständigen Neutralisation der Bakterienwirkung im Peritoneum des Meerschweinchens führte, sich im Peritoneum ein Exsudat bildete, das nicht, wie bei der gewöhnlichen tödlichen Infektion, von cellulären Elementen frei war, sondern eine ziemliche Anzahl von Leukocyten enthielt, von denen viele mit Bacillen angefüllt waren (s. Fig. c). Diese Erscheinung gehört augenscheinlich in den Rahmen der allgemeinen Gesetzmäßigkeiten der Immunität, von der auch die Phagocytose ein Faktor ist¹⁾.

Die agglutinierende Wirkung läßt sich durch die Gegenwart der viscösen Substanz in der Bouillonkultur nicht mit der gewöhnlichen Mischungsmethode nachweisen, die beim Typhusbacillus brauchbare und entscheidende Resultate gibt, auch wenn man $\frac{1}{3}$ Serum mit $\frac{2}{3}$ Kultur mischt. Macht man dagegen Mischungen von Serum und Bouillon in verschiedenen Verhältnissen, impft dann den Bacillus und läßt ihn sich bei 37° entwickeln, so findet man nach 20 Stunden, daß sich derselbe am Boden des Reagenzglas so reichlich entwickelt hat, daß er einen dicken Niederschlag bildet, während oben die Flüssigkeit durchscheinend und völlig frei von Bakterien ist.

Das höchste Verhältnis von Serum zu Bouillon, bei dem ich dieses Phänomen noch beobachtet habe, war 1:250, mit dem Serum eines Kaninchens, das in entsprechenden Intervallen 3 Injektionen erhalten hatte.

1) Pane, Relazione sull'immunità da sieri al Congresso Italiano di medicina interna. 1903.

Das Serum normaler Kaninchen dagegen verursachte eine Agglutination höchstens im Verhältnis von 1:10.

Schluß.

Der Bacillus, dessen biologische Eigenschaften ich hier kurz beschrieben habe, erschien mir, nach seiner Kultivierung aus dem Eselblut, mit einiger Wahrscheinlichkeit als eine Modifikation des *Pneumococcus*, da er von einem Esel stammte, der gegen letzteren immunisiert war und mit diesem in jungen Bouillonkulturen eine gewisse Aehnlichkeit in der Form besaß. Außerdem war dieselbe untere Temperaturgrenze für die Züchtung, dieselbe Tendenz, vorwiegend außerhalb des Kontaktes mit der Luft zu wachsen und endlich dieselbe Empfindlichkeit in Bezug auf Beschaffenheit der Nährböden beiden gemeinsam. Für diese Möglichkeit schien mir auch in der Eigenschaft, eine visköse Substanz zu bilden, kein großes Hindernis gegeben zu sein, da dies das Resultat einer langen Anpassung an den Organismus des immunisierten Tieres sein konnte, als Verteidigung gegen die Wirkung bei Berührung mit den spezifischen Antikörpern. Aber weiterhin führte mich die Tatsache, daß er die Gelatine, wenn auch unter besonderen Bedingungen, verflüssigte, die Konstanz, mit der er seit den 2 Jahren, die ich ihn in Händen habe, die Bouillonkultur visköse macht, das besondere Verhalten im Organismus des infizierten Kaninchens, das sich wesentlich von der Pneumokokkeninfektion entfernt, dazu, ihn für eines jener Bakterien dunklen und unbestimmten Ursprungs zu halten, die gelegentlich sogar tödliche Infektionen hervorbringen können, wenn sie zufällig in einen Organismus gelangen, der sich nicht in normalem Zustand befindet, was gerade der Fall ist bei einem Tier, das einem lebhaften Immunisierungsprozeß mit häufigen und reichlichen Aderlässen unterworfen ist.

Bei der Analyse der verschiedenen Eigenschaften des Bakteriums, die ich in der Absicht vornahm, dasselbe unter die bekannten, ihm nahestehenden Bakterien zu gruppieren, schien es mir noch am angängigsten, dasselbe wegen seiner Fähigkeit, in der Bouillonkultur fadenziehende Substanzen zu bilden, mit der Gruppe zu vereinigen, die unter dem Namen der *Bacteria viscosa* beschrieben werden, d. h. Bakterien, die bei ihrer Entwicklung in verschiedenen Flüssigkeiten eine Substanz produzieren, die den physikalischen Charakter des Mucins hat, aber wesentlich von diesem differiert durch die chemischen Charaktere und besonders dadurch, daß sie nicht von Essigsäure gefällt wird.

Das erste Bacterium viscosum, in Kokkenform, wurde von Pasteur¹⁾ aus fadenziehendem Wein und Bier gezüchtet; dann wurden visköse Bakterien (Bacillen) isoliert von Malerba und Sanna-Salaris²⁾ aus dem Urin einer Frau, aus dem derselbe Bacillus viscosus von Brazzola in Bologna gezüchtet wurde. Van Laer³⁾ züchtete zwei verschiedene aus fadenziehendem Bier; Kramer⁴⁾ kultivierte 3 verschiedene Bacillen, die Saccharoselösungen visköse machten, Adametz⁵⁾ und dann

1) Pasteur, Etudes sur le vin. 1886.

2) Malerba e Sanna-Salaris, Rendiconto della R. Accademia delle scienze di Napoli. 1888. — Malerba, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1901.

3) Van Laer, Note sur les fermentations visqueuses. (Mem. de l'Acad. roy. de Belgique. 1889.)

4) Kramer, Studien über die schleimige Gärung. (Sitzungsber. der kaiserl. Akad. d. Wissensch. in Wien. 1889.)

5) Adametz, Milch-Zeitung. 1889.

a)



b)



c)



Ward¹⁾ isolierten einen Bacillus aus fadenziehender Milch. Ein Coccus aus fadenziehender Milch wurde von Guillebeau²⁾ isoliert.

Wie man sieht, sind alle diese Bakterien Saprophyten, die fähig sind, in Flüssigkeiten, wie Wein, Bier, Milch, Urin, Rohrzuckerlösung zu leben und sich zu vermehren, Nährböden, in denen sich das von mir beschriebene Bakterium gar nicht entwickelt (die Milch ausgenommen, in der es sich schwach vermehrt, aber ohne jede Andeutung der Bildung von fadenziehender Substanz).

Außerdem erzeugten mehrere dieser Bacillen (Malerba und van Laer) Gärung mit starker Gasentwicklung bei Gegenwart von Kohlehydraten. Alle entwickeln sich bei Zimmertemperatur. Durch diese allgemeinen Merkmale, sowie auch nach den Einzelbeschreibungen der viskösen Bakterien, wie sie die verschiedenen Autoren gegeben haben, differiert das von mir beschriebene Bakterium deutlich von jenen. Deshalb, sowohl wegen seiner Herkunft wie auch seiner Wirkung auf Versuchstiere halte ich es für angezeigt, es als *Bacillus viscosus pathogenes* zu bezeichnen.

Nachdruck verboten.

Bakteriologischer Befund bei einem weiteren Fall von Paratyphus des Brion-Kayserschen Typus A.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie zu Straßburg i. E.]

Von Dr. Heinrich Kayser,

früherem I. Assistenten des Instituts, jetzigem Oberarzt Inf.-Reg. 172, kommandiert zum Institut.

Noch immer ist es wünschenswert, daß bei der beschränkten Zahl bisher bekannt gewordener Paratyphusfälle, welche den oben genannten Typus³⁾ zum Erreger haben, jede neue Erkrankung dieser Art mit allen Einzelheiten vor die Öffentlichkeit komme.

Daß diese Erkrankung noch verhältnismäßig seltener⁴⁾ als der Paratyphus des Schottmüllerschen Typus B (= Schottmüllers *Bacillus paratyphosus alcalifaciens*) gefunden ist, liegt meines Erachtens und meiner Erfahrung nach zunächst daran, daß der auf allen den modernen gefärbten Nährböden genau so wie das *Bact. typhi* Eberth-Gaffky wachsende Brion-Kaysersche Typus A enorm leicht übersehen wird, falls der Untersucher sich damit begnügt, von Stuhl und Urinplatten nur Probeagglutinationen mittelst Typhusimmenserum

1) Ward, Bull. of the Cornell University.

2) Guillebeau, Schweizer Arch. f. Tierheilk. 1892.

3) Cf. Brion, A. u. Kayser, H., Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 15. — Schottmüller, H., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI und Dtsche med. Wochenschr. Bd. XXVI. No. 32. — Kayser, H., Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 49; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 154 ff.

4) Nach Abschluß dieser Arbeit teilte mir Herr Professor Netter-Paris freundlichst mit, daß er diesen Herbst in Paris eine Epidemie von 19 Fällen Paratyphus unseres Typus A beobachtete. Diese Epidemie hat sich nach weiteren Mitteilungen Prof. Netters fortgesetzt, und ebenso wie eine weitere Epidemie gleicher Art in Nordfrankreich Gelegenheit zur Feststellung von interessanten Agglutinationseinzelheiten, sowie bedeutsamen klinischen Beobachtungen gegeben. Prof. Netter hat die Fälle in der Société de biologie besprochen, ebenso in der Académie de médecine, und mit L. Ribadeau-Dumas in den Compt. rend. (November 1905) teilweise kurz erörtert.

orientierend anzustellen, oder es höchstens noch für notwendig findet, ein Paratyphusimmunserum vom Schottmüllerschen Typus B zum allerersten und rohesten Identifizierungsversuch im hängenden Tropfen heranzuziehen. Zu dieser ersten Stufe des Erkennens gehören eben neben der Uebung, sowie gutem Willen auch Geduld und Aufmerksamkeit¹⁾, sonst kommt es vor, daß ein bakteriologischer Diagnost erklärt, daß ihm seit Jahr und Tag der Brion-Kaysersche Typus A weder bei seinen Stuhl- noch Urinuntersuchungen aufgestoßen sei, während die weitere Behandlung des Gegenstandes zeigt, daß er das typische Aussehen der betreffenden Kolonien auf den angewandten Platten nicht richtig kannte. — Außerdem gelangt diese Erkrankung bei dem oft leichten Charakter wohl vielfach nicht in die Hand des Arztes. Da nach meiner Erfahrung die Bacillen recht schnell aus dem kreisenden Blute zu verschwinden pflegen (im Laufe der ersten Fieberwoche), läßt sicher auch der Blutzüchtungsversuch manchmal im Stich, so daß dann allein der beweisende Ablauf einer spezifischen Agglutinationsreaktion in sein Recht tritt²⁾. Regelmäßige Blutzüchtungsversuche am Typhuskrankenbette bringen einem aber von Zeit zu Zeit immer wieder unser Bakterium, ohne daß das obige Uebersehen möglich ist. Leider sind solche Untersuchungen, abgesehen von Kliniken und wenigen Krankenhäusern, nicht in breiterem Maße bisher durchführbar.

Meinen heutigen Fall habe ich mit A. Brion³⁾ klinisch ausführlicher an anderer Stelle beschrieben. Herrn Professor v. Krehl verdanke ich die liebenswürdige Ueberlassung des Untersuchungsmaterials.

Am 15. Januar 1905 erkrankte der 18-jährige Schreiner Ludwig W. zu Straßburg und kam wegen Typhusverdachtes in die medizinische Klinik. Dortselbst machte er einen klinisch zweifellosen leichten Bauchtyphus durch. Meine bakteriologischen Befunde waren folgende.

Blutzüchtung: Am 21. Jan. 1905 werden aus dem Blute mit einer Anreicherungsmethode, welche ich an anderer Stelle vorläufig beschrieben habe³⁾, Paratyphusbacillen des Typus A in großer Zahl und nur diese gezüchtet. In allen Kulturmedien sind die Merkmale dieses Typus festzustellen, und ich habe gegenüber meinen ersten Beschreibungen keine Zusätze zu machen, außer der später erfolgten Anfügung, daß in der muskeltuckerfreien reinen Laktosebouillon keine Vergärung statthat. Ein Kaninchenimmunserum, gewonnen mit dem 1902 beschriebenen⁴⁾ Brion-Kayserschen Stamme, agglutiniert das Bakterium vom heutigen Falle W. genau so hoch wie den alten Stamm, und umgekehrt erzielte ein mit dem jungen Stamme W. erzeugtes Kaninchenimmunserum auf das eigene Bakterium in derselben mehrtausendfachen Verdünnung eine Agglutinationswirkung, wie auf Paratyphusstäbchen des Typus A von 1902.

1) Vergl. auch die Bemerkungen bei Paladino-Blandini, *Contributo alla conosz. sui paratifi* (Annali d'igiene sperim. Vol. XV. 1903. p. 159), welcher aus dem Quellwasser eines Ortes, in dem Typhusfälle vorgekommen waren, Paratyphusbacillen des Typus A gezüchtet und eingehend identifiziert hat, sowie Morgan, R., *Brit. med. Journ.* 1905. 10. Juni. Letzterer isolierte die Bacillen unseres Typus aus dem Tierdarm.

2) Von Herrn L. Zupnik in Prag wurde mir ein auf diese Art beweisend diagnostizierter Fall unseres Typus mit typhusartigem Verlauf freundlichst mitgeteilt.

3) Brion-Kayser, *Neuere klinisch-bakteriologische Erfahrungen bei Typhus und Paratyphus.* (Dtschs Arch. f. klin. Med. 1905/06.)

4) Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 15.

Am 26. Jan. wird das Blut steril befunden (W. ist fast fieberfrei).

Agglutinationen: Am 21. Jan.: Für Typhusbacillen 1:50 = 0, aber 1:100 = +. 1:200 = 0. Paratyphus A 1:100 = 0. Paratyphus B 1:100 = 0.

Am 26. Jan.: Paratyphus A 1:100 = +. Typhus 1:50 = 0; 1:100 = +, höher = 0. Paratyphus B 1:100 = 0. — Castellanischer Versuch der getrennten Agglutininsättigung: Mit Typhusbacillen gesättigt = Agglutination für Paratyphus A 1:100 = +. Mit Paratyphus A gesättigt = Agglutination für Typhusbacillen erloschen 1:50, 1:100 und höher. Dieser Versuch spricht gegen die Annahme einer Mischinfektion und läßt die Agglutination der Typhusbacillen als eine Gruppenreaktion erkennen bei Infektion mit dem Brion-Kayserschen Typus A.

Am 31. Jan.: Paratyphus A 1:200 = +, ebenso 1:100 und 1:50 +, dagegen 1:300 und höher = 0. Typhus 1:50 = 0, 1:100 = +, 1:200 und höher = 0. Paratyphus B 1:100 = 0. W. wird fieberfrei.

Am 13. Febr.: Paratyphus A 1:100 = +, höher = 0, Typhus 1:50 = 0, 1:100 = +. Paratyphus B 1:100 = 0. Der Castellanische Versuch ergibt das gleiche Resultat wie am 26. Jan.

Am 27. Febr.: Paratyphus A 1:50 = +, höher = 0. Typhus 1:100 = 0, Paratyphus B 1:100 = 0. W. ist 4 Wochen fieberfrei! — Es bestand also am 31. Jan. ein Agglutinationsmaximum für Paratyphus A.

Bakterizidversuche am 27. Febr. u. f.

a) Reagenzglasversuche nach Neisser-Stern-Laubenheimer^{1, 2, 3)}. Versuchsanordnung: Inaktiviertes Patientenserum in fallenden Mengen stets auf Volumen 1 ccm mit 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgefüllt. Komplement: 0,5 Normalkaninchenserum verdünnt 1:12. Eingesät 0,5 ccm $\frac{1}{5000}$ 24-stündige Bouillonkultur: zugleich eine Versuchsreihe mit Typhusbacillen, Paratyphus A von 1902, Paratyphus A vom Falle W. 1903 und Paratyphus B. Die Röhren bleiben 3 Stunden bei 37°, dann Agarplatten mit dem ganzen Inhalt gegossen.

Die Verdünnung des inaktiven Patientensersums ging von 1:100 bis zu 1:200000. — Bakterizidie war nur für Paratyphus A (von 1902 und Fall W. 1905) — Bacillen vorhanden, und zwar erstreckte sich die bakterizide Wirkung auf diesen Brion-Kayserschen Typus bis zu 1:7000 (annähernd). Der Schottmüllersche Typus B und *Bacterium typhi* Eberth-Gaffky blieben in allen 2 × 12 Röhren unbeeinflusst. Die Kontrollröhren waren einwandfrei.

b) Pfeifferscher Versuch. Anordnung in einer der hier üblichen und erprobten Formen: Gleich große Meerschweinchen erhalten intraperitoneal 1 mg 24-stündigen Agarrasens von *Bacterium typhi*, paratyphi A von 1902, paratyphi B in Bouillon aufgeschwemmt und dann einmal 0,1, ferner 0,05 und drittens 0,01 Kaninchenimmenserum, das mit dem heutigen Stamme W. (Paratyphus A, 1905) gewonnen ist; mit den 3 Kontrolltieren, welche kein Immenserum erhielten, waren es also 12 Meerschweinchen. Ich prüfte die Auflösung mikroskopisch und

1) Stern, R., Korte und Steinberg, Dtschs Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXII. 1905. p. 321 ff.

2) Laubenheimer, K., Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LVI. Heft 1 u. 2.

3) Neisser-Wechsberg, Münch. med. Wochenschr. 1901.

legte nach Ablauf einer guten halben Stunde, sowie nach gehörigem Mischen des Bauchhöhlensaftes der kurz vorher getöteten Tiere jedesmal zwei Gelatineplatten mit je 25 mg Peritonealflüssigkeit an.

Der Versuch mußte so gemacht werden, da die minimalen letalen Dosen meines Paratyphus A- und Paratyphus B-Stammes auch nur aufs 5-fache multipliziert zu große Bakterienmengen für die zweite sonst mögliche Anordnung ergeben hätte.

Es fand sich, daß die Normaltiere ohne Serumeinverleibung die Bacillen nicht beeinflußt hatten. Für *Bact. paratyphi A* war noch 0,01 Immunerum beträchtlich bakterizid, für *Bact. typhi* 0,1 (!), für *Bact. paratyphi B* auch 0,1 nicht im geringsten; also eine starke Bakterizidie für den Brion-Kayserschen Typus A und eine schwächere, aber doch nachweisbare für das *Bact. typhi* Eberth-Gaffky.

c) Die merkwürdige Mitbeeinflussung der Typhusbakterien beim Versuche b) veranlaßten mich, noch 3 Meerschweinchen durch intraperitoneale Einverleibung des Paratyphusstammes W. (1905) zu immunisieren. Nachdem die Tiere ihr altes Gewicht wieder hatten, bekamen sie nebst 3 Kontrolltieren je 1 mg Agarrasen 1) von *Bact. paratyphi A* (1902), 2) *Bact. paratyphi B* und 3) *Bact. typhi*. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde getötet, Platten angefertigt, sowie mikroskopiert. Hier war eine exquisite Bakterizidie nur bei dem Tiere zu konstatieren, welches *Bact. paratyphi A* bekommen hatte, während die Typhusbacillen und *Bact. paratyphi B* sich wie beim Kontrollnormaltier verhielten.

Tierpathogenität der vom heutigen Falle aus Blut gezüchteten Bacillen:

Kaninchen von 1980 g wird nach intravenöser Einverleibung von 4 ccm Bouillonkultur (24-stündig) schwer krank, erholt sich aber nach Wochen. Jüngere Tiere gehen mit dieser Menge ein.

Meerschweinchen von 215 g stirbt in 12 Stunden nach intraperitonealer Einverleibung von 2 mg 24-stündigem Agarrasen. Tiere von 350 g sterben ca. 36 Stunden nach intraperitonealer Einverleibung von 4 mg. Der Sektionsbefund und die terminalen Erscheinungen sind die gleichen, wie 1902 von Brion-Kayser¹⁾ beschrieben.

Weißer Mäuse, ausgewachsene, starben ca. 14 Stunden nach subkutaner Einspritzung von 0,3 ccm 24-stündiger Bouillonkultur.

Diese Pathogenitätsverhältnisse sind ungefähr die gleichen, wie bei unserem 1902 beschriebenen Stamme.

Stuhl- und Urinuntersuchungen wurden am 26. Januar, 1., 4., 7., 10., 17. Februar von mir vorgenommen, unter Anwendung der Endo-, Drigalski-, Conradi-Platten direkt, sowie des Malachitgrün-Anreicherungsverfahrens nach Lentz²⁾-Klingers³⁾ Angaben. Am 1. Februar (letzter Fiebertag) züchtete ich das Paratyphusstäbchen vom Brion-Kayserschen Typus A aus dem Urin. (Daraufhin Urotropin!) Sonst gelang es aus keiner Probe.

Bei allen Züchtungsversuchen (Blut, Stuhl und Urin) achtete ich mit Sorgfalt darauf, ob es nicht gelänge, außer den Paratyphusbacillen auch das *Bact. typhi* zu finden. Dieses Bakterium war aber nirgends

1) a. a. O.

2) Lentz-Tietz, Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 2139.

3) Klinger, P., Inaug.-Diss. Straßburg. 1904.

anzutreffen. Es muß also seine Abwesenheit angenommen werden, was mit meinem Resultate der getrennten Agglutininsättigungen nach Castellani (s. o.) und dem Baktericideversuch übereinstimmt. — Als Ergänzung zu einer früheren Äußerung von mir über diese Versuchsanordnung¹⁾ möchte ich anführen, daß wir jetzt hier über klinische Erfahrungen verfügen. Vergleiche mit den Befunden der Blutzüchtung und Stuhl- sowie Urinuntersuchung zeigten, daß man dem „Castellani“ zur ätiologischen Diagnose am Krankenbette Wert beilegen kann.

Dem soeben eingehend behandelten 17.²⁾, mir bekannten Paratyphusfalle dieses Typus mit gelungener Bacillenzüchtung bei typhusartigem Verlauf kann ich in Kürze einen 18. anfügen, bei welchem die von mir vorgenommene Stuhlzüchtung unseren Typus A ergab. Der 31-jährige Gabriel Eb. aus R. in Unterelsaß war an einem leichten klinischen Typhus erkrankt (September 1905).

Als besonders bemerkenswert an meinem ersterwähnten Falle We. sei zum Schlusse hervorgehoben:

- 1) Der Befund der Bacillen im Blute und Urin;
- 2) die klinische Typhusdiagnose;
- 3) die anfängliche Gruppenagglutination für *Bact. typhi*, besonders merkwürdig dadurch, daß sie 1:50 fehlt infolge einer Hemmung, und erst 1:100 in Erscheinung tritt;
- 4) die kreuzweisen Agglutinationen der Paratyphusbacillen mit Seren von 1902 und 1905 zum Zwecke sicherer Identifizierung, sowie
- 5) die Bakterizidversuche, welche im Reagenzglase etwas anders wie im Tierkörper ausfallen können.

Wenn ich endlich auf Grund nur des medizinisch-klinischen Materials die Häufigkeit der Erkrankung am hiesigen Orte beurteile, so haben wir innerhalb der letzten 2 Jahre gegenüber 7 Paratyphen vom Schottmüllerschen Typus B 2 von unserem Typus A feststellen können. (Gezählt sind nur Fälle mit Bakterienzüchtung und beweisender Blutuntersuchung zu gleicher Zeit.) Paratyphen überhaupt waren etwa 5 Proz. von 200 bakteriologisch eingehend durch uns untersuchten typhusartigen Fällen der medizinischen Klinik innerhalb des oben erwähnten Zeitraumes.

Im übrigen wird, was die bei uns geübte Typhusbekämpfung im Sinne Robert Kochs anlangt — wie ich dies schon 1902³⁾ im Einverständnis mit dem Direktor des Instituts, Herrn Professor J. Forster, sowie Herrn Professor E. Levy gefordert habe — der Paratyphus jedweder Art hygienisch-sanitär genau so wie der Typhus mit den Eberth-Gaffkyschen Bacillen behandelt.

Nachtrag bei der Korrektur.

Vom Oktober bis November 1905 untersuchte ich am 2., 9., 12., 24. Oktober und 4. November das Blut einer 45-jähr. Patientin H. der medizinischen Klinik. Sie war unter dem Bilde eines leichten Bauchtyphus 2 $\frac{1}{2}$ Wochen krank. Das Serum agglutinierte stets nur unseren Typus A 1:100, den Schottmüllerschen Typus B und Eberthsche

1) a. a. O. Dtsche med. Wochenschr.

2) Vergl. außerdem Netter, a. a. O.

3) a. a. O. und de Feyfer-Kayser, Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 41 und 42.

Typhusbacillen weder in starken noch geringeren Verdünnungen. Da die Kurve schließlich langsam abfiel, hat es sich hier wohl um Paratyphus unserer Art gehandelt. Alle Bacillenzüchtungsversuche mißlangen hier. — Vergl. hierzu auch: L. Zupniks letzte Arbeit, Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 44.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie.

III. Ueber Agglutination und spezifische Niederschläge bei der bacillären Dysenterie.

Von Dr. **H. Lüdke**,

Assistenten der medizinischen Klinik zu Würzburg. (Direktor:
Geheimrat Prof. Dr. von Leube.)

Mit 1 Kurve.

Ueber Agglutination bei der bacillären Dysenterie.

Untersuchungen über die Agglutination des *Bac. dysenteriae* sind bisher in recht beschränktem Umfang unternommen; experimentelle Forschung wie theoretische Spekulation der interessierten Kreise, Kliniker und Fachbakteriologen, wandte sich mehr dem wichtigeren Studium des Agglutinationsphänomens beim Typhus abdominalis zu.

Wenn auch die Spezifität der Agglutinationsreaktion, ferner die Methoden zu ihrer Ausführung, die Eigentümlichkeiten im Verlaufe der Produktion der Agglutinine, der diagnostische Wert dieser Reaktion für die Klinik, die grundlegenden Hypothesen über die Entstehung und Ausbildung der Agglutinine im wesentlichen einheitlichen Gesichtspunkten bei den einzelnen hier in Betracht kommenden Infektionskrankheiten untergeordnet sind, so bietet doch jede Infektionskrankheit in ihren Agglutinationsverhältnissen eigene Bilder und variable Verhältnisse dar, die der Mühe eines eingehenden Studiums lohnen. Die Variabilität der Erscheinungen führt ihrerseits zu den festgelegten Grundtatsachen zurück und geringfügige Abweichungen von der Regel lassen deutlicher und leichter die beherrschenden Gesichtspunkte erkennen.

Von diesem Standpunkte wollen wir die Erscheinungen, denen wir bei Agglutinationsversuchen mit dem Dysenteriebacillus begegneten, auffassen und die einzelnen Beobachtungen und Experimente den allgemein geläufigen Anschauungen unterzuordnen versuchen.

Unsere Versuche erstreckten sich vornehmlich auf Experimente am Tier; die Resultate, welche bei Untersuchungen des Agglutinationsphänomens bei ruhrkranken Menschen erhalten wurden, sollen an anderer Stelle ausführlicher erörtert werden.

Wir wollen an der Hand unserer experimentellen Beobachtungen versuchen, den Gang der Agglutininproduktion im tierischen Organismus zu verfolgen, die einzelnen Phasen des Verlaufes der Produktion zu erkennen, Höhe und Dauer der Reaktion zu bestimmen, ferner soll die Spezifität der Agglutinationsreaktion berücksichtigt werden.

Als weitere Aufgabe wollen wir zu entscheiden versuchen, ob einzelne Stämme durch die Agglutinationsreaktion differenziert werden können, ob also in dieser Hinsicht eine Berechtigung zur Annahme verschiedener Ruhrformen vorliegt.

Zunächst wären einige Bemerkungen bezüglich der Art der Einverleibung des bacillenhaltigen Materials, der Menge der verwandten Substanz, der Virulenz der Bacillen und der Abhängigkeit der Agglutinabilität von dem benutzten Kulturmaterial vorzustellen.

Am geeignetsten zur Erreichung eines höheren Agglutinationswertes schienen sich nach allen Untersuchungen die intravenöse Injektion kleiner Mengen von Dysenteriebacillen zu erweisen. Während nach subkutanen Einspritzungen in vielen Fällen ein Agglutinationstitre von im Durchschnitt 1:300 bis höchstens 1:600 erreicht wurde, wobei wiederholt mehrfache subkutane Injektionen erfolgen mußten, gelang es meistens bei einmaliger intravenöser Injektion kleinerer Dosen einen Titre von 1:1000 bis 1:2000 zu konstatieren. Mit der Annahme einer lokalen Absättigung von bakteriellen Rezeptoren im Gewebe bei subkutanen Injektionen, wodurch eine geringere Quantität von Bakterien zu den agglutininproduzierenden Zellkomplexen gelangen würde, ließe sich diese Differenz vielleicht erklären (R. Pfeiffer). Die Mengen von bakteriellem Material, die zur Erreichung höherer und mittlerer Agglutinationswerte verwandt wurden, waren in der Mehrzahl der Fälle äußerst gering. Nach meinen Beobachtungen genügte die intraperitoneale und intravenöse Einführung von $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{20}$ Oese lebender Dysenteriekultur (Stamm Kruse) von längere Zeit fortgezüchteten Stämmen, um ein mittelschweres Kaninchen innerhalb von 2—3 Tagen zu töten; Meerschweinchen sterben gewöhnlich in etwa 24—48 Stunden bei intraperitonealer Einspritzung von $\frac{1}{5}$ bis $\frac{1}{10}$ Oese.

Es wurden daher in fast allen Fällen abgetötete Kulturen benutzt; Kaninchen vertrugen Injektionen von $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$ Oese ziemlich gut, häufig jedoch unter stärkeren Reaktionen nach diesen Dosen, wie Abmagerung und geringeren Temperaturabfall; Meerschweinchen reagierten in gleicher Weise erst bei etwas höheren Dosen von $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{5}$ Oese.

In einem Falle gelang es mittels einer sehr geringen Bakterienmenge, $\frac{1}{50}$ Agarkultur, noch einen Agglutinationswert von 1:500 bei einer einmaligen intravenösen Injektion eines Kaninchens zu erzeugen.

Bezüglich der Virulenz der bei den einzelnen, bisher beschriebenen Ruhrepidemien in Betracht kommenden Ruhrstämmen, die einerseits dem Stamm Flexner zuzurechnen sind, andererseits mehr den Typus des Stammes Kruse-Shiga vertreten, konnte auch ich in mehreren Fällen analog den Beobachtungen von Jürgens (1) und Dörr (2) feststellen, daß Kaninchen von mittlerem Gewicht die subkutane Injektion von 1—2, ja 3 Oesen abgetöteter Flexner-Kulturen bei geringgradiger Reaktion vertrugen, während verschiedene, von mir auf ihre Giftigkeit geprüfte Kruse-Shiga-Stämme, darunter zwei von mir aus den Entleerungen Ruhrkranker gezüchtete Stämme vom Typus Kruse, bei Einführung von $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{2}$ Oese abgetöteter Agarkultur Kaninchen innerhalb von 2—4 Tagen zum Exitus brachte. Ich kann demnach der Annahme Dörrs beistimmen, daß diese Prüfung der Toxizität der einzelnen Ruhrstämmen zu ihrer Identifizierung und Registrierung unter die eine oder andere Gruppe von gewissem Vorteil sein kann.

Abgesehen von einer subkutanen, intraperitonealen und intravenösen Einverleibung der Ruhrbacillen, wurden noch 2 Versuche an Kaninchen mit Verfütterung von Bacillen angestellt. In beiden Fällen wurden mit lebenden Bouillonkulturen (Stamm Shiga) getränkte Salatblätter 5 Tage lang zwei kräftigen Kaninchen gereicht, deren Agglutinationsvermögen vor dieser Fütterung 1:10 resp. 1:30 betrug. 14 Tage und 5 Wochen

nach der Fütterung geprüft, ergab das Blutserum Werte von 1:20 resp. 1:30 nach 14 Tagen, nach 5 Wochen erreichte der Agglutinationswert die Höhe von 1:40 in beiden Fällen. Bei stomachaler Einverleibung lebender Ruhrbacillen war also eine nur sehr unbedeutende Steigerung des Agglutinationsvermögens bei Kaninchen aufgetreten; in Parallele zu diesen Versuchen würde die Beobachtung Zeitlins (3) zu setzen sein, der in einem Selbstversuch bei stomachaler Einwirkung von abgetöteten Ruhrbakterien ebenfalls eine nur sehr geringfügige Steigerung der Agglutinationsfähigkeit des Serums eintreten sah.

In einigen anderen Versuchsreihen wurde die Beschaffenheit des Kulturmediums bezüglich der Höhe der Agglutinierbarkeit der Ruhrbacillen geprüft. Shibayama fand, daß die zähe, schleimige Beschaffenheit von Bouillonkulturen bei ca. 32° C die Agglutinierbarkeit von Pestbacillen stärker beeinträchtigte, daß dagegen bei Eisschranktemperatur Stämme verschiedener Provenienz bis zu einer gleichmäßigen Höhe gewöhnlich agglutiniert wurden.

Bei meinen Beobachtungen fiel mir auf, daß ein bestimmtes Immunsorum verschiedene ältere Ruhrstämme (Stämme Shiga, Kruse, Döberitz, Müller, Barmen) in verschieden hohen Agglutinationstitren beeinflusste; im allgemeinen in einer maximalen Agglutinationsbreite von 1:100 bis 1:500. Wurden danach einzelne dieser Stämme in eine Temperatur von ca. +5° C während 48 Stunden gebracht, so erfolgte bei steter Verwendung des gleichen Immunsorums eine mehr gleichmäßige Höhe der Agglutinationsreaktion, die sich in den Grenzen von 1:400 bis 1:500 bewegte. Danach scheint wenigstens die Annahme Shibayamas in diesen Fällen zu Recht zu bestehen, daß die Beschaffenheit des Kulturmediums, das Wachstum unter bestimmten Temperaturgraden, von einigem Einfluß auf die Titrehöhe der Reaktion ist.

Die eine unserer Hauptaufgaben war, den Verlauf der Agglutininproduktion nach der Infizierung von Kaninchen mit Ruhrbacillen genauer zu verfolgen.

Eine größere Reihe exakter Untersuchungen über den Verlauf der Antikörperproduktion nach Einführung des bakterienhaltigen oder toxinartigen Substrates lehrte, daß 3 Phasen hierbei zu differenzieren sind, die, abgesehen von geringfügigen, der Eigenart des eingeführten Materials und individuellen Verhältnissen auf Rechnung zu setzenden Abweichungen, der Entwicklung aller Antistoffe im Organismus gemeinsam sind: Eine Latenzzeit, Steigerung und eine Abnahme der im Serum kreisenden Reaktionsstoffe.

Bei drei kräftigen, gesunden Kaninchen von fast gleichen Gewichtsverhältnissen, gleichem Alter und Geschlecht haben wir den Verlauf der Agglutininproduktion gegenüber dem *Bac. dysenteriae* Kruse näher verfolgt und erhielten die folgenden Ergebnisse.

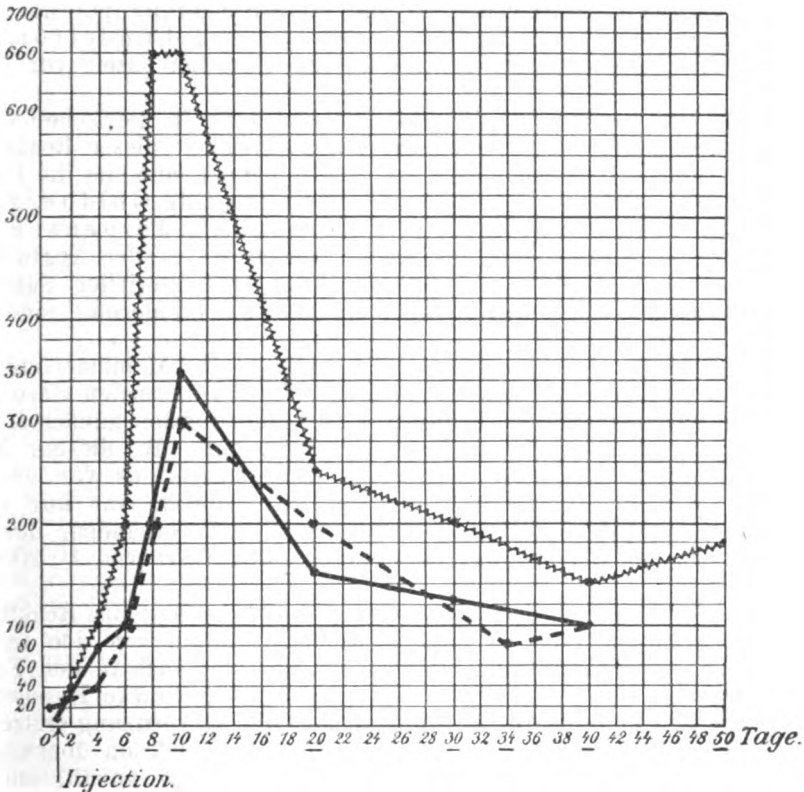
Zuerst wäre zu bemerken, daß übereinstimmende Resultate nur bei Verwendung derselben Kultur zu erzielen sind, die die Bacillen in dem gleichen Kulturmedium und in gleichen Altersverhältnissen der Züchtung enthält und daß auf demselben Infektionsweg stets die gleiche Kulturmenge dem tierischen Organismus einverleibt wird.

Verwandt wurde ein auf Agar bei 37° C gezüchteter Stamm Kruse, von dem $\frac{1}{5}$ Oese ein Kaninchen von 2500—3000 g Gewicht innerhalb 48 Stunden bis 3 Tagen unter den typischen Erscheinungen einer Dysenterieintoxikation tötete.

Alle 3 Kaninchen erhielten an demselben Tage $\frac{1}{20}$ Oese intravenös in einer Aufschwemmung von physiologischer Kochsalzlösung zu je 1 ccm.

Die Agglutination wurde im hängenden Tropfen beobachtet; als Zeitgrenze wurde eine Beobachtungsdauer von 2 Stunden gewählt.

Stets wurde nur die vollständige Reaktion, eine vollkommene Häufchenbildung der Ruhrbakterien bei nur sehr spärlichen, vereinzelt Bakterien, beobachtet. In regelmäßigen Zeitintervallen wurde den Tieren Blut entnommen und bis zum 40. resp. 50. Tage nach der Injektion auf seine Agglutinationsfähigkeit untersucht; die Abscissen geben die Untersuchungstermine, die Ordinaten die Titrewerte an. (Die Kurve von Kaninchen 1 ist durch eine gerade, von Kaninchen 3 durch eine gezackte, von Kaninchen 2 durch eine gestrichelte Linie gekennzeichnet.)



Vor der Injektion der Ruhrbacillen wiesen Kaninchen 1 und 3 bei einer Verdünnung ihres Serums von 1 : 10 noch schwache Agglutinationsfähigkeit auf, Kaninchen 2 agglutinierte noch in einer Verdünnung von 1 : 20 die Bacillen stärker, bei 1 : 40 noch andeutungsweise.

Die Latenzzeit bei der intravenösen Injektion der gleichen Dosis von Bacillen erstreckte sich in allen 3 Fällen über einen Zeitraum von 2–3 Tagen; auch in weiteren einschlägigen Untersuchungen pflegte am 2., höchstens am 5. Tage der Beginn der Steigerung des Agglutinationsvermögens einzutreten.

In 2 Versuchen, in denen 48 Stunden nach intravenöser Injektion einer subletalen Dosis die dem frisch getöteten Tiere entnommene Milz auf Agglutinationsgehalt geprüft wurde, konnten wir analog den Untersuchungen Castellanis (4) in beiden Fällen einen etwas höheren Agglutinationswert des Serums als den des Milzextraktes konstatieren.

Aehnliche Versuche, welche die Dauer der Latenzzeit resp. den frühesten Anstieg der Antikörperproduktion fixieren sollten, wurden beim Studium des Entstehungsprozesses der übrigen Antikörper konstatiert.

Die Hämolysinbildung [Sachs (5), Bulloch (6), Lüdke (7)] wie Bakteriolyseentstehung [Pfeiffer und Marx (8)] beginnt bei intraperitonealer (resp. intravenöser) Injektion nach einem Latenzstadium von 3 bis höchstens 5 Tagen; ebenso früh trat die erste Steigerung bei der Bildung von Antilabferment nach Morgenroth (9) ein.

v. Dungern (10) konstatierte die erste Steigerung bei der Präzipitinbildung vom 4.—6. Tage; Forssmann und Lundström (11) beobachteten bei Botulismusantitoxinkurven eine Latenzzeit von 3 bis 6 Tagen.

Ueber den Verlauf der Agglutininentwicklung im tierischen Organismus wurden bei der leichten Prüfungsmöglichkeit dieser Reaktionskörper zahlreiche Untersuchungen angestellt; ich erwähne hier die Untersuchungen von v. Emden (12), Levy und Bruns (13), Goldberg (14), Jatta (15), Wright (16), Levin (17), Neufeld (18), Jörgensen (19).

Ueber die Einzelheiten des Entstehungsprozesses der Agglutinine während der Latenzzeit, von der Einführung der bakteriellen Substanz an bis zur ersten, für den Nachweis ersichtlichen Steigerung sind wir bisher wenig orientiert.

Auf die Einverleibung der Bacillen erfolgt eine Mobilisierung der natürlichen Abwehrmittel des Organismus; die im normalen Serum in schwacher Konzentration enthaltenen Agglutinine werden zunächst, wie wir in einem Falle eruieren konnten, abgesättigt. In diesem Falle betrug das Agglutinationsvermögen des Kaninchenserums vor der Injektion 1 : 100, 10 Stunden nach der Injektion geprüft, war nur mehr ein Agglutiningehalt in der Verdünnung von 1 : 20 vorhanden, der am 2. Tage nach der Einspritzung dann bereits den Wert von 1 : 200 erreichte.

Außer von den schon normalerweise im Serum enthaltenen Reaktionskörpern erfolgt eine eminent ausgesprochene Reaktion von den Leukocyten. Nach sehr zahlreichen Untersuchungen folgt auch in den Fällen der Einführung von Dysenteriebacillen zunächst eine starke Hypoleukocytose, die sich bis auf 10—20 Stunden nach der Einspritzung erstreckt; darauf folgt in den Fällen, in denen das Tier die Infektion überwindet, eine stärkere Hyperleukocytose, die etwa 3—4—5 Tage anhält, um allmählich wieder auf den ursprünglichen Leukocytenwert abzusinken; doch sind auch bisweilen während der späteren Tage noch Steigerungen in der Leukocytenzahl wahrzunehmen.

Eine Verlängerung der Latenzzeit über 4—5 Tage hinaus habe ich weder bei Verwendung jüngerer Tiere (von 750—1200 g Gewicht) noch bei Aenderung in den Mengenverhältnissen der injizierten Kulturen resp. ihres Alters und ihres Toxizitätsgrades konstatieren können. Allerdings liegen noch zu wenig Studien über diese Untersuchungsbedingungen vor, so daß ein endgültiges Urteil zur Zeit noch nicht gefällt werden kann.

Jedenfalls scheint die Menge des verwandten bakteriellen Materials keinen entscheidenden Einfluß auf die Produktion der Agglutinine, die Latenzzeit, die Titrehöhe oder die Dauer der Agglutinationsfähigkeit zu spielen. In wenigen Fällen nur ergaben größere, unter der minimalen tödlichen Dosis liegende Kulturmengen einen relativ höheren Titrewert.

Auf die Latenzzeit folgt der kritische Anstieg der Agglutinationskurven. Innerhalb von 8 bis spätestens 12 Tagen pflegte im allgemeinen nach meinen Untersuchungen das Maximum der Produktion von Agglutininen erreicht zu sein. Diese Zahl stimmt mit den Beobachtungen der übrigen Autoren über den Anstieg der Antikörperkurven ziemlich genau überein; nur Morgenroth fand, daß das Maximum der Antilabproduktion schon am 3. Tage nach der Einspritzung erreicht wird.

Meist erfolgt der Anstieg in einer steil aufwärts strebenden, nur wenig geschwungenen Kurve, von Tag zu Tag kann eine Steigerung des Agglutinationstitrewertes deutlich konstatiert werden.

Eine befriedigende, auf experimentelle Basis gestützte Erklärung für diese Steigerung der Agglutininproduktion von Tag zu Tag steht noch vor der Hand aus; anzunehmen ist vielleicht, daß in den ersten Tagen eine nur mäßige Besetzung geeigneter Zellrezeptoren stattfindet, die dann in schnellerer Folge weitere Rezeptorenbezirke umfaßt, nachdem einmal der spezifische Reiz die Zellen affiziert hat.

Wir können nun bei unseren Versuchsergebnissen bereits einige Verlaufseigentümlichkeiten konstatieren. Im vorigen wurde betont, daß die Versuchsbedingungen so gleichmäßig wie möglich gewählt wurden; dennoch ist der Verlauf der Agglutininproduktion in diesen 3 Fällen nicht gänzlich identisch, wie die Kurvenzeichnung illustriert. Besonders Kaninchen 3 bietet die Eigentümlichkeiten, daß der aufsteigende Schenkel bei einem Höchstitrewert von 1 : 660 endete, während Kaninchen 1 bei 1 : 350 seinen höchsten Wirkungsgrad, Kaninchen 2 denselben nur bei 1 : 300 erreichte. Größere Differenzen sind im aufsteigenden Schenkel der 3 Kurven sonst nicht zu verzeichnen.

In anderen, hier nicht verzeichneten Kurven, begegneten wir, allerdings seltener, einigen Verlaufseigentümlichkeiten; zuweilen war der Anstieg weniger rapid, der ansteigende Schenkel weniger steil, bisweilen blieb auch der Titrewert 2—3 Tage lang auf einer gewissen Höhe stehen, um danach weiter zu steigen. Wir müssen solche Verlaufseigentümlichkeiten vor der Hand individuellen Verhältnissen zuschreiben, deren Wesen wir zunächst nicht zu erkennen vermögen.

Während bei typhus- wie Coli-immunen Tieren eine Agglutinationsfähigkeit in kolossal hohen Verdünnungen beobachtet wurde [nach van der Velde (20) für Typhusbacillen in einer Verdünnung von 1 : 100 000, nach Durham (21) für Coli-Bacillen in einer Verdünnung von 1 : 200 000], sind die Titrewerte bei ruhrimmunen Tieren nur sehr niedrig. P. Th. Müller (22) und Dombrowski (23) fanden nach subkutanen Injektionen abgetöteter Ruhrbacillen bei Kaninchen das Serum in einer Höchstverdünnung von 1 : 250 wirksam, Dörr bei 1 : 400. Martini und Lentz (24) injizierten eine Ziege mit größeren Dosen erst abgetöteter, dann lebender Ruhrbacillen und erhielten einen Maximalwert des Ziegenserums in einer Verdünnung von 1 : 2000; Shigas (25) Pferdeimmunserum agglutinierte Dysenteriebacillen in einer Verdünnung von 1 : 1600, Gay (26) erzielte Agglutination mit Pferdeimmunserum noch bei 1 : 5000. Kruse (27) endlich erhielt vom Hammelimmunserum einen Titrewert von 1 : 1000.

Verf. erhielt bei 6 Kaninchen, die er mittels subkutanen, wiederholt ausgeführten Injektionen teils abgetöteter, teils lebender Ruhrkulturen (sowohl Bouillonkulturen wie Agaraufschwemmungen) behandelt hatte, 2mal agglutinierende Sera bei 1 : 300, 1mal ein Serum, das nur bei 1 : 100 agglutinierte und 3mal in einer Verdünnung von 1 : 500 agglutinierende Sera.

Auf einmalige intravenöse Injektion einer sehr geringen Dosis einer Agaraufschwemmung ($\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{40}$ Agarkultur) erzielte er von 4 Tieren bei zweien Werte bis 1 : 400, bei weiteren 2 Tieren war das Serum am 10. resp. 12. Tage nach der Einspritzung noch in einer Verdünnung von 1 : 1000 wirksam.

Bei Meerschweinchen wurden bei einmaliger subkutaner Injektion von $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{10}$ Oese Titrewerte zwischen 1 : 66 bis 1 : 200 erhalten. Zwei Hunde ergaben auf intravenöse Einführung abgetöteter Agarkultur Agglutinationsfähigkeit in einer Verdünnung von 1 : 330 resp. 1 : 500. Bei einer Ziege gelang es ihm nach zweimaliger Injektion den Titrewert auf 1 : 1000 zu bringen.

Wir sehen, daß auch in diesen Versuchen keine erheblichen Titrewerte resultierten. Die enorme Toxizität der Kulturen, der die kleineren Versuchstiere bei mittelgroßen Dosen innerhalb weniger Tage erliegen, führt, wie es scheint, zu einer stärkeren Affizierung der agglutininbildenden Zellkomplexe, so daß nur eine relativ beschränkte Agglutininproduktion in Wirksamkeit zu treten vermag.

An das Maximum des Agglutinationsvermögens schließt sich gewöhnlich fast unmittelbar die Phase des Abfalls an, der in den allermeisten Beobachtungen zunächst rapid erfolgt. Es kommt allerdings vor, daß ein Immunserum wenige Tage (cf. Kaninchen 3) auf dem Gipfel der Agglutininproduktion verharret; Regel scheint jedoch beim abfallenden Schenkel der Kurve ein rasches, plötzliches Absteigen zu sein. Das jähe Ansteigen wie Abfallen der Kurve bedingt, wie schon Jörgensen bei der Typhusagglutininproduktion fand, die meist spitzwinklige Form der Kurven.

In mehreren Fällen wurde ein Abfall der Agglutininmengen von einem Maximum von 1 : 400—500 auf 1 : 100 konstatiert, also eine Verminderung der Agglutininmenge um das 4—5-fache innerhalb von 5—6 Tagen; Kurven mit gleichmäßigem, von Tag zu Tag um geringere Werte ansteigenden Schenkelteile und geringeren Ausschlägen beim Abfall konnten ebenfalls beobachtet werden.

Mit großer Regelmäßigkeit wurde jedoch zunächst ein rapid erfolgender abfallender Teil während des Abstieges der Kurven gefunden, dem sich auf der Höhe eines mittleren Agglutinationswertes ein zweiter Schenkelteil anschloß, in dem ein allmähliches Absinken zu stande kam.

In einem Falle erfolgte das Absinken der Agglutinationsfähigkeit sprunghaft, indem das Serum auf einer bestimmten Titrehöhe einige Zeit bestehen blieb, um dann nach rapidem Abfall wieder längere Zeit auf einem niedrigeren Höhenwert zu verharren.

Auf die Phase des langsamen, allmählich fortschreitenden Absinkens des Agglutiningehaltes folgt innerhalb längerer oder kürzerer Zeitdauer das für den experimentellen Nachweis gänzliche Verschwinden des Agglutinationsvermögens aus dem Serum.

Eine absolute Zeitgrenze läßt sich hier nicht konstatieren; der Agglutiningehalt kann in der Phase des gleichmäßigen Abfalls durch variable Ernährungsprozesse, durch mehr indifferente Erkrankungen in

Schwankungen gesetzt werden, die sich in geringfügigen Steigerungen wie Absinken geltend machen. Trächtig gewordene Tiere, deren Agglutiningehalt in dieser Phase untersucht wurde, wiesen geringgradige Steigerungen (von 1 : 10 auf 1 : 66) ihres Agglutinationsvermögens auf.

Untersuchungen bei einer Reihe von dysenterieimmunen Kaninchen, die $\frac{1}{2}$ Jahr nach der erstmaligen Infektion angestellt wurden, ergaben fast stets einen Rückgang der Agglutininmengen auf die Agglutinationsfähigkeit, die das Serum vor der Injektion besaß; in keinem Falle war das Serum noch in Verdünnungen von über 1 : 80 nach 6 Monaten wirksam.

War der Anstieg der Agglutininproduktion ein schneller, die Kurven steiler als in der Regel, so pflegte, wie Verf. beobachten konnte, auch ein rasches Absinken des Agglutiningehaltes und rasches, gänzlich Verschwinden der agglutinierenden Fähigkeit einzutreten, eine Erscheinung, die theoretisch vielleicht auf eine Erschöpfung der Zellrezeptoren zurückzuführen wäre.

Eine neuerliche Infektion regte nun bei verschiedenen Tieren die Agglutininproduktion nach dem Verschwinden der Agglutinine oder in der Phase des gleichmäßigen Abfalls in differenter Weise an: Bei einem Kaninchen, dessen Maximaltitrewert 1 : 400 betrug, stieg nach einer zweiten intravenösen Injektion der gleichen Dosis von Ruhrbacillen der Titrewert am 7. Tage nach dieser Einspritzung auf 1 : 1000, bei einem weiteren Kaninchen mit einer ehemaligen Titrehöhe von 1 : 330 war nach der zweiten Injektion 8 Wochen nach der ersten eine Erhöhung der Agglutinationskraft in einer Wirkung von 1 : 200 zu konstatieren. Analog den Jörgensen'schen Befunden konnte auch Verf. keine Abkürzung der Latenzzeit bei wiederholter Einführung von Ruhrbacillen konstatieren.

Zwei Experimente wurden ferner an Kaninchen angestellt, denen im Zeitraum von je 8 Tagen $2\frac{1}{2}$ Monate hindurch fast stets die gleiche Kulturmenge (ca. $\frac{1}{20}$ Oese intravenös) injiziert wurde. Nach der ersten Injektion, die einen Titrewert von 1 : 400 hervorbrachte, erfolgte ein schnelles Absinken des Agglutinationsgehaltes trotz der wiederholten Injektionen, das durch einzelne Schwankungen, entsprechend den längeren injektionsfreien Intervallen, variiert wurde. Die gleichen Verhältnisse konnte auch Jörgensen beobachten, der jedoch bei seinen Versuchen tägliche Injektionen von Typhusbacillen wie Choleravibrien vornahm.

Nach der Darstellung der einzelnen Phasen im Verlaufe des Entwicklungsprozesses der Ruhragglutinine kämen wir auf die theoretische Deutung und Erläuterung dieser Vorgänge zu sprechen. Von Madsen (28) wurde in jüngster Zeit versucht, für die Antikörperproduktion mit ihrem steigenden und abfallenden Anteil eine plausible Erklärung zu geben. Madsen nimmt an, daß in dem immunisierten Organismus eine Produktion wie Destruktion des Reaktionskörpers nebeneinander verlaufe. Im Verlaufe des aufsteigenden Schenkels der Agglutinationskurve würde danach gleichzeitig eine geringgradige, nicht nachweisbar erkennliche Umsetzung des Agglutinins nebenher stattfinden, in der Akme der Kurve würde destruktiver und produzierender Prozeß gleichmäßig verlaufen, während im abfallenden Teil die Destruktion des Agglutinins weit mehr in den Vordergrund träte. Madsen gibt demnach reversiblen Prozessen bei der Produktion dieser Reaktionskörper das Wort. Er verlegt den Umsatzprozeß auf das labile Agglutininmolekül selbst, indem er annimmt, daß ein Doppelprozeß, eine gleichzeitige Produktion und Dissoziation, vorherrscht, der schließlich in eine überwiegende Dissoziation ausläuft.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Zur Kasuistik der Streptothrixpyämie.

[Mitteilung aus dem pathologischen Laboratorium (Prof. Ruitinga) der Universität Amsterdam.]

Von Dr. J. J. van Loghem, Assistenten.

Mit 2 Figuren.

Ueber einen Fall, der in klinischer Hinsicht diagnostische Schwierigkeiten darbot, möchte ich die Resultate einer bakteriologischen Untersuchung veröffentlichen, welche zur Deutung des Symptomenkomplexes wesentlich beigetragen haben. Auf diese Weise sei erstens die Aufmerksamkeit auf ein Krankheitsbild gelenkt, das bis jetzt nur vereinzelt Male in der Literatur erwähnt wurde; zweitens etwas hinzugefügt zur Kenntnis eines Krankheitserregers, der durch seine Beziehungen zu den anderen Pilzen und die anatomischen Veränderungen, welche er im Tierkörper hervorruft, lebhaftes Interesse verdient.

Die Kranke, um welche es sich handelte, war eine 23-jährige, seit 2 Jahren verheiratete Frau. Sie sollte gesund gewesen sein, bis zur Entbindung eines toten Kindes am 31. Januar 1904. Während dieses Partus war sie in eine Bewußtlosigkeit geraten, welche 9 Tage gedauert hatte. Der Arzt sollte damals ihre Krankheit einer Nierenaffektion zugeschrieben haben.

Nach der Entbindung war Patientin dauernd krank geblieben, öfters fiebernd. Im November 1904 entwickelte sich spontan eine Schwellung in der Mitte der Vorderfläche des Thorax, welche vom behandelnden Arzt incidiert wurde; bald darauf kam eine spontane Perforation hinzu. Zwei Wochen später folgte ein spontaner Eiterausfluß am rechten Oberschenkel. Die unteren Extremitäten wurden steif und schmerzhaft, die beiden Füße ödematös; es entwickelte sich ein Decubitus sacralis.

Am 9. Januar 1905 wurde Patientin auf die chirurgische Abteilung des Herrn Dr. Mac Gillavry im hiesigen Krankenhaus der „Gereformeerde Vereeniging voor Ziekenverpleging“ aufgenommen.

Aus dem Status praesens, am 12. Januar erhoben, sei erwähnt, daß Frau V. einen schwerkranken Eindruck machte; die abgemagerte Kranke zeigte bald eine pyämische Euphorie, bald lag sie stark schwitzend, in passiver Körperlage mit einem Ausdruck von Angst und Schmerzen zu Bette. Die Hautfarbe des Gesichts war cyanotisch, die Zunge belegt, die Körpertemperatur erhöht (s. u.), der Puls ziemlich gefüllt, frequent und äqual, die Respiration oberflächlich und schnell.

An der rechten Augenbraue und auf der Nase befanden sich seit dem vorigen Tage zwei kleine cyanotische Anschwellungen; jene auf der Nase fluktuierte und war wenig schmerzhaft.

An der dorsalen Fläche der rechten Hand war eine gespannte, sehr schmerzhaft, zweifelhaft fluktuirende Schwellung vorhanden, welche sich weder auf die Finger, noch auf den Vorderarm fortsetzte; an dieser Stelle konnte die Haut nicht verschoben werden und erschien leicht rosa verfärbt. Auf der Vorderseite des Thorax befand sich eine Hautwunde mit unregelmäßigen, cyanotischen Rändern, deren Umgebung mit dem Manubrium sterni verwachsen war. Die Haut ringsum erschien leicht gerötet. Aus der Wunde quoll hämorrhagischer, dünnflüssiger Eiter

hervor. Die Lumbalgegend des Rückens wurde von einer schlaffen, deutlich fluktuierenden, an einen *décollement traumatique* erinnernden, wenig schmerzhaften Schwellung eingenommen, deren Grenzen schwer zu bestimmen waren; die Haut an dieser Stelle war nicht verfärbt. In der rechten Leistengegend war eine unregelmäßige Oeffnung, aus welcher große Mengen stark hämorrhagischen Eiters hervorquollen. Die Umgebung dieser Oeffnung sah aus wie *Scrophuloderma*, nur erschien die Cyanose mehr beschränkt und die Hautfarbe mehr rosa. Die rechte untere Extremität war flektiert und stark adduziert, der Trochanter etwas aufwärts gerückt; die Bewegungen der Beine der großen Schmerzen wegen stark gehemmt. An der hinteren Seite des linken Oberschenkels befand sich eine zweite zirkumskripte, schlaffe, fluktuierende Masse, der lumbalen Schwellung ganz analog. Es bestand starkes Oedem des rechten Fußes und Unterschenkels.

Während ihres Aufenthaltes im Spitale gesellte sich bald eine neue Schwellung in der rechten Schultergegend hinzu; es wurde dann eine Anhäufung von Flüssigkeit unter dem rechten *M. deltoideus* diagnostiziert, welche unter erheblichen Schmerzen innerhalb 24 Stunden sich entwickelt hatte; die Weichteile waren daselbst stark gespannt; die Haut ohne Verfärbung.

Im weiteren Verlaufe gingen die verschiedenen Schwellungen teils spontan zurück (Nase, Braue, Lumbalgegend), teils kamen sie zur Perforation (linker Oberschenkel), teils auch wurden sie mittels Punktion und Incision entleert und drainiert (rechte Hand und Schulter). Aus den spontan oder durch künstlichen Eingriff entstandenen Oeffnungen blieb der Eiter in wechselnden Mengen herabfließend. Nachdem die anfangs in der Lumbalgegend lokalisierte Schwellung verschwunden war, ergab sich eine starke Prominenz des 4. Lumbalwirbels, der bei Druck etwas schmerzhaft war.

Die Eigenwärme war sehr gestört; subnormale Temperaturen bis 35°C wechselten mit Fieber bis $39,5^{\circ}\text{C}$; 3mal hatte die Patientin einen Schüttelfrost. Die Expektoration, welche schon längere Zeit bestanden haben sollte, wurde im weiteren Verlaufe immer reichlicher; die Sputa bestanden aus grüngelben, geballten Massen.

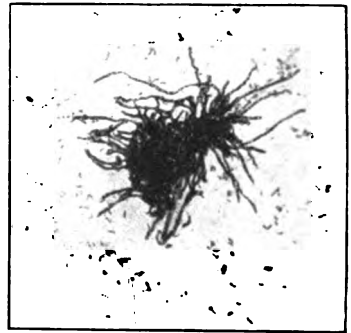
Nach rascher Verschlimmerung des allgemeinen Zustandes trat am 1. Februar der Exitus letalis ein.

Ueberblicken wir den Fall, so handelte es sich hier um eine junge Frau, die seit ihrer ersten Entbindung, vor 1 Jahre, allgemein krank gewesen war, mit Fieber und Expektoration. Während dieser Krankheit bekam sie mehrere Eiteransammlungen im Körper, welche teils spontan, teils künstlich zum Abflusse kamen, teils verschwanden. Es ist nicht meine Aufgabe, die verschiedenen klinischen Symptome zu diskutieren, und weil die Sektion verweigert wurde, ist nichts Positives über den Sitz und die Natur des Leidens mitzuteilen. Nur kann ich erwähnen, daß die Nadel, mittels welcher der Schulterabsceß entleert wurde, den Knochen berührte; ein gewiß nicht unwichtiger Befund im Zusammenhang mit den verschiedenen Symptomen in der Krankengeschichte, welche auf Knochenaffektionen an anderen Stellen (Wirbel, Sternum) hinweisen. Auch finde hier eine Bemerkung des Herrn Dr. Mac Gillavry eine Stelle, daß die verschiedenen Schwellungen sich klinisch deutlich in 2 Gruppen unterscheiden lassen. Die Abscesse der Schulter und der Hand waren hart, gespannt und schmerzhaft, die übrigen schlaff, nicht schmerzhaft, auch fehlte im allgemeinen (Hand und Nase ausgenommen)

eine deutliche Reaktion der Umgebung in der Form eines kollateralen Oedems, einer Rötung der Haut oder eines Infiltrationswalles.

Nach dieser Mitteilung der wichtigsten klinischen Daten komme ich zu den Ergebnissen der bakteriologischen Untersuchung, erstens: zweier Portionen Eiters, welche am 14. und 19. Januar resp. der Hand und der Schulter entnommen und baldigst nach der Punktion bearbeitet wurden; zweitens: des Sputums.

Der Eiter, insbesondere jener des Schulterabscesses, verbreitete bei der Entleerung einen sehr charakteristischen und penetranten Geruch, welchen der Operateur auf der Stelle als „Schimmelgeruch“ bezeichnete. Seine Farbe war grünlich-grau, teils hämorrhagisch; beim Schütteln des Reagenzglases hafteten bis $\frac{1}{2}$ mm große, weißliche Körnchen an der Wand des Glases. Das Quantum, bei der Punktion des Schulterabscesses entleert, betrug 30 ccm.



Zwei Streptothrixkolonien im Eiter des Schulterabscesses.
Färbung nach Gram. Vergrößerung 700.

Die Ausstrichpräparate des Eiters, mit Methyleneblau und Karbolutionin gefärbt, zeigen nur wenig charakteristische Bilder; zum größten Teile bestehen sie aus wenig distinkt tingierten Zellen, nur hier und da befindet sich ein gut gefärbter polynukleärer Leukocyt. Den oben genannten makroskopischen Körnchen entsprechen im Ausstrichpräparate größere Zellenhaufen, deren Zentrum aus wenig differenzierten, mit Thionin rötlich gefärbten Fäden zusammengesetzt ist. In Methyleneblaupräparaten zeigen diese Fäden eine undeutliche, granulierte Färbung welche an jene der Diphtheriebacillen erinnert.

Einen scharfen Kontrast bilden die nach Gram behandelten Präparate. Alle die Gesichtsfelder sind hier besät mit massenhaften, in Form untereinander sehr verschiedenen Mikroorganismen: Kokken- und stäbchenartigen Gebilden, einige mit Ramifikationen, andere geschlängelt. Die Begrenzung der meisten Formen ist nicht ganz scharf, die einzelnen größeren Stäbchen sind im Gegenteil wie gewöhnliche Bakterien sehr scharf konturiert und zeigen außerdem eine sehr deutliche Struktur. Die Betrachtung derjenigen Stellen der Präparate, welche den oben genannten auseinandergestrichenen Körnchen entsprechen, gestattet die Einheit, welche der Mannigfaltigkeit der Formen zu Grunde liegt, unschwer zu erkennen. An diesen Stellen findet man nämlich größere oder kleinere unregelmäßige Anhäufungen von bis 40 μ langen Fäden (s. die Figg.). Die Fäden haben im Zentrum der Anhäufung im allgemeinen

das Gentianaviolett behalten, nach der Peripherie ist die Färbung öfters nur partiell gelungen, so daß sie einen granulierten Aspekt bekommen. Auf diese Weise gehen einzelne Fäden unmerklich in die aus kokken- und stäbchenartigen Gebilden bestehende Umgebung über. Viele Fäden sind teils geschlängelt, einzelne zeigen Ramifikationen, andere haben ganz leicht verdickte Enden. Keulenartige und säurefeste Gebilde fehlen.

In den aus diesen beiden Portionen Eiter aerob und anaerob (Methode Liborius) angelegten Kulturen wuchsen viele Kolonien eines und desselben Mikroorganismus, welcher durch die folgenden Eigenschaften gekennzeichnet war.

Aerobes Wachstum auf Agar-Agar (37° C); in 2 Tagen entwickeln sich auf der Oberfläche weiße, bis 1 mm große, runde Kolonien, fest an der Oberfläche haftend; außerdem im Kondensationswasser einige bis 5 mm große, weiße, höckerige Klumpen.

In gewöhnlicher Nährbouillon entstand in wenigen Tagen ein Bodensatz einer weißen, klumpigen Masse; die obenstehende Flüssigkeit blieb klar; kein Wachstum an der Oberfläche.

Kein Wachstum bei 22° C in Bouillon, auf Agar und Gelatine.

Kein Wachstum in Milch, auf Serum oder Kartoffel (37° C).

Anaerobes Wachstum in Glykoseagar bei 37° C; in 3 oder 4 Tagen entwickeln sich elfenbeinweiße Kolonien mit unregelmäßiger, höckeriger Oberfläche, 3 oder 4 mm im Durchmesser; keine weitere Vergrößerung; keine Gasbildung.

Nach der 3. Passage zeigten sich die Kulturen steril.

Die mikroskopische Untersuchung der Kulturen ergab einen nach Gram sich färbenden Organismus, in langen Fäden ausgewachsen, mit sehr zahlreichen echten Ramifikationen. Viele Fäden sind in 4 μ langen, $\frac{1}{2}$ μ breiten Stücken auseinandergefallen. Auch leicht verdickte Enden und geschlängelte Strecken befinden sich in den Kulturen. Durch etwas intensivere Entfärbung der nach Gram behandelten Präparate gelingt es leicht, die partielle Färbung einzelner Fäden darzustellen; so entstehen die mannigfaltigen, meist coccobacillären Formen, welche bedeutend schmaler sind als die Fäden selbst, weil die gramfesten Teilchen innerhalb der Fadenwand liegen. Die Glykoseagarkulturen sind charakteristisch durch eine überaus große Frequenz der Ramifikationen; auch gelingt es hier leicht, die zarte Struktur, welche mit intensiv gefärbten Partien abwechselt, zur Darstellung zu bringen.

Das Sputum enthielt — nebst anderen Bakterien — viele Fädenkolonien, welche den oben beschriebenen völlig identisch waren; Reinzüchtung derselben ist nicht gelungen.

Kommen wir also jetzt zur Diagnose des Mikroorganismus, der einen solchen wichtigen Bestandteil des zur Untersuchung gekommenen Eiters vertrat, so nötigen uns die genannten Eigenschaften, ihn bei den Trichomyceten einzureihen, einer Gruppe, welche Petruschky (1) den höheren Schimmelpilzen gegenüber den Hyphomyceten untergeordnet hat.

Als pathogene Trichomyceten unterscheidet man Actinomyces, Streptothrix, Cladothrix und Leptothrix. Die beiden letzten Formen kommen in unserem Falle, wo in den Präparationen des Eiters und der Kulturen zahlreiche Ramifikationen vorhanden waren, nicht in Betracht. Zwischen Actinomyces und Streptothrix ist die Wahl etwas schwieriger, weil eine scharfe Grenze in bakteriologischer Hinsicht bisher nicht festgestellt wurde. Rechnet man aber den Actinomyces charakterisiert durch die im Organismus gebildeten Drusen mit säure-

festen keulenförmigen Endschwellungen (welche in unserem Eiterpräparate nicht vorhanden waren), so bleibt nur die Möglichkeit übrig, die von mir begegnete Form als eine der vielen *Streptothrix*-Varietäten zu deuten. Auf ein tieferes Eingehen in diese bakteriologisch-diagnostische Frage kann ich verzichten, da viele Autoren in der letzten Zeit [Sanfelice (2), Lignières und Spitz (3), Petruschky (1) u. a.] sich mit der Systematik der Streptothricheen beschäftigt haben.

Gehen wir zu der Frage über, welche Beziehung ist zwischen dem beobachteten Krankheitsbild und dem gefundenen Mikroorganismus. War der Schimmel die Ursache der durch den ganzen Körper zerstreuten Eiteransammlungen oder hat er sich nur sekundär in vorhandenen Gewebsveränderungen entwickelt? Zu einer direkten Antwort sind wir nicht im stande. Da der Fall nicht zur anatomischen Untersuchung kam, wissen wir also nichts über die in den Geweben vorgangenen Prozesse; zwar konnten wir mikroskopisch nichts anderes auffinden als bakterielle Formen, welche sich leicht als *Streptothrix* deuten ließen, die Möglichkeit bleibt indessen bestehen, daß ein anderer Mikroorganismus primär vorhanden gewesen sei. Auch spricht einigermaßen für die Möglichkeit die Tatsache, daß in der ersten der 6 Glykoseagarschüttelkulturen, in welchen 1 Tropfen Eiter des Schulterabscesses verteilt worden war, eine an einer einzigen Stelle beschränkte Gasbildung beobachtet wurde, augenscheinlich von einem kleinen *Coccobacillus* hervorgerufen, welcher sich nicht weiterzüchten ließ.

Indirekte Argumente aber gibt es mehrere, welche dazu führen, diese Krankheit, welche an Tuberkulose und Aktinomykose erinnerte, aber von diesen beiden in mancher Hinsicht verschieden war, als eine *Streptothrix*-Pseudotuberkulose zu deuten.

In der speziellen Literatur der Ophthalmologen, Urologen und Dermatologen sind *Streptothrix*-Fälle nicht sehr selten. Axenfeld (4) sammelte eine größere Zahl Fälle von Streptotrichose der Tränenröhrchen. Bruni (5) fand *Streptothrix* in der Blase, Rosenbach in der Haut als Erreger eines Erysipeloids, Vincent (6) bestimmte den Erreger des Madurafußes als *Streptothrix*, u. s. w.; für uns haben diese Befunde nur diese Bedeutung, daß sie lehren, daß die Vertreter der Streptothricheen in den verschiedensten Stellen des Körpers zu wachsen im stande sind. Auch der vor kurzem von Langer (7) beschriebene Fall einer Streptotrichose des Oesophagus bei einem Knaben, der eine Getreideähre verschluckt hatte, ist interessant, weil hier die Herkunft des *Streptothrix* festgestellt werden konnte.

Wichtiger für unseren Zweck sind schon die ziemlich oft beschriebenen Fälle von Streptotrichose der Lunge, welche in den letzten Jahren von Petruschky (1), Sanfelice (2) u. a. zusammengestellt worden sind. Auch in unserem Falle deutete der Sputumbefund auf eine Läsion im Respirationstraktus hin, zu welcher *Streptothrix* Beziehung hatte.

Ganz vereinzelt aber sind die Fälle, in welchen die Lungenkrankheit von metastatischen Eiterherden begleitet wurde; solche seien hier etwas ausführlicher erwähnt.

Die ersten Angaben über derartige generalisierte Streptotrichosen findet man in der Tierpathologie. 1888 veröffentlichte Nocard (8) eine Mitteilung über den „Farcin du bœuf“. Als Erreger dieser pseudotuberkulösen Lungenaffektion, welche von zahlreichen, indolenten, subkutanen, indurierten oder fluktuierenden Anschwellungen der Lymph-

drüsen und Gefäße begleitet ist, fand Nocard einen Streptothrix. Später wurde dieser Befund von mehreren Forschern bestätigt.

1891 fand Eppinger (9) bei der Sektion eines 52-jährigen Mannes eine Pseudotuberkulose der Lungen und Pleurae mit einem Hirnabsceß und absoluten Lymphdrüsenabscessen, hervorgerufen von einem Mikroorganismus, welcher wegen dem Fehlen echter Ramifikationen von Eppinger als Cladothrix diagnostiziert wurde. Auf Grund seiner Abbildung ist Eppingers Befund von einigen Autoren später als Streptothrix gedeutet worden. 1895 wurde aus Bordeaux von Sabrazès-Rivière (10) und Ferré-Faguet (11) über 2 Fälle von Hirnabsceß mit Streptothrix im Eiter berichtet. v. Ritter (12) veröffentlichte 1900 einen Fall von Pleuritis ulcerosa ebenfalls mit metastatischem Hirnabsceß.

Am meisten interessieren uns hier aber die Angaben über Lungenstreptothrichosen mit subkutaner Eiterbildung. Ein erster solcher Fall wurde 1895 von Sabrazès-Rivière (10) mitgeteilt; sie fanden im Sputum und im Eiter der subkutanen Abscesse einen Streptothrix, welcher weitergezüchtet werden konnte. Zwei Jahre später berichteten Scheele und Petruschky (13) über einen zweiten; es handelte sich um eine 56-jährige Frau mit Lungenleiden und multiplen Schwellungen an den Gelenken und auf dem Rumpf. Aus diesen Anschwellungen entwickelten sich Abscesse mit Streptothrix-haltigem Eiter. Im dritten Falle, von Silberschmidt (14), war ebenfalls ein Lungenleiden mit subkutanen Abscessen vorhanden.

Ob auch in unserem Falle die Lunge oder ob vielleicht das Genitale — die ersten Krankheitssymptome sind nach einer Entbindung aufgetreten — das primär erkrankte Organ gewesen sei, muß dahingestellt bleiben; immerhin betrachte ich die Tatsache, daß es in der Literatur Fälle gibt, welche mit dem unserigen übereinstimmen, als eine wichtige Stütze für die Annahme, daß Streptothrix eine ätiologisch primäre Rolle spielen kann.

Ein zweites Argument zu einer solchen Annahme geben auch die anatomischen Veränderungen, welche unser Streptothrix im Tierkörper hervorruft.

Die Resultate meiner Tierversuche kann ich kurz zusammenfassen. 13 Tage nach der Einspritzung einer 12 Tage alten Bouillonkultur der zweiten Passage in die Bauchhöhle einer Cavia wurden beim spontan¹⁾ verstorbenen Tiere zwei etwa linsengroße, mit weißem, dickem Eiter gefüllte Abscesse im aufgerollten Omentum majus gefunden. Das Omentum majus wurde in nach Gram gefärbten Paraffinschnitten untersucht; der Eiter bestand aus massenhaften Streptothrix-Fäden, polynukleären Leukocyten und stark eosinophilem Zelldetritus. Das umgebende Omentumgewebe war durchsetzt von großen, ovalen Zellen, deren Körper mit aufgefressenen Pilzfäden dicht angefüllt war.

II. Einem Kaninchen wurden einige Kubikcentimeter einer Bouillonkultur (14 Tage, 1. Passage) in die Trachea insuffiziert. Nach 5 Tagen waren verschiedene Teile der beiden Lungen, insbesondere der linke Unterlappen, von 1 mm großen, teils miteinander zusammenhängenden, konfluierenden, weißgelben Knötchen durchsät. Mikroskopisch wurde

1) Da wir in den Monaten, als ich diese Versuche anstellte, eine größere Zahl neuer Kaninchen und Caviae bald nach dem Ankauf verloren haben, ohne daß bei der Sektion etwas anderes als starke Abmagerung gefunden wurde, kann ich leider über die Pathogenität in dieser Hinsicht nichts Sicheres mitteilen.

festgestellt, daß an dieser Stelle massenhafte Fadenpilze die Reaktion des Gewebes hervorgerufen hatten.

III. Die Injektionen einiger Tropfen einer Bouillonkultur (14 Tage, 1. Passage) unter die Ohrenhaut eines Kaninchens veranlaßten kleine, langsam wachsende Abscesse, gefüllt mit weißlich-gelbem, dickflüssigem Eiter, *Streptothrix* enthaltend. Sehr auffallend war es, daß diese Absceßbildung, welche mehrere Wochen beobachtet wurde, ohne makroskopische Reaktion der Umgebung stattfand.

IV. Die endovenöse Injektion derselben Kultur hatte nach 8 Wochen, als das Kaninchen spontan nach beträchtlicher Abnahme des Körpergewichts (2800 auf 1380 g) verendete, eine Pseudotuberkulose der Milz hervorgerufen; die Oberfläche und die Schnittflächen des ganzen Organs waren mit zahlreichen, nadelkopfgroßen, weißlich-gelben, etwas prominierenden Stellen besetzt, welche mikroskopisch Entzündungsherden entsprachen¹⁾. Wichtig ist es, daß in diesen älteren Pseudotuberkeln nur ganz vereinzelte Reste der eingeführten *Streptothrix*-Fäden nachgewiesen werden konnten. Dagegen waren daselbst gramfeste, ovale, unregelmäßig zerstreute, verschieden große (2—5 μ Länge) Gebilde vorhanden. Für die Deutung, daß diese Gebilde wirklich Beziehung zur *Streptothrix*-Infektion haben, spricht der nächste Versuch, in welchem die Autopsie des Tieres ebenfalls nach mehreren Wochen vorgenommen wurde.

V. Ein Kaninchen wurde 5 Wochen nach der Einführung von 8 ccm einer 12 Tage alten Bouillonkultur (2. Passage) in die Bauchhöhle getötet. Die Bauchorgane waren normal, nur die mesenterialen Lymphdrüsen bildeten ein haselnußgroßes Konvolut und enthielten rahmähnlichen weißen Eiter; in den nach Gram behandelten Paraffinschnitten fand ich nur ausnahmsweise deutliche *Streptothrix*-Fäden und auch hier waren dieselben ovalen, gramfesten Gebilde vorhanden wie im IV. Versuch. Alles spricht dafür, daß diese Gebilde in derselben Weise sich zu *Streptothrix* verhalten, wie die „Keulen“ zu *Actinomyces*.

Der gesamte Befund, sowohl der klinische, der bakteriologische als der experimentelle, deutet auf die großen Schwierigkeiten hin, welche sich bei der Systematisierung dieser beiden Trichomyceten und der von ihnen hervorgerufenen Krankheiten darbieten.

Gewiß ist hiermit das Krankheitsbild der Patientin des Herrn Dr. Mac Gillavry nicht erklärt. Zu der Deutung aber sind wir etwas näher getreten: Bei einer nach ihrer ersten Entbindung chronisch erkrankten Frau, die eine Reihe von Symptomen darbot, welche an Tuberkulose und Aktinomykose erinnerten, wurde *Streptothrix* fast in Reinkultur in multiplen Eiterherden des Körpers und auch im Sputum gefunden; dieser *Streptothrix*, reingezüchtet, verursachte bei Kaninchen pseudotuberkulöse Vorgänge in verschiedenen Organen und subkutane chronische Eiterbildung. Die Wahrscheinlichkeit, daß dieser Mikroorganismus auch in Beziehung zur beobachteten Krankheit eine primäre Rolle gespielt hat, ist also sehr groß.

September 1905.

1) Da ich meine *Streptothrix*-Versuche — auch in Beziehung zur Chemotaxis — einer größeren experimentellen Untersuchung über die Morphologie einiger Immunitätsvorgänge eingereicht habe und also über die cellulären Prozesse dieser Pseudotuberkulose später ausführlicher berichten werde, kann ich mich hier auf die obenstehenden Mitteilungen beschränken.

Literatur.

- 1) Petruschky, Kolle u. Wassermanns Handb. d. path. Mikroorg. Bd. II. 1903. p. 832.
- 2) Sanfelice, Fr., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 1. p. 30.
- 3) Lignières, J. et Spitz, G., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. p. 294, 452.
- 4) Axenfeld, Th., Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. III. 1903. p. 557.
- 5) Bruni, C., Monatsber. f. Urologie. Bd. X. 1905. p. 87.
- 6) Vincent, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VIII. 1894.
- 7) Langer, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVII. 1904. p. 447.
- 8) Nocard, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. II. 1888. p. 295.
- 9) Eppinger, Zieglers Beitr. Bd. IX. 1891. p. 287.
- 10) Sabrazès et Rivière, Semaine méd. 1895. p. 383.
- 11) Ferré et Faguet, Semaine méd. 1895. p. 359.
- 12) v. Ritter, Zitiert nach Sanfelice (2).
- 13) Scheele u. Petruschky, Verh. d. 15. Kongr. f. inn. Med. 1897. p. 550.
- 14) Silberschmidt, zitiert nach Petruschky (1).

Nachdruck verboten.

Ueber das Latentleben der Tetanussporen im tierischen Organismus

und über die Möglichkeit, daß sie einen tetanischen Prozeß unter dem Einfluß traumatischer und nekrotisierender Ursachen hervorrufen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Kgl. Universität zu Siena, geleitet von Prof. O. Barbacci.]

Von Dr. med. **Giulio Tarozzi**,

Assistenten und Privatdozenten der pathologischen Anatomie.

Es wird allgemein angenommen, daß der Nicolayersche Bacillus nicht im stande ist, im lebenden und gesunden Organismus zu gedeihen, und daß infolgedessen das bloße Eindringen giftfreier Sporen dieses Keims in die gesunden Gewebe in der Mehrzahl der Fälle nicht ausreicht, den Tetanus zu erzeugen. Damit die Sporen an der Stelle, wo sie, sei es auf natürlichem Wege, sei es auf künstlichem Wege, bei Tieren eingepflanzt wurden, anwachsen können, mußte man das Eingreifen besonderer Umstände annehmen, die eben als begünstigende bezeichnet wurden. Sie sind ihrer Natur nach kaum bekannt; bei deren vollständigem Fehlen würden aber die Sporen rasch vernichtet werden, ohne daß sie gedeihen können und mithin ohne daß das Toxin gebildet wird. Die Entwicklung des Keimes würde sich dann, wenigstens nach der überwiegenden Mehrzahl der Beobachtungen des menschlichen Tetanus sowie des tierischen Versuchstetanus, infolge von Sporeneinimpfung in die Gewebe, ausschließlich auf den Infektionsherd beschränken. Deshalb wird von diesem Gesichtspunkte aus der Tetanus als das typische Beispiel einer lokalen Infektion mit allgemeiner Intoxikation des Organismus durch Resorption der vom Keime am Infektionsort verarbeiteten Produkte betrachtet.

Bezüglich der Natur der obenerwähnten begünstigenden oder fördernden Bedingungen wurden verschiedene Hypothesen geäußert: es

wurde für die einzige notwendige Bedingung die Symbiose mit anderen Keimen gehalten und diese Lehre wurde anfangs vielfach unterstützt (Vaillard und Vincent, Vaillard und Rouget), dann wurde sie aber wenigstens als eine allzu ausschließliche betrachtet und sehr bald widerlegt und verlassen (Sanchez-Toledo, Klippstein, Roncali, Beck etc.); man erkannte, daß auch andere von der Gegenwart irgend welches verschiedenen Keimes ganz unabhängige Umstände die Sporentwicklung in den Geweben fördern konnten, darunter die Natur der traumatischen Läsion, die Gegenwart von Fremdkörpern, die Injektion von verschiedenen, meist nekrotisch wirkenden Stoffen etc. Wenn nun alles, was die Beobachtung der besser untersuchten klinischen Fälle von traumatischem Tetanus, und diejenigen der Wöchnerinnen, der Neugeborenen etc. sowie die Ergebnisse der Experimente bieten, einer kritischen Analyse unterworfen wird, so scheint mir, daß daraus als vorwiegendes Merkmal die Tatsache hervorgeht, daß an Ort und Stelle, wo die Sporen sich entwickeln sollen und das Toxin bilden, zu gleicher Zeit nekrotische Zustände der Gewebe existieren, welches auch die Ursachen sind, die sie erzeugt haben. Nach alle dem, was wir in Bezug auf die natürlichsten und geeignetsten Entwicklungsbedingungen der so echt saprophytischen Anaërobenkeime, zu deren Reihe ja der Tetanusbacillus gehört, durch meine neueren Untersuchungen kennen gelernt haben, scheint mir ferner, daß, wenn nicht in vollkommener Weise, doch zum größten Teil auch diese Seite der Tetanuspathogenese dadurch geklärt werden kann.

In ihrer pathogenetischen Deutung viel dunkler bleiben hingegen noch diejenigen zwar nicht häufigen, doch mehrmals beobachteten Fälle, bei denen man das Zustandekommen der Krankheit als vom *Nicola yerschen* Bacillus bedingt annehmen mußte, trotzdem nicht nur kein Lokalisierungsherd der Keimentwicklung, sondern nicht einmal irgend welche Kontinuitätstrennung der Gewebe festgestellt wurde, die man als Eingangspforte der Infektion halten könnte. Es ist als wahrscheinlich anzunehmen, daß solche Fälle infolge einer sowohl klinischen, wie nekroskopischen mehr eingehenden Untersuchung immer seltener werden, wie aus einigen Literaturfällen hervorgeht, bei denen, obwohl sie unter allen Erscheinungen eines rheumatischen Tetanus auftraten, der tetanuserzeugende Herd an einer unverdächtigen Körperstelle vorgefunden werden konnte (Beobachtungen von Stern, Carbone und Perrero, Steiner, Thalman, Racine und Bruns etc.) Unter den sogenannten spontanen Tetanusfällen gibt es jedoch einige, bei denen es scheint, daß man auch eine verborgene Lokalisierung ausschließen konnte, und bei denen man gar keine Schädigung der Hautdecke fand, die vermuten ließ, dem spezifischen Keime als Eingangspforte gedient zu haben. In diesen Fällen können wir uns die Frage vorlegen, ob die Lokalisierung etwa in einem tiefgelegenen Organ ihren Sitz hatte, derart, daß sie einer auch eingehenden nekroskopischen Untersuchung entgehen könnte. Dieser Hypothese nach könnte man nicht begreifen, wie die Tetanussporen bis zum Entwicklungsherd gelangen konnten, wenn eine direkte Kommunikation zwischen ihm und außen fehlt. Die einzige Erklärung für diese Fälle wäre die Annahme, daß die Sporen, die schon im Zustand des Latentlebens in irgend einem inneren Organ vorher existierten, unter dem Einfluß irgend einer begünstigenden Bedingung gedeihen und dadurch einen scheinbar spontanen Tetanus verursachen konnten.

In der Absicht zu prüfen, welche Glaubwürdigkeit dieser Hypothese geschenkt werden kann, wurden die vorliegenden Untersuchungen vorgenommen.

I.

Eine erste Untersuchungsreihe wurde darauf gerichtet, festzustellen, ob und mit welcher Häufigkeit die zwischen die Gewebe oder subkutan injizierten Tetanussporen in den Kreislauf übergehen und sich im Organismus zerstreuen.

Im allgemeinen wird angenommen, wie ich schon hervorgehoben habe, daß die Tetanussporen, einmal in die Gewebe eingedrungen, entweder die geeigneten Entwicklungsbedingungen darin finden und dann kommt der Tetanus zu stande, oder sonst verschwinden sie nach einer längeren Zeit vollkommen wieder, durch die natürlichen Verteidigungsvorgänge des Organismus selbst vernichtet. Wird jedoch die diesbezügliche Literatur nachgeschlagen, so findet man einige seltene Beobachtungen von menschlichen Tetanusfällen, bei welchen hingegen der spezifische Bacillus an vom Infektionsherd weit entfernten Stellen gefunden wurde; so fand man ihn in der Scheide des N. ischiadici und im Rückenmark (Nicolayer), in den Lymphknoten der Gegend (Schnitzler), in der Medulla oblongata (Haegler), in der Cerebrospinalflüssigkeit und in einem Blutungsherde des Gehirns (Dor), im Blute (Haegler, Belfanti und Pescarolo, Vanni und Giarrè, Hochsinger, Hohlbeck), in der Milz (Creite) etc. Von experimenteller Seite finden wir, daß Sanchez-Toledo und Velion annehmen, daß der Tetanusbacillus in den letzten Lebensstunden vom Infektionsherd in das zirkulierende Blut überzugehen vermag. Vaillard und Vincent erhielten in einem Fall, wo fast das ganze Gehirn eines an Tetanus gestorbenen Meerschweinchens ausgesät wurde, positive Kulturen, in einem anderen Fall, wo erst lange Zeit nach der Sporeninjektion die Tetanusentwicklung erfolgte, nahmen sie an, daß sich der Bacillus in der Leber entwickelt hatte, die der Sitz besonderer Nekrosechädigungen war. Neuerdings sah ferner Vincent, der Meerschweinchen der Einwirkung hoher Temperaturen aussetzte, denen er atoxische Tetanuskulturen unter die Haut injiziert hatte, nicht nur den Tetanus auftreten, sondern er konnte auch eine Art Verallgemeinerung der Infektion feststellen, da er aus den inneren Organen positive Entwicklung des Tetanusbacillus erhalten konnte. In einer kurz darauf folgenden Arbeit fand derselben Autor den Tetanusbacillus in seiner vegetativen Form in Nekroseherden, die er durch Chinininjektion erzeugte, an von dem Einimpfungsort der Sporen weit entfernten Stellen. In dieser Hinsicht verdienen auch die Beobachtungen von A. Sacaryan erwähnt zu werden, der bei seinen Untersuchungen über den Tetanusbacillus im Boden von St. Petersburg denselben Bacillus im Blute und in den inneren Organen von mit positivem Ausfall injizierten Tieren manchmal gefunden hatte, und diejenigen von Oettingen und Zumppe, denen es hingegen gelang, mit bemerkenswerter Häufigkeit positive Ergebnisse zu erhalten, indem sie bei einer Reihe von durch subkutane Einführung von Holzsplittern und Erde tetanisch gemachten Mäusen umfangreiche, aus inneren Organen entnommene Gewebestücke aussäten.

Zu dieser meiner ersten Untersuchungsreihe habe ich Meerschweinchen und Kaninchen verwendet, die ich mit virulenten Tetanuskulturen injizierte; als Einimpfungsmaterial benutzte ich Kulturen, die sich aërob in Bouillon entwickelt hatten, zu der ein steriles Leberstück von Meer-

schweinchen oder Maus zugefügt worden war. Die vor der Injektion untersuchten Kulturen sollten sich als gut mit Sporen versehen zeigen, wie es übrigens im allgemeinen immer der Fall ist bei den mit diesem System ausgeführten Kulturen. Diese Vorbedingung muß notwendigerweise beachtet werden, da sonst eine mangelhafte Sporenbildung den Erfolg des Versuchs beeinträchtigen kann. Das Kulturalter schwankte im allgemeinen zwischen 5—10 Tagen von der Thermostatinkubation, ihre Giftigkeit derartig, daß sie in wenigen Tagen ein Kaninchen bei der Dosis von 1—1,5 ccm tötete. Die Untersuchung der Tetanussporen in den inneren Organen geschah nach der von mir vorgeschlagenen Methode: In ebensoviele Bouillon- oder Schrägagarröhrchen setzte man kleine, aseptisch herausgeschnittene Stücke aus den inneren Organen des kaum verstorbenen Tieres und dieselben wurden zur Inkubation in den Ofen bei 37° C gebracht. Durch diese Methode kann man leicht ganze Organe der kulturellen Prüfung unterwerfen, was aber nicht nötig ist, wenn vor kurzer Zeit infizierte Tiere untersucht werden, da unter diesen Umständen die Menge der Sporen, die in den Kreislauf übergeht, meist hinlänglich groß ist, um deren Vorhandensein selbst in einem Stück von ca. 1 ccm oder wenig mehr nachweisen zu können. Die Verwertung von großen Organstücken kann hingegen sehr nützlich werden, wenn man die Untersuchung der Latenzsporen bei vor längerer Zeit geimpften Tieren vornimmt, bei welchen ein Teil der Sporen vom Organismus fortschreitend gestört wird.

Diese Untersuchungsreihe umfaßt 11 Tiere, und zwar 4 Kaninchen und 7 Meerschweinchen; zwei Tiere (ein Meerschweinchen und ein Kaninchen) wurden mit Kulturen inokuliert, die bloß Vegetationsformen enthielten: die Kulturen aus den inneren Organen gaben völlig negative Resultate, bloß aus dem Einimpfungsort konnte man den inokulierten Bacillus wieder erlangen. Dies scheint mir durch den Umstand erklärt werden zu können, das die Vegetationsformen einen schwachen Widerstand gegen die Zerstörungsursachen leisten, denen sie im Organismus begegnen, während sie im Injektionsherde wegen der massigen Einführung einer reichlichen Kulturmenge für eine gewisse Zeit sich geschützt befinden, wenigstens solange die Reaktionsvorgänge seitens der benachbarten Gewebe nicht in Aktion getreten sind. Die Untersuchung der 9 übrig bleibenden Fälle gab folgende Ergebnisse: Bei allen 3 tetanisch gemachten Kaninchen konnte man die Gegenwart der Sporen in den inneren Organen feststellen; unter den 6 inokulierten Meerschweinchen hingegen wurden sie bloß bei 3 vorgefunden. Es scheint also, daß im Versuchstetanus dieser Uebergang der Sporen in die inneren Organe leichter und häufiger im Kaninchen stattfindet, als im Meerschweinchen. Bei diesen Untersuchungen habe ich nicht danach geforscht, ob die Sporen im Blute nachweisbar sind, was man aber immer leicht ausführen kann, indem man mittels einer Pipette eine gewisse Menge Blut aus dem Herzen entnimmt, das man dann in ein Agar- oder Bouillonröhrchen bringt, welches ein frisches Gewebestück enthält, oder indem man das Gewebe direkt in Berührung mit dem in eine sterile Eprouvette eingegossenen Blut bringt. Diesbezüglich will ich nur erwähnen, daß ich zu wiederholten Malen an Kaninchen und Meerschweinchen, denen sporenhaltige (atoxische) Tetanuskulturen unter die Haut injiziert worden waren, und welche ich 1 oder 2 Tage später der Einwirkung hoher Temperaturen aussetzte, um zu sehen, ob es mir gelang, wie Vincent, den Tetanusausbruch herbeizuführen, mit dem

aus dem Herzohr entnommenen Blut nach Tötung des Tieres im allgemeinen mit negativem Erfolg Kulturen ausführte. Ich halte die Annahme für wahrscheinlich, daß die Sporen, wenn sie von der Injektionsstelle in den Kreislauf eindringen konnten, da sie im gesunden lebenden Organismus und noch weniger im Blute sich zu entwickeln fähig sind, bald sich, wie alle inerte, in den Kreislauf eingeführten Fremdkörper besonders in denjenigen Organen aufhalten, bei denen die Kapillarzirkulation sehr verlangsamt ist, und infolgedessen können sie seltener im Blut wiedergefunden werden.

Aus diesen Versuchsergebnissen kann man natürlich nicht folgern, daß im Tetanus, wie er beim Menschen beobachtet wird, mit gleicher Häufigkeit Sporen und Bacillen des Tetanus in den Kreislauf gelangen müssen. Die Zustände sind in den zwei Fällen sehr und in mehreren Hinsichten verschieden: zunächst besteht der Herd, in dem der Bacillus bei dem menschlichen Tetanus sich entwickelt, häufig aus infolge irgend einer Ursache totem oder brandigem Gewebe und mithin sind ihre Verbindungen mit dem Kreislauf entweder sehr tief verändert oder gar gänzlich aufgehoben, während das Toxin schon bloß durch Imbibition resorbiert werden kann; ferner tritt im Tetanusherd niemals jene reichliche Entwicklung und eine derart reiche Sporenbildung auf, die man nicht einmal weit entfernt mit der Kultur vergleichen kann, die unter die Haut injiziert wird. Jedoch scheint mir, daß man annehmen kann, daß unter geeigneten Bedingungen auch beim menschlichen Tetanus nichts verhindert, daß die Sporen in den Kreislauf vom Lokalisierungsherd des Infektionsprozesses gelangen können.

Aus der Gesamtheit dieser Untersuchungen ergibt sich ferner wieder die Bestätigung, daß die aërobe Kultur des Tetanusbacillus immer mit einem erheblichen toxischen Vermögen begabt ist, denn wir haben immer den Tod des Tieres nach subkutaner Injektion einer Menge von Kulturflüssigkeit zwischen 1 und 1,5 ccm nicht bloß am Meerschweinchen, sondern auch am Kaninchen eintreten gesehen, ja 2 Meerschweinchen, mit der einzigen Dosis von 0,5 ccm inokuliert, starben 26 bis 29 Stunden später, obwohl ich für diese Inokulationen Ueberpflanzungen verwendete, die von aëroben Kulturen stammten, welche der Luft und dem diffusen Licht des Zimmers mehr als 3 Monate lang ausgesetzt worden waren, was deutlich beweist, daß in den aëroben Kulturen des Tetanus die pathogene Eigenschaft selbst nach sehr langer Zeit sich nicht im geringsten ändert.

II.

Nachdem auf diese Weise festgestellt wurde, daß die Tetanussporen im Versuchstier von der Stelle der subkutanen Injektion mit großer Häufigkeit und verhältnismäßig leicht in den Kreislauf übergehen, und sich in den tiefen Organen aufhalten können, blieb noch übrig, festzustellen, wie lange diese Sporen dort lebensfähig sich erhalten können, und dies stellte eben den Gegenstand dieser zweiten Versuchsreihe dar, die mit derselben Methode wie die vorausgehende ausgeführt wurde, indem dabei dafür besondere Sorge getragen wurde, daß wir, je weiter wir uns von der Inokulationszeit entfernten, desto mehr Proben aus den einzelnen Organen anstellten, bis sie häufig alle benutzt wurden, selbstverständlich um möglichst alle zufälligen Mißerfolgsursache auszuschließen.

Bevor wir die Ergebnisse dieser Untersuchungen mitteilen, wollen

wir einen raschen Ueberblick auf die Literatur werfen, um zu sehen, was diesbezüglich schon bekannt war. Dies ist wirklich recht wenig, da die weit überwiegende Mehrzahl der Verfasser der Meinung ist, daß nicht nur die Bacillen, sondern auch die Sporen niemals sich in den tiefen Organen vorfinden, außerdem bald selbst aus der Injektionsstelle verschwinden. Vaillard und Rouget sahen bei einem gegen den Tetanus immunisierten Meerschweinchen, dem in einen Schenkel Tetanussporen und Milchsäure injiziert worden waren, zirka 3 Monate nach der Injektion einen tödlichen Tetanus auftreten. An der Injektionsstelle fanden sie einen okerähnlichen Herd, in dem sie durch mikroskopische und kulturelle Untersuchung den Tetanusbacillus nachwiesen. In einem mit atoxischen Tetanussporen inokulierten und plötzlich an Tetanus einen Monat nach der Injektion gestorbenen Kaninchen fanden sie in der Injektionsstelle nur in Leukocyten eingeschlossene Sporen, während die Leber mit Nekroseherden bestreut war, weshalb die Verff. annahmen, daß zu irgend einem solchen Herde einige Sporen gelangten, die sich dann entwickelt haben und den Ausbruch des Tetanus veranlaßten. Aus diesen Beobachtungen ziehen sie den Schluß, daß die Tetanussporen gelegentlich auch an einer anderen Stelle gedeihen können, als jener, wo sie eindringen, und dies kann auch eine mehr oder weniger lange Zeit nach deren Einführung in den Organismus geschehen. Vincent nahm bei den oben erwähnten Arbeiten diese Untersuchungen wieder auf, in der Absicht, das Auftreten einiger Formen des spontanen Tetanus zu erklären, und angeblich gelang es ihm, verschiedene Tage nach der Injektion tetanische Erscheinungen herbeizuführen, indem er auf mit atoxischen Sporen injizierte Meerschweinchen hohe Temperaturen einwirken ließ, und in einigen Ausnahmefällen Tetanus Symptome selbst 60 Tage später erzielen zu können. So konnte der Autor das Wiederaufwachen eines Tetanusprozesses infolge einer Chininjektion in einer von der Injektion der Sporen entfernten Stelle 6—8 Tage später feststellen, nachdem die Sporen injiziert worden waren.

Bei dieser, wie bei der folgenden Versuchsreihe habe ich ausschließlich Kaninchen angewendet; wird das Meerschweinchen dazu benutzt, so sieht man häufig, daß das selbst mit erwärmten Kulturen injizierte Tier doch an Tetanus stirbt, wenn die Erwärmung nicht etwa 2 Stunden und bei einer Temperatur unterhalb 80° C dauerte. Nach einem so langen Erhitzen kann aber die Lebensfähigkeit der Sporen, wenigstens in der größten Mehrzahl derselben, sehr beeinträchtigt werden und man kann leicht negativen Ergebnissen begegnen, vollkommen unabhängig von der zu untersuchenden Tatsache, und in direktem Zusammenhang mit den wenig geeigneten Zuständen des injizierten Materials. Am Kaninchen, dessen Empfindlichkeit für das Tetanustoxin viel geringer ist, als jene des Meerschweinchens, kann man ohne Gefahr 1—2 ccm sporenhaltiger und bloß eine halbe Stunde oder nur wenig länger zwischen 70 und 75° C erwärmter Kultur sowohl direkt ins Blut, wie auch unter die Haut injizieren. Bei den vorliegenden Untersuchungen, wie bei den folgenden, habe ich die intravenösen Injektionen bevorzugt, da ich in diesem Fall sicherer war, daß die Sporen, die ich dann nach einer gewissen Zeit in den inneren Organen suchen mußte, in diese zweifellos gelangt waren und in einer größeren Menge, als bei Anwendung der subkutanen Injektion.

Ich habe 8 Versuche angestellt und ihre Ergebnisse führen übereinstimmend zu dem Schluß, daß mittelst der Kulturen die Gegenwart

von noch lebensfähigen Tetanussporen im Organismus der Tiere, in deren Kreislauf atoxische sporenhaltige Kulturen eingeführt wurden, für eine sehr lange Zeit nach der Injektion festgestellt werden kann. Denn die vom Injektionsaugenblick bis zu jenem der Sporennachuntersuchung abgelaufene Zeitperiode schwankte von einem Minimum von 11 Tagen bis zu einem Maximum von $3\frac{1}{2}$ Monaten; in allen Fällen erhielt man aus den Untersuchungen positive Resultate. Vielleicht wäre es zweckmäßig, durch systematische Untersuchungen das Uebertreten dieser Sporen in die Organe bis zu ihrer annähernden maximalen Zeitfrist zu verfolgen, doch fehlte mir bis jetzt die Gelegenheit, derartige Untersuchungen vorzunehmen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über das Blut des tetanuskranken Pferdes. Hämolyse — Agglutination — Kryoskopie.

[Aus dem Laboratorium für Pathologie und klinische Medizin der kgl. tierärztl. Hochschule zu Turin (Direktor: Prof. L. Brudasco).]

Erste Mitteilung.

Von **M. E. Tabusso**, Assistenten.

Übersetzt von Dr. Kurt Tautz, Berlin.

Ich habe das Verhalten einiger biologischer Eigenschaften des Blutserums des tetanuskranken Pferdes untersucht, und zwar besonders:

- 1) das hämolytische Vermögen in seinen verschiedenen Arten der Auto-, Iso- und Heterolyse;
- 2) das Agglutinationsvermögen, und zwar auch als Auto-, Iso- und Heteroagglutination;
- 3) das Verhalten des Gefrierpunktes.

Das Untersuchungsmaterial lieferten mir drei Pferde, die zu verschiedenen Zeiten in die medizinische Klinik der tierärztlichen Hochschule von Turin Aufnahme gefunden hatten.

A. Pferd von 9 Jahren — klinischer Verlauf des Tetanus in 6 Tagen — lieferte die Serumproben:

- a) am 2. Krankheitstage
- b) " 4. " "
- c) " 6. " " (6 Stunden vor dem Tode).

B. Pferd von 6 Jahren — klinischer Verlauf des Tetanus in 4 Tagen — lieferte die Sera:

- d) am 2. Krankheitstage
- e) " 4. " " (10 Stunden vor dem Tode).

C. Pferd von 6 Jahren — klinischer Verlauf des Tetanus in 7 Tagen — lieferte die Sera:

- f) am 4. Krankheitstage
- g) " 5. " "
- h) " 7. " " (12 Stunden vor dem Tode).

Um Vergleichswerte für die Resultate meiner Untersuchungen zu haben, habe ich die Technik und die von der Mehrzahl der Beobachter anerkannten Beurteilungskriterien angenommen.

1. Hämolyse.

Technik. Das zu untersuchende Serum wurde entweder mittels Koagulation oder Defibrinierung und nachfolgender Zentrifugierung von den verschiedenen Blutproben getrennt; letztere waren nach den strengsten Regeln der Asepsis von den tetanuskranken Objekten manchmal mittels gewöhnlichen Aderlasses, häufiger aber direkt aus der Vena jugularis mittels nadelförmiger Kanüle gewonnen worden.

Die roten Blutkörperchen wurden dann nach wiederholtem Waschen im Verhältnis von 5 : 100 in einer leicht hypotonischen Kochsalzlösung (7 : 1000) suspendiert. Diese hypotonische Lösung habe ich gewählt, weil nach der Beobachtung von Pagniez die leicht geschwollenen Blutkörperchen der hämolytischen Wirkung besser unterliegen und daher die Wirkung von auch nur unerheblich hämolytischen Seris konstatieren lassen.

Um die hämolytische Wirkung des Serums zu prüfen, fügte ich zu verschiedenen Reagenzröhrchen, von denen jedes 5 ccm Chlornatriumlösung (7 : 1000) und einen Tropfen der Erythrocytensuspension enthielt, nach und nach 1, 2, 3, 4 bis 10 Tropfen Serum. Die so präparierten Röhrchen wurden ungefähr 2 Stunden bei 37° gehalten und dann untersucht.

Mir schien es nötig, die Versuche an Serumproben zu wiederholen, die in verschiedener Weise (Koagulation, Defibrinierung und Zentrifugierung) aus dem Blute gewonnen waren, da ich fürchtete, daß die Methode der Präparation vielleicht in irgend einer Weise die Serumwirkung beeinflussen könnte. Aber aus den Proben und Gegenproben ergaben sich keine merklichen Differenzen.

Resultate der Versuche. — Beim Experimentieren mit den verschiedenen Serumproben konnte ich nicht Erscheinungen von Autolyse entdecken. Dieselben mit den Proben c, e und h angestellten Versuche, welche von wenige Stunden vor dem Tode entnommenem Blute tetanuskranker Individuen stammten, fielen ganz und gar negativ aus; ich führte dabei die Beobachtungen nach den strengsten Regeln der Technik aus und ließ auf 1 Volumen Erythrocyten bis zu mehr als 10—15 Volumina Serum einwirken.

Dieses Resultat stimmt überein:

1) mit dem Resultate, welches ich bei der Untersuchung der autolytischen Kraft des Pferdeblutserums unter anderen pathologischen Zuständen erhielt, speziell beim Rotz und chronischen Lungenemphysem, Krankheiten, die den Patienten bisweilen zu den höchsten Graden von Anämie und Ernährungsstörung bringen;

2) mit dem Resultate derjenigen Beobachter, welche vergeblich die Gegenwart von Autolysinen in anderen Organismen, speziell im menschlichen, zu zeigen versuchten;

3) mit dem Resultate der ersten kurzgefaßten mikroskopischen Beobachtungen über die Blutkörperchen des tetanuskranken Pferdes *intra vitam*, an deren Vervollständigung ich bis zum heutigen Tage gearbeitet habe. In der Tat ist es mir bis jetzt nicht gelungen, irgend eine bemerkenswerte Modifikation in den morphologischen Charakteren der genannten Blutkörperchen zu entdecken.

Auch die Untersuchungen über die Gegenwart von *Isolysinen* waren nicht entscheidender. Die verschiedenen Serumproben waren an Erythrocyten zweier gesunder Versuchsobjekte geprüft.

Wenn ich auch in einer anderen Serie von Experimenten, die zur Untersuchung der Pferdeblutwirkungen im allgemeinen angestellt waren, in einigen Fällen von chronischem Rotz und lobärer Lungenentzündung eine isolytische Wirkung gefunden hatte — für letztere Fälle kann ich nicht absolut die Möglichkeit eines bakteriellen Einflusses, speziell des Staphylococcus, ausschließen — so hatte ich dennoch bemerkt, daß diese Wirkung sich nicht an allen Erythrocytenproben, sondern nur an einigen, manifestiert. Legt man ferner auch Gewicht auf die außerordentlich große Aehnlichkeit, welche diese Tatsache mit den nach dieser Richtung am menschlichen Blute angestellten Beobachtungen hat, so kann man meiner Ansicht nach nicht ohne weiteres behaupten, daß im Blute des tetanuskranken Pferdes keine Isolysine existieren.

Betrachtet man in dieser Hinsicht die Ehrlichsche Theorie über die Natur der Hämolysine, so erinnert man sich, daß die Hämolysine wie die Cytolysine im allgemeinen Rezeptoren dritter Ordnung oder Ambozeptoren (Sensibilisatrice, Antikörper) sind, deren beide haptophoren Gruppen einerseits das lösliche rote Blutkörperchen, andererseits das notwendige Komplement (Alexin, Cytase) binden, um die auflösende Wirkung des Ambozeptors möglich zu machen. Erinnert man sich andererseits an den Schluß, zu dem Ascoli anfangs kam, nach dessen Meinung die Isolysine Substanzen von sehr komplexer Natur wären, so kann man annehmen, daß ein gegebenes Serum Isolysine besitzt, welche nicht in allen Erythrocytenproben kombinierbare Gruppen finden, sondern nur in einigen von ihnen; dies stimmt auch mit der Ehrlichschen Schlußfolgerung überein, wonach die Erythrocyten der verschiedenen Individuen einer gegebenen Species nicht gleichwertig sind [Micheli¹⁾ l. c.].

Es ist daher wahrscheinlich, daß das isolytische Vermögen des Serums eines tetanuskranken Pferdes demonstriert werden könnte, wenn man es an einer großen Zahl von Erythrocytenproben prüfte.

Die Gegenwart von Heterolysinen war ein konstanter Befund im Blute des tetanuskranken Pferdes, wie ich schon in anderen pathologischen Fällen konstatiert hatte. Bei den mit Kaninchenerythrocyten (α , β , γ) angestellten Versuchen hielt sich die lytische Kraft in fast konstanten Grenzen, sowohl beim Vergleiche des Serums der drei Objekte A, B und C als auch beim Vergleiche der verschiedenen Serumproben eines und desselben Objektes, die in verschiedenen Momenten des klinischen Verlaufes des Tetanus gewonnen waren.

In der Tat lösten konstant:

0,5—0,7 Vol. der Sera a, b, c	1 Vol. Blutkörperchen	α
0,3—0,5 " " " d, e	1 " "	β
0,3—0,6 " " " f, g, h	1 " "	γ

Die Erwärmung auf 56° zerstörte in jedem Falle die lytische Kraft des Serums: 1 Volumen Blutkörperchen blieb in 10—15 Vol. bei 56° inaktivierten Serums intakt.

2. Agglutination.

Technik. — Das Agglutinationsvermögen wurde im hängenden Tropfen beobachtet, indem man auf die wiederholt in isotonischer Kochsalzlösung gewaschenen Erythrocyten das gänzlich von den eigenen Blutkörperchen befreite Serum einwirken ließ.

1) Vgl. Capogrossi, Ann. d'igiene sperim. 1903. Fasc. 4. p. 582. — Micheli, Giorn. della r. acad. di med. di Torino. 1903. No. 9. p. 550.

Aus Gründen, deren Wiederholung unnötig ist, habe ich die Technik einiger Beobachter für ungeeignet gehalten, nach denen man die Agglutination an Präparaten beobachtete, die auf gewöhnlichen gläsernen Objektträgern hergestellt waren, oder auch, indem man das ganze agglutinierende Blut mit dem zu agglutinierenden mischte.

Nur bei einer gewissen Anzahl von Beobachtungen habe ich das Agglutinationsvermögen des Serums auf das Blut im ganzen untersucht, um festzustellen, ob das Serum des zu agglutinierenden Blutes die Kraft des agglutinierenden Serums beeinflusste. Ich erhielt jedoch keine positiven Resultate.

Auch für die Beobachtungen über das Agglutinationsvermögen hielt ich es für erforderlich, die Versuche mit verschiedenen Proben eines und desselben auf verschiedene Weisen gewonnenen Serums zu wiederholen; ich vermied damit auch den Vorwurf, daß die Technik der Serumgewinnung auf seine Eigenschaften Einfluß haben könnte¹⁾. In der Tat erhielt ich keine Abweichungen bei den verschiedenen Resultaten; auch konnte ich nicht die Beobachtung von Capogrossi (l. c.) bestätigen, daß ein anhaltendes Hin- und Herbewegen des Blutes während der Defibrinierung mittels Glasstückchen das Agglutinierungsvermögen des Serums erhöhen könne, da nach der Annahme von Klein²⁾ das anhaltende Schütteln die in den Erythrocyten enthaltenen agglutinierenden Substanzen in das Serum übergehen lasse.

Ich habe mich der Verdünnung des Serums als Kriterium bedient, um den Grad der Agglutinationskraft zu prüfen. Dadurch, daß ich zu 1 Vol. Serum 1, 2, 3 etc. Vol. isotonischer Kochsalzlösung hinzufügte, verdünnte ich nach Belieben und in bekanntem Maße das Serum, dessen Aktivität in dieser Weise in ihren Grenzen untersucht werden konnte.

Ergebnis der Versuche. — Ich fasse in einer Tabelle eine gewisse Anzahl von Versuchen zusammen; ich bemerke dabei, daß jeder Versuch mehrmals wiederholt wurde.

Sera	Autoagglutination	Isoagglutination	Heteroagglutination
a	+ Verdünnung 1:5	+ Verdünnung 1:3	+ Verdünnung 1:8
b	+ „ 1:3	+ „ 1:3	+ „ 1:8
c	—+ „ 1:2	—+ „ 1:2	+ „ 1:4
d	— „ 0	—+ „ 1:2	+ „ 1:6
e	+ „ 1:3	—+ „ 1:2	+ „ 1:6
f	— „ 0	+ „ 1:4	+ „ 1:10
g	+ „ 1:4	+ „ 1:4	+ „ 1:10
h	—+ „ 1:2	+ „ 1:3	+ „ 1:8

Anmerkung. Das Zeichen + bedeutet schnelle und intensive Agglutination; die Zeichen —+ bedeuten langsamere Agglutination; das Zeichen — bezeichnet diejenigen Fälle, in denen mir die Agglutinationserscheinungen zweifelhaft erschienen.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die untersuchten Sera in verschiedenem Grade Auto-, Iso- und Heteroagglutinine besitzen. Bei der Betrachtung der verschiedenen geprüften Verdünnungsgrade möchte ich bemerken, daß ich die geringsten Verdünnungen angeführt habe, in denen es gelang, soweit es bei den manchmal rasch auftretenden lytischen Erscheinungen noch möglich war, die Agglutination im eigentlichen Sinne des Wortes, d. h. ein schnelles und regelloses Zusammenhäufen von Blutkörperchen, zu entdecken.

1) Lo Monaco e Panichi, Riforma med. 1902. No. 32—35.

2) Klein, Wiener klin. Wochenschr. 1902—1903.

Die agglutinierenden Kräfte erhielten sich ganz oder fast ganz unverändert, auch nachdem das Serum einer halbstündigen Erwärmung auf 56° und länger als eine Woche der Temperatur der Umgebung und der Wirkung des Lichtes ausgesetzt war. Um diese Tatsache zu konstatieren, habe ich die auf der obigen Tabelle angegebenen Versuche mittels derselben Technik und Vorsicht wiederholt.

Die Feststellung des Autoagglutinationsvermögens erschien mir ein bemerkenswertes Moment. Aus der Untersuchung der Resultate, vor allem der Verdünnungsprobe, ist ersichtlich, daß die in den ersten Tagen der Affektion rasch und intensiv erfolgende Autoagglutination im weiteren Krankheitsverlaufe langsamer und weniger intensiv vor sich geht. Diese Tatsache läßt sich erklären, wenn man den Schluß berücksichtigt, zu dem Biffi¹⁾ bezüglich des normalen menschlichen Serums gelangt, daß nämlich in ein und demselben Serum das Agglutinationsvermögen in umgekehrtem Verhältnisse zum Grade der Agglutinierbarkeit der roten Blutkörperchen steht. Wenn daher in einem normalen Serum die Autoagglutination nicht möglich ist, wenigstens nicht in sichtbarem Maße, weil das Agglutinationsvermögen des Serums nicht dem Grade der Agglutinierbarkeit der roten Blutkörperchen entspricht, so ist es wahrscheinlich, daß die Autoagglutination in denjenigen Fällen möglich sein wird, in denen diese Beziehung alteriert ist, z. B. durch die rasche und reichliche Vermehrung von Agglutininen. Andererseits wird die Autoagglutination nicht möglich sein, wenn die Blutkörperchen auf die stärkere Produktion von Agglutininen mit einer Aenderung ihres Agglutinierbarkeitsvermögens antworten, und zwar besonders wenn eine stärkere Produktion von Agglutininen durch eine Antiagglutininproduktion aufgewogen werden wird. Jetzt kann dieser Verteidigungs-, sozusagen Autovaccinationsmechanismus in Aktion treten und in einer gegebenen Zeit Resultate ergeben. Infolgedessen kann das Serum sich in einer vorgerückten Periode der Krankheit weniger aktiv zeigen.

Die Existenz von Isoagglutininen ist nicht weniger zweifelhaft. Hinsichtlich dieser Frage habe ich untersuchen wollen, ob es bei den von mir geprüften Seris möglich wäre, irgend einen Schluß darauf zu ziehen, ob die isoagglutinierenden Substanzen in größerer Anzahl vorhanden sind und ein Selektionsvermögen den von verschiedenen Individuen herstammenden Erythrocyten gegenüber besitzen. Ich habe deshalb die Sera a, b und c an Erythrocyten von zwei Provenienzen, I und II, die Sera f, g und h an Erythrocyten von drei Provenienzen, IV, V und VI, geprüft, indem ich mich der allgemein gebräuchlichen Methode der selektiven Absorption (Ehrlich) bediente.

Die Experimente sind einfach; z. B.: auf eine große Menge Erythrocyten I läßt man ein, zwei und mehr Volumina von Serum a einwirken. Dieses Serum verbraucht seine eigene Agglutinationskraft bei einer im Ueberschusse hinzugesetzten Erythrocytenmenge; darauf trennt man es wieder; und während ein Teil des Serums sich in Kontakt mit neuen Erythrocyten I setzt, tritt ein anderer Teil in Kontakt mit Erythrocyten II. Wenn die selektive Absorption eingetreten ist, so werden die neuen Erythrocyten I nicht mehr agglutiniert, während die Erythrocyten II immer agglutiniert werden, wenn im Serum mehrere Arten von Agglutininen mit spezifischem Selektionsvermögen existieren.

Bei meinen Experimenten habe ich konstatiert, daß die Sera a, b

1) Biffi, Annali d'igiene sperim. Anno 1903. Fasc. 2.

und c nach Behandlung mit einem Ueberschusse von Erythrocyten I nicht mehr andere Proben von Erythrocyten I, sondern konstant die Proben von Erythrocyten II agglutinierten. Die Sera f, g und h waren nach Behandlung mit einem Ueberschusse von Erythrocyten IV nicht mehr für andere Proben von Erythrocyten IV empfänglich, agglutinierten indessen Erythrocyten V, waren aber wieder den Proben von Erythrocyten VI gegenüber inaktiv.

A priori kann man bei Berücksichtigung der vielen Berührungspunkte, welche die Hämooagglutinine mit den Bakterioagglutininen haben, vernünftigerweise annehmen, daß den erstgenannten auch das selektive, spezifische Vermögen der anderen eigen ist; in Wahrheit jedoch muß diese Frage, um als in gebührender Weise gelöst zu gelten, durch das Resultat der praktischen Versuche, entschieden werden. Vorderhand ist dieser Beweis in absoluter Weise noch nicht gegeben, auch nicht durch Beobachtung auf anderen Versuchsgebieten.

Während so z. B. auf der einen Seite Malkoff¹⁾ und Landsteiner²⁾ das Vorhandensein von mehreren Agglutininen im normalen Serum annehmen, nimmt andererseits Biffi (l. c.) im normalen und pathologischen menschlichen Serum die Existenz nur eines einzigen aktiven Agglutinins an, dem gegenüber die roten Blutkörperchen verschiedener Provenienz in verschiedener Weise empfänglich sind. Capogrossi (l. c.) kommt ferner zu dem Schlusse, daß bis jetzt noch nicht das Vorhandensein einer Mehrzahl von Isoagglutininen ganz entschieden ist.

Mir schien es interessant, diese Experimente weiter auszudehnen; und zwar habe ich dabei besonders die Erscheinungen der eigentlichen Agglutination und Geldrollenbildung der roten Blutkörperchen berücksichtigt, ferner die größere oder geringere Affinität zu Hämolysinen und Hämooagglutininen, und außerdem den Mechanismus der Hämooagglutination selbst; jedoch die knappe Zahl der Versuche und die Verschiedenheit der wenigen erhaltenen Resultate erlauben zur Zeit noch nicht, beachtenswerte Schlüsse zu ziehen.

3. Kryoskopie.

Im Gegensatze hierzu habe ich deutlich genug beobachten können, wie sich der Gefrierpunkt des Serums des tetanuskranken Pferdes verhält.

Die von den Beobachtern für das Serum des normalen Pferdes erhaltenen Resultate lauten:

$\Delta = -0,558$	(Bousquet)
$\Delta = -0,550-0,596$	(Hamburger, 1895)
$\Delta = -0,550-0,565$	(Winter, 1896)
$\Delta = -0,520-0,561$	(Gryns, 1896)
$\Delta = -0,544-0,589$	(Lazarus-Barlov, 1896)
$\Delta = -0,538$	(Rodin, 1899)

Diese Zahlen ergeben als Durchschnitt $\Delta = -0,555$.

Bei drei gesunden, jungen, in Ruhe befindlichen Pferden habe ich wenige Stunden nach dem Füttern gefunden:

1. Objekt $\Delta = -0,560$
2. „ $\Delta = -0,550$
3. „ $\Delta = -0,565$

und im Durchschnitt ungefähr $\Delta = -0,558$.

1) Malkoff, Dtsche med. Wochenschr. 1900. No. 14.

2) Landsteiner, Wiener klin. Wochenschr. 1901. No. 46.

Bei den tetanuskranken Pferden habe ich die folgenden Werte gefunden:

Serum a	$\Delta = -0,540$		Serum f	$\Delta = -0,545$
" c	$\Delta = -0,525$		" g	$\Delta = -0,535$
" d	$\Delta = -0,540$		" h	$\Delta = -0,530$
" e	$\Delta = -0,535$			
und im Durchschnitt $\Delta = -0,535$.				

Stellt man diesen Durchschnitt $\Delta = -0,535$ den von anderen Beobachtern und mir bei gesunden Pferden gefundenen Durchschnittswerten $\Delta = -0,555$ und $\Delta = -0,558$ gegenüber, so ergibt sich für das Serum des tetanuskranken Pferdes eine Differenz von ungefähr $-0,020$.

Dieses ist also dem normalen Serum gegenüber leicht hypotonisch. Dieser Schluß steht mit den Feststellungen anderer Beobachter in Einklang, nach deren Ansicht bei den akuten Affektionen, vorausgesetzt, daß keine Nierenveränderungen oder ein asphyktischer Zustand bestehen, das Serum sehr oft hypotonisch ist¹⁾. Andererseits scheint dies jedoch logisch nicht mit dem anderen Befunde übereinzustimmen, daß bei fieberhaften Krankheiten im Stadium der Dyspnoë und Asphyxie das Blut hypertonisch ist.

Koranyi²⁾ hat in der Tat gezeigt, daß das an Kohlensäure reiche Blut gegenüber dem in normaler Weise sauerstoffhaltigen leicht hypertonisch ist. Man kann jedoch einwenden, daß, wenn eben nicht der asphyktische Zustand und daher der Ueberschuß von im Blute gelöster Kohlensäure vorhanden gewesen wäre, dieses Blut aller Wahrscheinlichkeit nach vielleicht einen höheren Grad von Hypotonie gezeigt hätte, als ich es in Wirklichkeit hatte konstatieren können. Und man kann in der Tat annehmen, daß der Ueberschuß von im Blute gelöster Kohlensäure bei der fortschreitenden tetanischen Asphyxie nicht im stande ist, die Erniedrigung der molekularen Konzentration, die eine Folge der verschiedenen Erscheinungen des Krankheitsprozesses ist, ganz und gar auszugleichen.

Die von mir für Δ gefundenen Werte vermindern sich allmählich mit dem Fortschreiten der Krankheit, also mit der Verschlimmerung der Dyspnoë und des asphyktischen Zustandes.

Die Frage wird, in meinem Sinne behandelt, in einem sehr einfachen Experimente ihre Lösung finden: entfernt man nämlich mittels eines Sauerstoffstromes die im Tetanusblute gelöste Kohlensäure, so wird man die möglichen Variationen im Verhalten von Δ konstatieren können.

Turin, Mai 1905.

1) cfr. Widal, Lesnè und andere Autoren, zit. in *Traité de pathologie générale*, Bouchard. T. VI.

2) Koranyi, *Arch. f. klin. Med.* 1900. p. 424.

Nachdruck verboten.

Recherches expérimentales sur la rage des rats avec observations sur la rage du surmulot, de la souris et du mulot
[Institut d'Hygiène expérimentale et de parasitologie de l'Université de Lausanne.]

1^{er} mémoire.Par **Bruno Galli-Valerio.**

Avec 2 figures.

(Schluß.)

Exp. 21: 27 II. 10^h 1/2 matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 29 (Exp. 13), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 43: 3 III. Ne mange pas. A moitié paralysé le matin. Complètement paralysé dans l'après-midi. 4 III. Mort à 8^h du matin.

Exp. 22: 27 II. 05. 10^h 1/2 matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 31 (Exp. 14), inoculé dans le cerveau:

Le surmulot No. 44: 4 III. Se tient arquebouté. Stimulé il s'agite, mais il ne mord pas. Le train postérieur est complètement paralysé. Couché sur le flanc à 3^h 1/2. Mort entre 6 et 8^h du soir (voir Exp. 25).

Exp. 23: 1^{er} III. 05. 9^h 1/2 matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 36 (Exp. 18), inoculé:

Dans le cerveau:

Le rat blanc No. 45: 6 III. Excité. Stimulé, se dresse sur les pattes postérieures et cherche à se défendre. Dans l'après-midi il se lance contre une tige métallique qu'on lui présente, mais il ne peut pas la mordre. Mouvements très incoordonnés. 7 III. Couché sur le flanc. Essaye encore de mordre la tige métallique sans pouvoir. 8 III. Respire à peine. 9 III. Mort la nuit du 8 au 9.

Le cobaye No. 10 (déjà inoculé dans le cerveau avec émulsion cerveau de 2 foetus de rat blanc le 23 I. 05 [Exp. 4]): 5 III. Ne mange pas. Regard hagard. 6 III. Marche en trébuchant. Ne mord pas. 7. III. Mort la nuit du 6 au 7.

La souris grise No. 46: 6 III. Ne mange pas. Parèse dans l'après-midi. 7 III. Paralysie. Morte dans la journée.

Exp. 24: 2 III. 05. 9^h 1/2 matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 35 (Exp. 17), inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat noir No. 47: 7 III. Ne mange pas. 8 III. Démarche incoordonnée. Tombe sur le flanc et il a de la peine à se redresser. Ne mord pas. 9 III. Mort la nuit du 8 au 9 (voir Exp. 27).

b) Dans l'œil:

La souris grise No. 48: 8 III. A demi paralysée. Ne mange pas. Ne mord pas. 9 III. Complètement paralysée. Morte dans la matinée (voir Exp. 28).

Exp. 25: 6 III. 05. 9^h 1/2 matin. Avec émulsion moelle allongée du surmulot No. 44 (Exp. 22), inoculé dans le cerveau:

Le surmulot No. 49: 10 III. Après-midi, regard hagard. Ne mord pas. 11 III. Mouvements incoordonnés. Ne mord pas. Paralysé

après-midi. Couché sur le flanc. 12 III. Paralysé. Mort après-midi (voir Exp. 30).

Exp. 26: 6 III. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 26 (Exp. 11), inoculé dans la chambre antérieure de l'œil:

Le cobaye No. 50: Ce cobaye n'a présenté aucun trouble morbide et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 34).

Exp. 27: 9 III. 05. 9^h 1/2 matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 47 (Exp. 24), inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat noir No. 30 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée du rat blanc No. 23 dans le sciatique [Exp. 13]): Ce rat n'a présenté aucun trouble morbide, et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 38, Exp. 51).

Le cobaye No. 51: 12 III. Ne mange pas. 13 III. Démarche chancelante le matin. Paralysé après-midi. 14 III. Mort la nuit du 13 au 14.

b) Dans le sciatique:

Le rat noir No. 52: Ce rat n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 38, 51).

Avec émulsion des capsules surrénales du rat noir No. 47, inoculé dans le cerveau:

Le cobaye No. 53: Ce cobaye n'a présenté aucun trouble morbide, et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 34).

Avec émulsion des testicules du rat noir No. 47, inoculé dans le cerveau:

Le cobaye No. 54: Ce cobaye n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 34).

Avec le sang du cœur du rat noir No. 47, inoculé:

a) Dans d'abdomen:

Le rat blanc No. 55

Le rat blanc No. 56

Le cobaye No. 57

b) Sous la peau:

Le rat blanc No. 58

Le rat blanc No. 59

Le rat blanc No. 60

Le cobaye No. 61

Le lapin No. 62

Aucun de ces animaux n'a contracté la rage, et les No. 55, 58, 61, 62 ont été ultérieurement inoculés (Exp. 39, Exp. 43, Exp. 44).

Exp. 28: Avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 48 (Exp. 24), inoculé:

a) Dans l'œil:

La souris grise No. 63: 27 III. Ne mange pas. Paralysée après-midi. 28 III. Morte la nuit du 27 au 28 (voir Exp. 35).

b) Dans les muscles de la cuisse:

La souris grise No. 64: 18 III. Ne mange pas. Paralysée. Ne mord pas. Morte le soir (voir Exp. 33).

c) Dans le cerveau:

Le cobaye No. 65: 13 III. Ne mange pas. Démarche chancelante. Ne mord pas. 14 III. Mort la nuit du 13 au 14.

Exp. 29: 14 III. 9^h matin. Tué *Rana temporaria* No. 41, inoculée le 28 II. 05 (Exp. 19) et avec émulsion du cerveau, inoculé dans le cerveau:

Le cobaye No. 66: 17 III. Très excité, mais il ne mord pas. Convulsions épileptiformes. 18 III. Idem. 19 III. Idem. Mort dans la matinée. Pas de rage, comme les Exp. No. 31 et 38 ont démontré.

Exp. 30: 13 III. 9^h 1/2 matin. Avec émulsion moelle allongée du surmulot No. 49 (Exp. 25), inoculé dans le cerveau :

Le rat noir No. 67: 18 III. Mouvements incoordonnés. Ne mord pas. 19 III. Paralysé. Mort le soir (voir Exp. 32).

Le rat noir No. 37 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 27 dans l'œil le 23 II. 05 [Exp. 18]): 18 III. Mouvements incoordonnés. Ne mord pas. 19 III. Paralysé complètement. Mort le soir.

Le rat blanc No. 22 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 16 dans les muscles le 7 II. [Exp. 10] avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 33 dans le cerveau le 28 II. 05 [Exp. 19]): Ce rat n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 34, 38, 62).

Le lapin No. 17 (déjà inoculé avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires du rat noir No. 12 dans le cerveau le 31 I. 05 [Exp. 7]): 18 III. Tremblement de la tête. 19 III. Demi-paralysé. Ne mord pas. 20 III. Complètement paralysé. Mort à midi.

Avec émulsion de la glande thyroïde du surmulot No. 49, inoculé dans le cerveau :

Le cobaye No. 68: Ce cobaye n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 34).

Exp. 31: 20 III. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du cobaye No. 66 (Exp. 29), inoculé dans le cerveau :

Le rat noir No. 69: Ce rat n'a présenté aucun trouble morbide et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 38).

Exp. 32: 20 III. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 67 (Exp. 29), inoculé dans le cerveau :

Le rat noir No. 70: 24 III. Ne mange pas. 25 III. Paralysé. Ne mord pas. 26 III. Mort dans la matinée (voir Exp. 34).

Exp. 33: 20 III. 05. Avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 64 (Exp. 28), inoculé :

a) Dans le cerveau (2^h après-midi):

Le rat noir No. 71: 27 III. Demi-paralysé. 28 III. Complètement paralysé. Couché sur le flanc. 29 III. Mort la nuit du 28 au 29.

b) Dans les muscles (10^h matin):

La souris grise No. 72: 29 III. Triste. Difficulté à marcher. 30 III. Complètement paralysée. Morte à 6^h après-midi (voir Exp. 36).

Exp. 34: 27 III. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 70 (Exp. 32), inoculé dans le cerveau :

Le rat noir No. 73: 1^{er} IV. A demi-paralysé. 2 IV. Paralysé complètement. Mort le soir.

Le rat blanc No. 22 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 16 dans les muscles le 7 II. 05 [Exp. 10], avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 33 dans le cerveau le 28 II. 05 [Exp. 19], avec émulsion moelle allongée du surmulot No. 49 dans le cerveau le 13 III. 05 [Exp. 30]): Ce rat n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 38, 51, 62).

Le cobaye No. 68 (déjà inoculé avec émulsion thyroïde du surmulot No. 49 dans le cerveau le 13 III. 05 [Exp. 30]): Mort immédiatement après l'opération.

Le cobaye No. 50 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 26 dans l'œil le 6 III. 05 [Exp. 26]): 31 III. Démarche chancelante. Ne mange pas. 1^{er} IV. Paralysé. 2 IV. Mort le matin.

Le cobaye No. 54 (déjà inoculé avec émulsion des testicules du rat noir No. 47 dans le cerveau le 9 III. 05 (Exp. 27). 31 III. Démarche chancelante. 1^{er} IV. Paralysé. 2 IV. Mort le matin.

Le cobaye No. 53 (déjà inoculé avec émulsion des capsules surrénales du rat noir No. 47 dans le cerveau le 9 III. 05 [Exp. 27]): 31 III. A moitié paralysé. 1^{er} IV. Paralysé. 2 IV. Mort le matin.

Exp. 35: 29 III. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 63 (Exp. 28), inoculée dans l'œil:

La souris grise No. 74: Cette souris n'a pas présenté de troubles morbides, et elle a été ultérieurement inoculée (Exp. 45).

Exp. 36: 31 III. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 72, inoculé dans les muscles:

La souris grise No. 75: Cette souris n'a pas présenté de troubles morbides et elle a été ultérieurement inoculé (Exp. 45, Exp. 62).

II. Expériences avec le virus des rues.

Ces expériences peuvent être divisées en deux séries: Dans une première série, les inoculations ont été faites avec du virus des rues (moelle allongée en glycérine) envoyé par M. le Directeur de l'Institut antirabique de Milan, dans une 2^e, avec du virus des rues (moelle allongée de chien en glycérine) envoyé par M. le Prof. Celli, directeur de l'Institut d'Hygiène de l'Université de Rome. Aux deux aimables collègues, j'adresse ici mes meilleurs remerciements.

1^{ère} série. Virus des rues de Milan.

Exp. 37: 21 III. 05. 5^h 1/2 après-midi. Avec émulsion moelle allongée reçue de Milan, inoculé dans le cerveau:

Le lapin No. 76: 3 IV. Généré dans les mouvements. 4 IV. Triste, incoordination. 5 IV. Reste couché sur son ventre, avec tremblement de la tête. Paralysé. 6 IV. Mort la nuit du 5 au 6 (voir Exp. 38).

Exp. 38: 6 IV. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du lapin No. 76 (Exp. 37), inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat noir No. 77: 20 IV. Très agité ce matin. Il crie presque continuellement. Il court dans le bocal, les pattes antérieures et postérieures tendues, la queue droite, et il tombe sur un côté. Il mord furieusement une tige métallique qu'on lui présente. On lui introduit dans le bocal la souris grise No. 79, et il la mord furieusement en lui arrachant la peau près de l'oreille. (Cette souris est fort excité le 12 VI. Elle mord une tige métallique qu'on lui présente. Paralysée le 13 juin. Morte le soir.) Mort à midi (voir Exp. 39).

Le rat blanc No. 22 (déjà inoculé avec virus fixe: avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 16 dans les muscles le 7 II. 05 [Exp. 10], du rat noir No. 33 dans le cerveau le 28 II. 05 [Exp. 19], du surmulot No. 49 dans le cerveau le 13 III. 05 [Exp. 30], du rat noir No. 70 dans le cerveau le 27 III. 05 [Exp. 34]): Ce rat n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 51, 62).

Le rat noir No. 30 (déjà inoculé avec virus fixe: avec émulsion moelle allongée du rat blanc No. 23 dans le sciatique le 17 II. 05 [Exp. 13], du rat noir No. 47 dans le cerveau le 9 III. 05 [Exp. 27]): Ce rat n'a présenté aucun trouble morbide et il a été inoculé ultérieurement (Exp. 51).

Le rat noir No. 69 (déjà inoculé avec virus fixe: avec émulsion moelle allongée du cobaye No. 66 dans le cerveau le 20 III. 05 [Exp. 31]):

20 IV. Agité. Ne mord pas. 21 IV. Mouvements très incoordonnés. Mord une tige en fer qu'on lui présente. 22 IV. Paralysé. Mort à midi (voir Exp. 40).
b) Dans l'œil :

Le rat noir No. 52 (déjà inoculé avec virus fixe : avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 47 dans le sciatique le 9 II. 05 [Exp. 27]) : Ce rat n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 51).

c) Dans les muscles de la cuisse :

Le rat noir No. 78 : Ce rat n'a rien présenté, et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 51, 62, 66).

Exp. 39 : 20 IV. 05. 3^h après-midi. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 77 (Exp. 38), inoculé dans le cerveau :

Le rat blanc No. 55 (déjà inoculé dans l'abdomen avec sang [virus fixe] du rat noir No. 47 le 9 III. 05 [Exp. 27]) : 3 V. Triste. Ne mange pas. Paralysé le soir. 4 V. Mort la nuit du 3 au 4.

Exp. 40 : 22 IV. 05. 3^h après midi. Avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires du rat noir No. 69 (Exp. 38), inoculé dans l'œil :

Le rat blanc No. 80 : 14 VI. Ne mange pas. A demi-paralysé. Paralysé complètement le soir. 15 VI. Mort la nuit du 14 au 15.

2^e série. Virus des rues de Rome.

Exp. 41 : 27 III. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée reçue de Rome, inoculé dans le cerveau :

Le lapin No. 81 : 7 IV. Ne mange pas. 8 IV. Paralysé. 9 IV. Mort la nuit du 8 au 9 (voir Exp. 42).

Exp. 42 : 10 IV. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du lapin No. 81 (Exp. 41), inoculé :

a) Dans le cerveau :

Le rat noir No. 82 : 19 IV. Très agité. Incoordination des mouvements. Il crie. Court dans le bocal, les pattes tendues, la queue raide, droite. Se lance sur une tige métallique qu'on lui présente et la mord. 20 IV. Mort la nuit du 19 au 20 (voir Exp. 43).

b) Dans l'œil :

La souris grise No. 83 : 20 IV. Très agitée ce matin. Court dans le bocal et retombe. Elle ne mord pas une tige métallique qu'on lui présente, mais elle mord furieusement une souris grise qu'on place dans le bocal et qui succombe quelques heures après. 21 IV. Très agitée. Court et retombe. Morte tout à coup à 4^h après-midi (voir Exp. 44).

c) Dans les muscles de la cuisse :

La souris grise No. 84 : 22 IV. Très agitée. Mord furieusement une tige de fer qu'on lui présente. 23 IV. Idem. 24 IV. Idem. 25 IV. Morte tout à coup la nuit du 24 au 25 (voir Exp. 45).

Exp. 43 : 20 IV. 05. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 82 (Exp. 42), inoculé :

a) Dans le cerveau :

Le rat noir No. 85 : 27 IV. Très agité. Crie et saute dans le bocal. Mord la tige métallique qu'on lui présente. A 2^h après-midi il mord furieusement à la tête, la faisant saigner, la souris grise No. 89 (cette souris est très excitée le 3 VII. matin. Elle mord une pince qu'on lui présente. Paralysée le soir. Morte la nuit du 3 au 4 VII). 28 IV. Mort la nuit du 27 au 28 (voir Exp. 47).

Le surmulot No. 86 : 28 IV. Le matin, mouvements incoordonnés. Très agité après-midi, mais ne mord pas. 29 IV. Mort la nuit du 28 au 29 (voir Exp. 48).

Le mulot No. 87: 1^{er} V. Très agité. Saute dans le vase. Ne mord pas la tige en fer qu'on lui présente. 2 V. Mort tout à coup ce matin (voir Exp. 50).

Avec émulsion d'une glande salivaire sous-maxillaire du rat noir No. 82, inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat blanc No. 58 (déjà inoculé sous la peau avec sang [virus fixe] du rat noir No. 47 le 9 III. 05 [Exp. 27]): 26 IV. Mort tout à coup la nuit du 25 au 26 (méningite bactérienne, [voir Exp. 46]).

b) Dans l'œil:

La souris grise No. 88: Cette souris n'a point présenté de troubles morbides et elle a été ultérieurement inoculée (Exp. 62).

Exp. 44: 21 IV. 5^h après-midi. Avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 83 (Exp. 42), inoculé dans le cerveau:

Le cobaye No. 61 (déjà inoculé avec sang du cœur [virus fixe] du rat noir No. 47 sous le peau le 9 III. 05 [Exp. 27]): 27 IV. Ne mange pas. 28 IV. Tremblement. Mouvements incoordonnés. Ne mord pas. 29 IV. Mort la nuit du 28 au 29 (voir Exp. 49).

Avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires de la souris grise No. 83, inoculé dans l'œil:

Le lapin No. 62 (déjà inoculé avec sang du cœur [virus fixe] du rat noir No. 47 sous la peau le 9 III. 05 [Exp. 27]): 1^{er} V. Tremblement de la tête. Incoordination des mouvements. Ne mord pas. 2 V. Mort la nuit du 1 au 2.

Exp. 45: 25 IV. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 84 (Exp. 42), inoculé dans l'œil:

La souris grise No. 74 (déjà inoculée avec émulsion moelle allongée [virus fixe] de la souris grise No. 63 dans l'œil le 29 III. 05 [Exp. 35]): 7 V. Triste. Ne mange pas. Démarche incertaine. Ne mord pas. 8 V. Paralysée. Morte dans l'après-midi (voir Exp. 53).

Avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires de la souris grise No. 84, inoculé dans l'œil:

La souris grise No. 75 (déjà inoculée avec émulsion moelle allongée [virus fixe] de la souris grise No. 72 dans les muscles le 31 III. 05 [Exp. 36]): Cette souris n'a pas présenté de troubles morbides, et elle a été ultérieurement inoculé (Exp. 62).

Exp. 46: 26 IV. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 58 (Exp. 43), inoculé dans l'œil:

La souris grise No. 90: Cette souris n'a point présenté de troubles morbides, et elle a été ultérieurement inoculée (Exp. 62).

Exp. 47: 28 IV. 05. 10^h matin. Avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires du rat noir No. 85 (Exp. 43), inoculé dans l'œil:

Le rat noir No. 91: Ce rat n'a point présenté de troubles morbides et il a été ultérieurement inoculée (Exp. 62).

Avec émulsion d'une capsule surrénale du rat noir No. 85, inoculé dans l'œil:

Le rat noir No. 92: 12 V. Très agité ce matin. Saute dans le bocal et crie dès qu'on s'approche. Queue droite. Il mord une tige en fer qu'on lui présente. Après-midi excitation plus grande. Cri plus persistant. 13 V. Idem. 14 V. Mort tout à coup le matin du 14.

Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 85, inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat noir No. 93: 4 V. Très agité ce matin. Court avec le queue droite et se dresse dans le bocal. Il crie dès qu'on s'approche et se lance contre les parois du bocal pour mordre. 5 V. Idem. Mouvements incoordonnés. 6 V. Mort la nuit du 5 au 6 V. (voir Exp. 51).

Triton cristatus No. 94

Triton cristatus No. 95

Triton alpestris No. 96

Hyla arborea No. 97

Lacerta muralis No. 98

Lacerta stirpium No. 99

Aucun de ces animaux n'a présenté de troubles morbides et ils vivent encore aujourd'hui.

b) Dans les muscles de la cuisse:

Le rat noir No. 100: 5 V. Très agité le soir. Crie et se lance pour mordre. 6 V. Mouvements incoordonnés. Reste couché sur le flanc. Mort le soir.

Exp. 48: 29 IV. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du surmulot No. 86 (Exp. 43), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 101: 6 V. Furieux le matin. Court la queue droite en criant, et il se lance pour mordre. 7 V. Paralysé. Mort le soir (voir Exp. 52).

Exp. 49. 29 IV. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du cobaye No. 61 (Exp. 44), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 102: 6 V. Furieux. Se lance pour mordre en criant. 7 V. Idem. Mort tout à coup le soir.

Exp. 50: 2 V. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du mulot No. 87 (Exp. 43), inoculée dans le cerveau:

Le rat noir No 103: 8 V. Très agité le matin. Se lance pour mordre. 9 V. Mort la nuit du 8 au 9.

Avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires du mulot No. 87, inoculé dans l'œil:

Le rat noir No. 104: 9 V. Très agité. Se lance pour mordre. Met bas des petits quelle tue. 10 V. Toujours agité. Crie et essaye de mordre. 11 V. Paralysée. Mort le matin.

Exp. 51: 6 V. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 93 (Exp. 47), inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat noir No. 105: 13 V. Furieux. Mord une tige en fer qu'on lui présente. Crie. 14 V. Mort tout à coup le matin.

Le rat noir No. 52 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée virus fixe] du rat noir No. 47 dans le sciatique le 9 III. 05 [Exp. 27] et avec émulsion moelle allongée [virus des rues de Milan] du cobaye No. 76 dans l'œil le 6 IV. 05 [Exp. 38]).

Le rat noir No. 30 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée [virus fixe] du rat blanc No. 23 dans le sciatique le 17 II. 05 [Exp. 13], avec émulsion moelle allongée [virus fixe] du rat noir No. 47 dans le cerveau le 9 III. 05 [Exp. 27], avec émulsion moelle allongée [virus des rues de Milan] du lapin No. 76 dans le cerveau le 6 IV. 05 [Exp. 38]): 20 V. Agité. Mouvements incoordonnés. Tend à se cacher dans la tourbe, mais si on lui approche une tige en fer, il la mord. 21 V. Idem. 22 V. Idem. 23 V. Paralysé. Couché sur un flanc. Excité il s'agite un peu. 24 V. Idem. Mouvements plus accentués. 25 V. Se redresse. Mouvements incoordonnés. Agité. 26 V. Idem. 27 V. Agité. Essaye de marcher et il retombe. Ne mord pas. Mange un petit morceau de pain. Il reste dans le même état jusqu'au 13 VI. Il se remonte alors petit à petit et

reprend son état normal. Mort la nuit du 3 au 14 août sans présenter des symptômes de rage.

Le rat noir No. 78 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée [virus des rues de Milan] du lapin No. 76 dans les muscles de la cuisse le 6 IV. 05 [Exp. 38]): Ce rat n'a point présenté de troubles morbides et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 62. 66).

Le rat blanc No. 22 (déjà inoculé avec virus fixe: émulsion moelle allongée du rat noir No. 16 dans le cerveau le 7 II. 05 [Exp. 10], du rat noir No. 33 dans le cerveau le 28 II. 05 [Exp. 19], du rat noir No. 70 dans le cerveau le 27 III. 05 [Exp. 34], avec virus des rues de Milan, émulsion moelle allongée du lapin No. 76 le 6 IV. 05 [Exp. 38]): Ce rat n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 62).

Avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires du rat noir No. 93, inoculé dans l'œil:

Le rat noir No. 106: Ce rat n'a pas présenté de troubles morbides et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 62).

Exp. 52: 8 V. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 101 (Exp. 48) inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 107: 13 V. Ne mange pas. 14 V. Triste. A demi-paralysé ce matin. 15 V. Paralysé complètement et mort le matin (voir Exp. 57).

Avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires du rat noir No. 101, inoculé dans l'œil:

Le rat noir No. 108: Ce rat n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 62).

Avec le sang du cœur du rat noir No. 101, inoculé dans l'œil:

Le surmulot jeune No. 109: 17 V. Excité. Court dans le bocal, mais il ne mord pas. 18 II. Paralysé le matin. Mort dans l'après-midi (voir Exp. 59).

Exp. 53: 8 V. 05. 3^h après-midi. Avec émulsion moelle allongée de la souris grise No. 74 (Exp. 45), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 110: 15 V. Excité le matin. Se lance pour mordre. Après-midi il reste couché sur un flanc. 16 V. Mort la nuit du 15 au 16 (voir Exp. 56).

Exp. 54: 9 V. 05. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 87 (Exp. 43), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 111: 16 V. Triste. Ne mange pas. Le soir il est à demi-paralysé. 17 V. Mort la nuit du 16 au 17 (voir Exp. 58).

Exp. 55: 15 V. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 105 (Exp. 51), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 112: 20 V. Excité le matin. Ne mord pas. 21 V. Paralysé. 22 V. Mort la nuit du 21 au 22 (voir Exp. 60).

Avec la raclage de la muqueuse buccale du rat noir No. 105, inoculé dans l'œil:

Le rat noir No. 113: 14 VI. Triste. Démarche chancelante. 15 VI. Paralysé. Reste couché sur le flanc. 16 VI. Paralysé. Respire à peine. Mort l'après-midi.

Exp. 56: 16 V. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 110 (Exp. 53), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir jeune No. 114: 22 V. Ne mange pas. Paralysé. 23 V. Mort le matin.

Exp. 57: 15 V. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 107 (Exp. 52), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 115: 19 V. Agité le soir. 20. Il crie et se lance pour mordre. Après-midi est encore plus excité. Si on touche le bocal, il se lance contre les parois, la queue droite, les pattes raides, en criant. 21 V. Paralysé. 22 V. Mort la nuit du 21 au 22 (voir Exp. 61).

Avec émulsion testicules du rat noir No. 107, inoculé dans l'œil:

Le rat noir No. 116: 27 V. Très excité ce matin. Il court dans la cage, la queue droite, en criant. Les mouvements sont incoordonnés. Le plus léger bruit le rend furieux. Il se lance et mord la tige en fer qu'on lui présente. 28 V. Idem. 29. V. Mort tout à coup ce matin.

Exp. 58. 17 V. 05. 3^h après-midi. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 111 (Exp. 53), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 117: 21 V. Ne mange pas. 22 V. Très agité. Mouvements incoordonnés. Crie et se lance pour mordre. 23 V. Paralysé. Couché sur le flanc. Mort à 2^h après-midi.

Exp. 59: 19 V. 05. 10^h matin. Avec émulsion moelle allongée du surmulot No. 109 (Exp. 52), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 118: 13 VI. Ne mange pas. 14 VI. Parèse le matin, paralysie après-midi. 15 VI. Mort la nuit du 14 au 15 VI.

Exp. 60: 22 V. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 112 (Exp. 55), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 119: 26 V. Un peu excité ce matin. Le plus léger bruit le fait sauter dans son bocal. 27 V. Très excité. Crie et se lance pour mordre. 28 V. Idem. 29 V. Idem. 30 V. Mort la nuit du 29 au 30 (voir Exp. 63).

Exp. 61: 22 V. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 115 (Exp. 57), inoculé dans le cerveau:

Le surmulot No. 120: 26 V. Excité ce matin. Le plus léger bruit le fait sauter dans son bocal. 27 V. Idem. Il ne mord pas. 28 V. Paralysé. 29 V. Mort le matin (voir Exp. 62).

Exp. 62: 29 V. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du surmulot No. 120 (Exp. 61), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 121: 4 VI. Excité. 5 VI. Furieux. Crie et se lance pour mordre. Mort tout à coup à 1^h après-midi (voir Exp. 65).

Le rat noir No. 108 (déjà inoculé avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires [virus des rues de Rome] du rat noir No. 101 dans l'œil le 8 V. 05 [Exp. 52]: 3 VI. Excité le soir, mais il ne mord pas. 4 VI. Paralysé. 5 VI. Mort dans la matinée.

Le rat noir No. 106 (déjà inoculé avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires [virus des rues de Rome] du rat noir No. 93 dans l'œil le 6 V. 05 [Exp. 51]): 3 VI. Très excité ce soir. Il se lance pour mordre. 4 VI. Paralysé. 5. VI. Mort ce matin.

Le rat noir No. 78 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée [virus des rues de Milan] du lapin No. 76 dans les muscles de la cuisse le 6 IV. 05 [Exp. 38] et avec émulsion moelle allongée [virus des rues de Rome] du rat noir No. 93 dans le cerveau le 6 V. 05 [Exp. 51]): Ce rat n'a rien présenté et il a été ultérieurement inoculé (Exp. 66).

Le rat blanc No. 22 (déjà inoculé avec virus fixe: émulsion moelle allongée du rat noir No. 16 dans les muscles le 7 II. 05 [Exp. 10], du rat noir No. 33 dans le cerveau le 28 II. 05 [Exp. 19], du surmulot No. 49 dans le cerveau le 13 III. 05 [Exp. 30], du rat noir No. 70 dans le cerveau le 27 III. 05 [Exp. 34]. Avec virus des rues de Rome: émulsion moelle allongée du rat noir No. 93 dans le cerveau le 6 V. 05 [Exp. 51]): Ce rat n'a présenté aucun trouble morbide et il vit encore aujourd'hui.

Le rat noir No. 91 (déjà inoculé avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires [virus des rues de Rome] du rat noir No. 85 le 28 IV. 05 [Exp. 47]): 4 VI. Excité. 5 VI. Furieux. Crie et mord. Mort tout à coup à 3^h après-midi.

La souris grise No. 88 (déjà inoculée avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires [virus des rues de Rome] du rat noir No. 82 dans l'œil le 20 IV. 05 [Exp. 43]): Morte immédiatement après l'opération.

La souris grise No. 90 (déjà inoculée avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 58 [virus des rues de Rome] le 26 IV. 05 [Exp. 46]): Morte immédiatement après l'opération.

La souris grise No. 75 (déjà inoculée avec émulsion glandes salivaires sous-maxillaires [virus des rues de Rome] de la souris grise No. 84 le 25 IV. 05 [Exp. 45]. Avec émulsion moelle allongée [virus fixe] de la souris No. 72 dans les muscles le 31 III. 05 [Exp. 36]): Morte immédiatement après l'opération.

Exp. 63: 30 V. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 119 (Exp. 60), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 122: 3 VI. Agité ce matin. 4 VI. Furieux. Se lance pour mordre. 5 VI. Crie et mord les objets qu'on lui présente. Court dans le bocal, la queue droite. 6 VI. Mort la nuit du 5 au 6 (voir Exp. 64).

Exp. 64: 6 VI. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 122 (Exp. 63), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 123: 12 VI. Très excité ce matin. Court la queue droite. Mouvements incoordonnés. 13 VI. Presque complètement paralysé. 14 VI. Complètement paralysé. Couché sur le flanc. Respire à peine. Mort à 1^h après midi (voir Exp. 66).

Le lapin No. 124: 13 VI. Ce matin tremblement de la tête. Mouvements incoordonnés. 14 VI. Complètement paralysé. Mort à 6^h après-midi.

Exp. 65: 5 VI. 3^h après-midi. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 121 (Exp. 62), inoculé:

a) Dans le cerveau:

Le rat noir No. 125: 10 VI. Excité, mais il ne mord pas. 11 VI. Paralysé. Mort le soir.

b) Dans les muscles de la cuisse:

La souris grise No. 126: 14 VI. Agitée. 15 VI. Très agitée, mais elle ne mord pas. Paralysée le soir. 16 VI. Morte la nuit du 15 au 16.

Exp. 66: 15 VI. 3^h après-midi. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 123 (Exp. 64), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 127: 19 VI. Triste. Ne mange pas. 20 VI. Paralysé. Mort dans la soirée (voir Exp. 67).

Le cobaye No. 128: 20 VI. Excité, mais il ne mord pas. 21 VI. Très excité. Court et retombe. Se lance sur les obstacles, mais il ne les mord pas. Mort tout à coup à 3^h après-midi.

Exp. 67: 20 VI. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du rat noir No. 127 (Exp. 66), inoculé dans le cerveau:

Le rat noir No. 78 (déjà inoculé avec émulsion moelle allongée [virus des rues de Milan] du lapin No. 76 dans les muscles de la cuisse le 6 IV. 05 [Exp. 38], avec émulsion moelle allongée [virus des rues de Rome] du rat noir No. 93 dans le cerveau le 6 V. 05 [Exp. 51], avec émulsion moelle allongée [virus des rues de Rome] du surmulot No. 120 le 29 V. 05 [Exp. 62]): 28 VI. Ne mange pas. 29 VI. Couché sur le flanc le matin. Demi-paralysé. Excité. Ne mord pas. 30 VI. Mort la nuit du 29 au 30.

Le surmulot No. 129: 24 VI. Triste. Ne mange pas. 25 VI. Agité, mais il ne mord pas. Paralysé après-midi. 26 VI. Mort la nuit du 25 au 26 (voir Exp. 68).

Exp. 68: 26 VI. 05. 9^h matin. Avec émulsion moelle allongée du surmulot No. 129 (Exp. 67), inoculé dans le cerveau:

Le surmulot No. 130: 30 VI. Très excité ce matin. Il se lance contre un fil de fer pour mordre. 1^{er} VII. Toujours excité. 2 VII. Idem. 3 VII. Idem. 4 VII. Moins excité. 5 VII. Paralysé le matin. Mort l'après-midi.

Résumé général.

Si nous jétons un coup d'œil sur la série d'expériences que je viens d'exposer, expériences pour lesquelles ont été employés 134 animaux, c'est à dire:

9 Lapins,	4 <i>Triton cristatus</i> ,
11 Cobayes,	3 <i>Triton alpestris</i> ,
7 <i>Mus decumanus</i> ,	2 <i>Rana temporaria</i> ,
60 <i>Mus rattus</i> ,	1 <i>Rana esculenta</i> ,
14 Rats blancs,	1 <i>Hyla arborea</i> ,
2 <i>Mus sylvaticus</i> ,	1 <i>Lacerta muralis</i> ,
18 <i>Mus musculus</i> ,	1 <i>Lacerta stirpium</i> ,

nous pouvons tirer les conclusions suivantes:

1° *Mus decumanus*, *Mus rattus*, rat blanc, *Mus sylvaticus* et *Mus musculus*, inoculés avec virus fixe, ont, en général, présenté une rage paralytique d'emblé, sans aucune tendance à mordre. Ils cessaient de manger, présentaient de la parésie, de la paralysie, restaient couchés sur le flanc et succombaient. Seulement dans l'expérience 8, le rat blanc No. 18, dans l'exp. 9 les *Mus rattus* No. 19 et 20, dans l'exp. 11 le rat blanc No. 23, dans l'exp. 23 le rat blanc No. 45 ont présenté de l'excitation et quelques-uns de ces animaux se lançaient pour mordre, tout en étant dans l'impossibilité de la faire.

2° La rage à virus fixe a pu être déterminée chez ces animaux par inoculation intracérébrale, dans la chambre antérieure de l'œil, dans les muscles, mais tandis que l'inoculation intracérébrale a toujours réussi. les deux autres ont donné des échecs. Deux inoculations dans le sciatique (Exp. 12, *Mus rattus* No. 30 et Exp. 27, *Mus rattus* No. 52) ont échoué.

3° Parmi les animaux qui ont résisté à l'inoculation par l'une des voies sus-indiquées, il y en a qui ont présenté un degré plus ou moins élevé de résistance aux inoculations intracérébrales successives, soit de virus fixe, soit de virus des rues. Les exemples les plus frappants sont le rat blanc No. 22 (Exp. 10) inoculé une première fois négativement dans les muscles et qui a ensuite résisté à 6 inoculations de virus fixe et de virus des rues dans le cerveau et vit encore aujourd'hui, et le rat noir No. 30 (Exp. 13), inoculé une première fois négativement dans le sciatique et successivement trois fois dans le cerveau, de virus fixe et virus des rues et qui a présenté une forme de rage à évolution lente, terminée par guérison spontanée (Exp. 51).

4° Le matériel provenant des muridés sus-indiqués, qui a pu servir à transmettre la rage à virus fixe a été: La moelle allongée et dans un cas les glandes salivaires sous-maxillaires d'un rat noir (Exp. 11). Ont donné des résultats négatifs: L'émulsion de moelle allongée filtrée sur bougie Silberschmidt (Exp. 3), l'émulsion du cerveau de 2 foetus

trouvés dans l'utérus d'un rat blanc [Exp. 4] ¹⁾, les glandes salivaires d'un rat noir (Exp. 7), la thyroïde d'un surmulot (Exp. 30), les capsules surrénales et les testicules d'un rat noir (Exp. 27), le sang d'un rat noir (Exp. 27).

5° L'inoculation dans l'œil de l'émulsion de moelle allongée du rat blanc (Exp. 10) et du rat noir (Exp. 19), morts de rage à virus fixe a été négative sur : *Triton cristatus*, *Triton alpestris*, *Rana temporaria* et *Rana esculenta*. L'émulsion du cerveau d'une *Rana temporaria*, tuée 15 jours après l'inoculation de virus fixe (Exp. 29), injectée dans le cerveau d'un cobaye, ne lui a pas donné la rage.

6° Les passages de virus fixe sur *Mus rattus*, *Mus decumanus*, rat blanc, *Mus sylvaticus*, *Mus musculus* ne semblent pas en avoir modifié la virulence qui s'est maintenue très active, ni la durée de l'incubation (5—6 jours).

La durée d'incubation a été, comme toujours, modifiée seulement par l'inoculation ailleurs que dans le cerveau et par l'emploi de matière autre que la moelle allongée.

7° *Mus decumanus*, *Mus rattus*, Rat blanc, *Mus sylvaticus* et *Mus musculus*, inoculés avec du virus des rues ont, en général, présenté une



Fig. 2.

rage furieuse avec tendance plus ou moins manifeste à mordre. L'aspect des rats noirs atteints de rage à virus des rues a été surtout très caractéristique : ils criaient continuellement, sautaient dans les bocal ou dans les cages, les jambes antérieures et postérieures tendues, la queue droite, dirigée en haut, comme le dessein schématique ci-joint le montre (Fig. 2). Dès qu'on appliquait un doigt contre la paroi du bocal ou qu'on

1) Dans ce cas probablement, l'animal inoculé a été gardé trop peu de temps en observation, car Konradi (Centralbl. f. Bakt. etc., 1905, T. XXXVIII, p. 60) a vu dans un cas analogue incubations de 1 1/2, an environ.

introduisait un fil de fer dans celui-ci, ils se lançaient contre pour mordre et mordaient réellement, soit le fil de fer, soit les souris qu'on leur introduisait. Ils faisaient dans les cages ou boccas des sauts très forts. Ils avaient la tendance à se lancer à la figure, comme dans un cas ou le garçon de laboratoire ayant voulu, contre toute instruction, changer de vase un de ces rats, celui-ci lui échappa de la pince et se lança à son visage. Il eut juste le temps de l'abattre d'un coup de pince et d'éviter la morsure. Ils sont donc extrêmement dangereux, même pour l'homme. Leurs morsures, comme l'ont démontré les expériences 38 et 43, peuvent transmettre le rage. La mort des rats noirs atteints de rage des rues, arrive parfois tout à coup, pendant les accès de fureur. Il est intéressant de noter que les surmulots atteints de rage des rues, ont au contraire, été moins agités et ont présenté moins de tendance à mordre.

8° La rage à virus des rues a pu être déterminée chez les animaux sus-indiqués par inoculation intracérébrale, dans la chambre antérieure de l'œil, dans les muscles. Même par inoculation dans la chambre antérieure et dans les muscles, les résultats ont été presque toujours positifs quand l'inoculation a été pratiquée sur des animaux neufs. Positive a été aussi l'inoculation par morsure (Exp. 38 et 43).

9° Parmi les animaux qui ont résisté après inoculation par quelques-unes des voies sus-indiquées, il y en a qui ont résisté plus ou moins à des inoculations intracérébrales successives de virus des rues. Ainsi le rat noir No. 78 (Exp. 38) qui n'a succombé qu'à la 3^e inoculation intracérébrale (Exp. 66) en présentant les phénomènes de la rage paralytique.

10° Le matériel provenant des muridés sus-indiqués, morts de la rage des rues et qui a pu servir à la transmission de la rage a été: La moelle allongée, les glandes salivaires sous-maxillaires (rat noir Exp. 40, souris grise Exp. 44, mulot exp. 50), les capsules surrénales (rat noir Exp. 47), le sang (rat noir Exp. 52), le raclage de la muqueuse buccale (rat noir Exp. 55), les testicules (rat noir Exp. 57). C'est la première fois qu'on donne la rage avec l'inoculation du sang d'un animal mort de rage à virus des rues. Dernièrement Marie¹⁾ a vu deux cas de transmission par le sang provenant d'un cobaye atteint de rage à virus fixe.

11° L'émulsion de moelle allongée du rat noir No. 85, inoculée dans le cerveau de *Triton cristatus*, *Triton alpestris*, *Hyla arborea*, *Lacerta muralis*, *Lacerta stirpium* a été tout à fait sans résultats, et les animaux inoculés vivent encore (Exp. 47).

12° Le passage du virus des rues sur les rats et les souris renforce rapidement sa virulence, de sorte qu'après 1—2—3 passages il est à son maximum de virulence et présente les caractères du virus fixe au point de vue de la durée de l'incubation (4—5—6 jours) mais tout en continuant à donner, dans la majorité des cas, la forme furieuse aux muridés. Cette fixité persiste même si le virus est transporté sur les lapins et les cobayes sur lesquels le virus, passé sur les rats, semble avoir une action très énergique. Le passage du virus de la rage des rues sur *Mus rattus* et *Mus musculus*, présente donc un phénomène analogue à celui observé par de Blasi et Russo-Travali²⁾ par des passages sur le chat et par Di Mattei³⁾ après 1 à 2 passages sur les loups.

1) Soc. de Biologie, 25 mars 1905 et Rev. vétérinaire, 1905, p. 337.

2) Annales de l'Institut Pasteur, 1894, p. 338.

3) Annali d'igiene sperimentale, Vol. VIII, 1898. p. 244.

Conclusions générales.

Les expériences que je viens d'exposer, démontrent que certains muridés peuvent être des agents importants de transmission de la rage dont ils peuvent même augmenter la virulence et dont les morsures peuvent être dangereuses, vu la tendance que montrent ces animaux, une fois atteints de rage, à se lancer à la figure. Les morsures qu'ils font sont très profondes, comme l'ont démontré les 3 expériences faites en leur présentant des souris vivantes. Grâce à l'appareil que j'ai inventé, appareil permettant de pratiquer avec la plus grande sûreté les inoculations intracérébrales de la rage sur *Mus rattus*, cet animal peut, cas échéant, être employé dans les laboratoires pour la préparation rapide du virus fixe, vu que 1—2—3 passages sont suffisants pour fixer le virus des rues, tandis qu'il faut au moins 50 passages sur les lapins pour arriver au même résultat.

Au point de vue des lésions anatomo-pathologiques rencontrées chez les muridés employés pour mes expériences, je me bornerai pour le moment à noter que je n'ai pas rencontré de corps étrangers dans leur appareil digestif et il y avait hyperémie du système nerveux central. Dans quelques cas examinés, j'ai trouvé la présence de rares corps de Negri.

Je me propose dans un travail ultérieur de compléter les études sur la rage des muridés et sur les lésions du système nerveux central.

Je terminerai ce travail en remerciant vivement tous ceux qui d'une façon ou de l'autre, m'ont aidé dans mes recherches expérimentales sur la rage des rats, et parmi eux je citerai M. le Dr. Vourloud, M. Gauthier, chef de service, M^{me} Rochaz Dr. et M. Laurent, garçon de l'Institut.

Lausanne, 4 juillet 1905.

Nachdruck verboten.

Der Streptococcus bombycis in Bezug auf die Aetiologie der Auszehrung und Schlauffsucht der Seidenraupe.

Experimentelle Bemerkungen und Beobachtungen.

[Aus dem Laboratorium für Parasitologie der kgl. Universität zu Turin, geleitet von Prof. Dr. E. Perroncito.]

Von

Dr. med. **Silvio Sartirana**, und Dr. med. **Attilio Paccanaro**,
Assistenten. Volontärassistenten.

(Schluß.)

Die Raupen, welche dem Experiment dienten, stammten selbstverständlich aus gesunden Samen und Sätzen, wo während der ganzen Saison kein Fall von Auszehrung oder Schlauffsucht zur Beobachtung kam. Sie gehörten teils zu einem Satz, der von Herrn Prof. Perroncito uns in lebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde, und dem wir hier den lebhaftesten Dank dafür aussprechen, ebenso wie für das von ihm uns bei diesen unseren Untersuchungen erwiesene Interesse, und teils zu zwei unter dem elektrischen Bogen sich entwickelten Sätzen, die uns mit

auserlesener Höflichkeit von Herrn Ing. Penacchiotti, dem Direktor des bakologischen Institutes zu Spoleto, zugesandt worden waren.

Die durchschnittliche Temperatur, bei der die Raupen des 1. Satzes gehalten wurden, betrug ungefähr 20°C , die des 2. ca. 24°C , die des 3. ca. 18°C . Einige von diesen wurden auch bei 15°C gezüchtet, ohne daß man eine neue Erscheinung beobachten konnte, mit Ausnahme einer Verspätung von etwa 10 Tagen bei dem Einspinnen. Der hygrometrische Zustand erhielt sich bei allen 3 Sätzen beständig trocken.

Die aus unseren Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse zeigten folgendes:

a) Die Injektion in das Dorsalgefäß (50 Raupen wurden injiziert, davon starben 48) erzeugt den Tod nach kurzer Zeit (10—20 Stunden) und ausnahmslos unter den für die Auszehrung typischen Charakteren.

b) Die Infektion durch den Darmkanal oder die Stigmata (50 Raupen), von denen 10 starben, wurden in den Verdauungskanal und 50 Raupen in die Stigmata und Haut infiziert, von denen bloß 9 starben) erzeugt ebenfalls den Tod, jedoch nach einer längeren Zeitperiode und nicht beständig.

Die Raupen zeigen alsbald Unlust, werden in den Bewegungen träg und fressen mit geringerer Gierigkeit; die Haut nimmt einen grauen Farbenton an und wird runzelig; es tritt fast immer Diarrhöe auf und aus der Mundöffnung ergießt sich eine gelbliche, alkalisch reagierende Flüssigkeit, die sich bei bakteriologischer Untersuchung als steril erweist; mit dem Tode tritt endlich die Mumifikation ein.

Aus dem Blute und dem Darminhalt dieser auf diese Weise infizierten Raupen konnten wir unseren *Streptococcus* in Kultur wiedergewinnen.

Hier wollen wir erwähnen, daß wir bei allen unseren zahlreichen Untersuchungen niemals die Reproduktion einer Krankheit mit den Merkmalen der Schlafsucht beobachten konnten, welches die injizierte Gabe und welches der Infektionsweg auch war.

Der *Streptococcus* bildet keine toxische Substanz in den Kulturen; denn werden durch die Berkefeldsche Kerze alte und junge Kulturen durchfiltriert, so zeigt die Flüssigkeit keine toxische Wirkung, gleichgiltig, wie die injizierte Gabe sei.

Es sei noch hinzugefügt, daß der *Streptococcus* keine pathogene Wirkung auf andere Versuchstiere, wie Hund, Kaninchen, Meerschweinchen, Maus, Frosch, Huhn, entfaltet.

Die für längere Zeit mit Bouillonkulturen dieses *Streptococcus* behandelten Meerschweinchen lieferten ein Serum, welches ein hohes agglutinierendes Vermögen zeigte. In Eprouvetten, die 1 ccm 12 Stunden alter Bouillonkultur enthielten, bemerkte man nach Zusatz eines wirksamen Seruntropfens nach wenigen Stunden die Bildung kleiner weißer Flocken, die nach 24 Stunden sich völlig als eine weißliche Schicht am Boden der Eprouvette absetzten, während die darüberstehende Flüssigkeit ganz klar wurde.

Schädigungen. Der *Streptococcus* siedelt sich vorzugsweise im Darmkanal an, wo er sich lokalisiert, nicht nur, wenn er durch die Darmwege eingeführt wird, sondern auch wenn er in den Kreislauf injiziert wird. Die auszehrungskranken Raupen in 4-proz. Formollösung, in Müllers, in Zenkers Flüssigkeit fixiert, und nach den verschiedenen Uebergängen in Alkohol, in Paraffin eingebettet, wurden reihenweise geschnitten zum Studium der Veränderungen und der Lokalisierung des *Streptococcus*. Die Schnitte wurden mit der Gramschen Me-

thode und Karmin gefärbt. Besonders im ersten Abschnitt des Verdauungskanales beobachtet man reichliche Anhäufungen von Mikroorganismen, und zwar unter der Epithelschicht des Darmes verteilt. Das in einigen Stellen zerfallene oder abgelöste Epithel ist hingegen in anderen Stellen von den darunterliegenden Geweben durch überaus große Mikroorganismenhäufen gehoben; in anderen Stellen dringen ferner die Mikroorganismen zwischen das Zottenepithel hinein, indem sie sich bis zur Submucosa vertiefen; in einigen Gegenden, besonders aber gegen das Kopfende des Körpers zu, dringt der Mikroorganismus in die sämtlichen Gewebe ein, und dabei verteilt er sich vor allem um die Muskelfaser, um die Gefäße und die Wände der Seidenreservoirs herum; man findet ihn auch im Lumen der Gefäße, doch in nicht sehr großer Zahl.

* * *

Da es mit unserem Streptococcus nicht gelang, den Tod der Tiere mit den Merkmalen der Schlagsucht zu erzielen, und da andererseits einige Verfasser doch die Ursache dieser Erkrankung auf Bacillen zurückführen, nahmen wir uns vor, mit 3 Bacillen zu experimentieren, die wir fast immer mit dem Streptococcus zusammen in den Fällen von Auszehrung und Schlagsucht vorfanden, ebenso wie mit einer vielfältigen Reihe von pathogenen wie saprophytischen Bacillen. Sie wurden den Raupen entweder in das Dorsalgefäß oder in den Darmkanal und die Stigmata injiziert. Hinsichtlich der drei aus den Raupen isolierten Bacillen halten wir es für belanglos, sie genau zu beschreiben, wegen ihrer geringen Bedeutung und pathogenen Wirkung, um so mehr, da sie keine ausgesprochen morphologischen und kulturellen Eigenschaften besitzen; wir werden sie infolgedessen nur mit dem Namen Bacillus A, B, C unterscheiden.

Die bei diesen Untersuchungen angewendete Versuchstechnik war ähnlich wie die schon für den Streptococcus beschriebene.

Bacillus A. Mit diesem Mikroorganismus wurden 50 Raupen in das Dorsalgefäß, 50 in den Verdauungskanal und 50 in die Stigmata inokuliert.

Von diesen beiden letzten Reihen starb keine; von der ersten hat man 10 tote, von denen die eine nach 4 Tagen und die übrigen zwischen dem 4. und dem 10. Tage starb. Die dargebotenen Merkmale waren diejenigen der Auszehrung; wegen der geringen Sterblichkeit und wegen der beständigen Gegenwart des Streptococcus in diesen Raupen glauben wir jedoch, dem Bacillus A keine pathogene Wirkung zuschreiben zu können.

Bacillus B. Mit diesem Mikroorganismus wurden 50 Raupen in das Dorsalgefäß, 50 in den Darmkanal und 50 in die Stigmata injiziert. Von der 1. Reihe starben 4 ohne deutliche Merkmale; von der 2. und 3. Reihe starb keine.

Bacillus C. Mit diesem wurden 50 Raupen in das Dorsalgefäß, 50 in den Darmkanal und 50 in die Stigmata injiziert. Von der 1. Reihe starben 4, ohne wahrnehmbare Merkmale; von der 2. starben 2 zufällig, von der 3. starben 4, ohne daß man ihnen doch irgend eine Bedeutung zumessen konnte.

Die anderen ausgewählten Mikroorganismen waren: *Sarcina flava*, *Sarcina aurantiaca*, *Lactis aërogenes*, *B. subtilis*, *Proteus*, *Megatherium*, *Blastomyces flavus*, *Paratyphus*, *Prodigosus*, *Pyocyaneus*, *Meningococcus*, Diphtherie- und Milzbrandbacillus.

Die erzielten Ergebnisse waren folgende:

Sarcina flava: Es wurden 50 Raupen ins Dorsalgefäß, 50 in den Darmkanal, 50 in die Stigmata injiziert; von den ersten starben 5, von den zweiten und dritten starb keine.

Sarcina aurantiaca: Es wurden 50 Raupen in das Dorsalgefäß, 50 in den Darmkanal, 50 in die Stigmata injiziert; es starb bloß eine der 1., keine der 2. und 3. Reihe.

Lactis aërogenes: Es wurden 50 Raupen pro Reihe injiziert; eine tot in der 1., keine in der 2., eine in der 3. Reihe mit den Merkmalen der Schlafsucht.

Subtilis: Es wurden 50 Raupen pro Reihe injiziert; 3 tote in der 1. Reihe, keine tot in den übrigen 2 Reihen.

Proteus: Es wurden 50 Raupen pro Reihe injiziert; es stirbt keine von der 1. Reihe, 1 von der 2. mit den Merkmalen der Schlafsucht, keine von der 3.

Megatherium: Es wurden 50 Raupen in den Darmkanal, ebensoviel in die Stigmata injiziert¹⁾; keine tot.

Blastomyces flavus: Man injizierte 50 Raupen in den Darmkanal und 50 in die Stigmata; keine starb.

Paratyphus: Man injizierte 50 Raupen pro Reihe; 3 starben von der 1., keine von den übrigen 2 Reihen.

Prodigosus: Man injizierte 50 Raupen pro Reihe; es starben 43 von der 1. Reihe innerhalb weniger als 24 Stunden, indem sie weder Merkmale von Auszehrung noch von Schlafsucht zeigten; tiefgrünes Erbrechen, normale Konsistenz, schmutzig-weiß gefärbt; das Kopfende nahm einige Tage später eine dunkle Farbe auf. Keine starb von den übrigen 2 Reihen.

Pyocyaneus: Es wurden 50 Raupen pro Reihe injiziert; es starben 40 in der 1. Reihe, 2 von der 2. mit Schlafsuchtmerkmalen, keine von der 3. Reihe. Die Toten der 1. Reihe nahmen nach 2 oder 3 Tagen die tiefgrüne Färbung an.

Meningococcus: Man injizierte 50 Raupen pro Reihe; es starben 2 der 1. Reihe, 2 der 2. mit den Merkmalen der Schlafsucht, keine von der 3. Reihe.

Diphtheriebacillus: Es wurden 50 Raupen pro Reihe injiziert; 3 tote in der 1., keine in der 2. und 3. Reihe.

Milzbrandbacillus (1 ccm von Bouillonkultur tötete ein Meer-schweinchen binnen 48 Stunden): Man injizierte 50 Raupen pro Reihe; davon starben 41 in der 1. binnen 24 Stunden mit reichlicher schwärzlicher Absonderung aus der Mundöffnung; die Konsistenz und die Gestalt blieben für mehrere Tage wie in der Norm beibehalten; hierauf trat ein Schwarzwerden zunächst am Kopfende ein, das sich allmählich auf den ganzen Körper, ebenso wie eine Runzelung, erstreckte. Von der 2. Reihe starb keine; von der 3. bloß eine unter den Schlafsuchtmerkmalen.

Da von einigen behauptet wurde, daß die Schlafsucht und die Auszehrung von feuchten, gegorenen Maulbeerblättern bedingt wird, verabreichten wir als letzten Versuch einer Reihe von Seidenspinnern für eine verhältnismäßig lange Zeit solche Blätter als Nahrung, doch immer mit negativem Erfolg.

Betrachten wir diese neue Versuchsreihe, so könnten wir bezüglich der Schlafsucht keine positiven Behauptungen aufstellen, doch dürfen wir

1) Wegen eines bedauerlichen Laboratoriumszufalles wurden die Injektionen ins Dorsalgefäß mit dem *Megatherium* und dem *Blastomyces flavus* nicht ausgeführt.

wohl die Vorstellung, die wir von dieser Krankheit gewonnen haben, und welche in letzter Instanz der von Prof. Sawamura geäußerten entspricht, aussprechen. Da wir trotz der anhaltendsten Untersuchungen keine für diese Krankheitsform spezifischen Mikroorganismen finden konnten, da andererseits das pathogene Bild vom *Streptococcus* und seine beständige Gegenwart in den schlafsuchtigen Raupen deutlich hervortritt, und da wir ferner denselben als saprophytischen Gast auch in den gesunden Raupen vorgefunden haben, so fragen wir uns, ob eventuell die Schlafsucht von einer Mikrobenvergesellschaftung bedingt wird, bei der der *Streptococcus*, ähnlich wie beim Menschen das *Bact. coli*, die Fähigkeit gewinnt, einen gewissen pathogenen Grad anzunehmen, und ob unter bestimmten Bedingungen durch Zusammenwirken seiner Aktion mit jener von löslichen Produkten aus anderen Mikroorganismen oder aus abnormen Darmgärungen derselbe in der Raupe jene Infektionsform, die als Schlafsucht bezeichnet wird, hervorrufen kann.

Die Behauptung dieser unserer Meinung werden wir vielleicht in der neuen folgenden Jahreszeit genau präzisieren, während welcher wir mit dem *Streptococcus* zu experimentieren beabsichtigen, in seinen verschiedenen Virulenzgraden, mit den gewöhnlichen Mikroorganismen der Maulbeerblätter und des Darmkanals vom Seidenspinner vergesellschaftet.

* * *

Bei allen ausgeführten Versuchen mit den verschiedenen Mikroorganismen zeigten sich die Raupen mehr empfindlich für die direkte Injektion ins Blut (Dorsalgefäß), als für die Injektion in die Verdauungsröhre und noch weniger in die Haut und in die Stigmata.

Da im Augenblick des Einspinnens, in der Periode nämlich, wo die Raupen ihre größte Tätigkeit aufweisen, ihr Organismus eine größere Widerstandsfähigkeit besitzen müßte, so haben wir die Injektionen ins Dorsalgefäß wiederholt, wenige Tage bevor die Raupen mit der Coconbildung anfangen. Das Ergebnis dieser Versuche war, daß, während wir in der ersten Versuchsreihe z. B. für den Milzbrandbacillus und den *Pyocyaneus* 41 und 40 Todesfälle über 50 hatten, in dieser zweiten Reihe bloß 10 Todesfälle für den Milzbrand und 6 für den *Pyocyaneus* beobachtet wurden, ein Ergebnis, welches wahrscheinlich auf eine intensivere Phagocytenwirkung zurückgeführt werden muß.

Wir möchten ferner die wichtige Tatsache hervorheben, daß alle Raupen, die infolge der Injektionen der obenerwähnten Mikroorganismen starben, mehr oder minder bald eine schwärzliche Färbung annahmen, während ihre Konsistenz nicht bloß wie in der Norm erhalten blieb, sondern auch mitunter höher wurde. Wir können also nicht annehmen, daß diese Färbung für die Schlafsucht spezifisch ist, sowie auch nicht, daß sie von einem besonderen Mikroorganismus erzeugt wird; wir glauben, daß diese Farbeveränderung, als Folge eines Zerfalles der Gewebe, von Mikroorganismen der Darmverwesung oder besser von einer Mikrobenvergesellschaftung bewirkt aufzufassen ist, welche Hypothese unserer Meinung nach durch die Tatsache bestärkt wird, daß bei den unter den Merkmalen der Auszehrung (*Strept. bom b.*) gestorbenen Seidenspinnern niemals diese Färbung auftritt, sowie auch durch die Tatsache, daß die Tiere, welche z. B. infolge von Injektion mit *Bac. pyocyaneus* starben, und die nach dem Tode eine grünliche Färbung zeigten, in der Folge allmählich diese Färbung verloren, um schließlich völlig schwarz zu werden. Die schwärzliche Farbe also, welche nach einigen ein Unterschei-

dungsmerkmal für die Schlaffsucht, als selbständige Krankheitsform, darstellt, ist hingegen für uns die Folge der Wirkung der Mikroorganismen, die dem für die Raupe pathogenen *Streptococcus* zugesellt sind, welche ihre Aktion besonders nach dem Tode der Tiere entfalten. Es ist wahrscheinlich, und dies wird den Gegenstand unserer zukünftigen Untersuchungen in der nächsten Saison darstellen, daß man, mit einem abgeschwächten *Streptococcus* experimentierend, eine schwärzliche Färbung erzielen kann, unter der Bedingung, daß sich dabei andere Mikroorganismen entwickeln und so ihre Tätigkeit mit jener des pathogenen *Streptococcus* vereinigen können.

Daß diese von uns vertretene Meinung einen gewissen Grund besitzt, wird durch die von uns beständig beobachtete Erscheinung bestärkt, daß wir in allen, infolge von Injektionen des Milzbrandes, des *Pyocyaneus*, des *Prodigosus* gestorbenen Raupen den *Streptobombycis* mit denselben in den infolge von Injektionen des *Streptococcus* allein gestorbenen Seidenspinnern beobachteten Lokalisierungen feststellen, welcher *Streptococcus*, wie schon erwähnt, selbst im gesunden Seidenspinner in saprophytischem Zustande sich vorfindet.

Unter so vielen versuchten Mikroorganismen ist es bloß der *Streptococcus* gewesen, der beständig den Tod unter einem konstanten Erscheinungskomplex und mit konstanten pathologisch-anatomischen Charakteren erzeugte; wir wagen deshalb ohne Bedenken die Annahme aufzustellen, daß diesem Mikroorganismus die Aetiologie der Auszehrung des Seidenspinners zugeschrieben werden muß.

Zwar riefen auch andere Bakterien den Tod unserer Tiere hervor; während jedoch diese Bakterien ohne besondere Lokalisierungen zerstreut und in einer eher spärlichen Menge auftraten, ist es bloß der *Streptococcus* gewesen, welchen wir (selbst in den eben erwähnten Fällen) immer in reicher Menge und immer vorzugsweise im Darmkanal angesiedelt, sowie immer als Ursache von spezifischen charakteristischen Schädigungen vorgefunden haben.

Schlüsse.

1) Der *Streptococcus bombycis* muß als die einzige spezifische Ursache der Auszehrung des Seidenspinners betrachtet werden, mit vorwiegender Ansiedelung im Darmkanal desselben; diese Lokalisierung erzeugt tiefgehende Schädigungen, die man mit jenen einer chronisch verlaufenden Enteritis vergleichen könnte.

2) Die Schlaffsucht dürfte nicht als eine besondere, von einem spezifischen Mikroorganismus bedingte Erkrankungsform betrachtet werden, sondern sie wird vielmehr von einer Mischinfektion durch die verschiedenen gewöhnlichen Mikrobenparasiten des Raupenorganismus und vielleicht auch des Maulbeerblattes hervorgerufen, bei der neben verschiedenartigen Saprophyten doch immer der *Streptococcus* von der Auszehrung überwiegt. Diese Mischinfektion ist leicht erklärbar, wenn man ähnliche Infektionen der höheren Tiere und selbst des Menschen in Betracht zieht, bei welchen es deutlich nachgewiesen wurde, daß bekanntlich unschädliche Mikroorganismen auf einmal pathogen werden können, indem sie verschiedene Erkrankungsformen bedingen, wenn sie günstigen Entwicklungsboden finden, oder sich mit anderen erheblich pathogenen Mikroorganismen vergesellschaften.

Nachdruck verboten.

Ueber die künstliche Züchtung eines „unsichtbaren“ Mikroorganismus aus der Vaccine.

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. Fr. Pröschner, Darmstadt.

Mit 1 Tafel.

Das krankmachende Agens der Variola ist trotz umfassender Untersuchungen der letzten zwei Dezennien noch vollkommen unbekannt. Während eine Anzahl von Autoren den Pockenerreger unter den Schistomyceten suchten und denselben in Form eines Bacillus oder Coccus gefunden haben wollen, traten Andere für die Protozoennatur desselben ein.

Wie die sorgfältigen Untersuchungen von R. Koch und Wassermann¹⁾ ergeben haben, ist der Inhalt der hochinfektiösen Variolapustel vor der Suppurationsperiode frei von sichtbaren Mikroorganismen. Wurden die gebräuchlichen Nährböden mit solchem bakterienfreien Pustelinhalt beschickt, so blieben sie steril, bzw. es konnte keine sichtbare Veränderung des Nährmediums beobachtet werden.

Hiermit war der Beweis geliefert, daß das Pockenvirus nicht zu den bekannten Formen der Mikroorganismen zu rechnen ist. Ferner haben die erfolgreichen Impfungen mit im übrigen steriler Lymphe den Beweis erbracht, daß sämtlichen Bakterienbefunden eine ätiologische Bedeutung nicht zukommt, sondern daß sie alle als accidentelle Verunreinigungen aufgefaßt werden müssen.

Die Züchtungs- und Uebertragungsversuche mit den aus der Vaccine isolierten Bakterien sind insofern von Interesse, als damit der Nachweis erbracht wurde, daß das Vaccinekontagium künstlich züchtbar ist. Daß das Virus bei diesen Versuchen nicht einfach verdünnt worden ist, sondern sich vermehrt haben muß, geht aus einigen Versuchen mit Sicherheit hervor.

Während die meisten Forscher darüber einig sind, daß das Pockenvirus nicht zu den Schistomyceten zu rechnen ist, sind zahlreiche andere Autoren für die Protozoennatur desselben eingetreten.

L. Pfeiffer und van der Loef waren die ersten, welche protozoenähnliche Gebilde im Pockenpustelinhalt aufgefunden haben wollen und dieselben als die Erreger der Krankheit ansahen.

Durch Verimpfen von Vaccine auf die Hornhaut von Kaninchen konnte Guarnieri²⁾ ähnliche Gebilde in den Cornealzellen nachweisen. Guarnieri sah dieselben als die Erreger der Vaccine an und benannte sie „Cytoryctes vaccinae“. Dieselben sollen zwei verschiedene Entwicklungsstadien durchlaufen. v. Wasielewski³⁾ schloß sich der Guarnierischen Auffassung an.

1) Wassermann, Ueber Variola. (Charité-Annalen. Jg. XX. p. 565.)

2) Guarnieri, Ueber die Parasiten der Variola und Vaccine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. 1894. p. 299.)

3) v. Wasielewski, Ueber Form und Färbbarkeit der Zelleinschlüsse bei der Vaccineimpfung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXI. No. 24/25. p. 901.)

Ueber protozoenähnliche Befunde berichten auch Councilman, Dombrowski, Bosc, Thomson, Foà u. A., die sich zum Teil für, zum Teil gegen die Guarnierische Auffassung aussprachen.

Siegel¹⁾ hat dann in neuerer Zeit versucht, den Entwicklungsgang des Pockenerregers nicht im Oberflächenepithel, sondern in Blut und Organsäften zu studieren. Irgendwelche neuen Tatsachen sind durch die Untersuchungen von Siegel nicht zutage gefördert worden. Die immerhin grobe und eingreifende Untersuchungstechnik Siegels — Verdünnen des Blutes und der Organsäfte mit frisch abgekochtem destillierten Wasser — bei der alle möglichen Zerfalls- und Degenerationsprodukte gebildet werden, läßt es fraglich erscheinen, ob die von ihm beschriebenen Gebilde überhaupt als Protozoen aufzufassen sind.

Ein zwingender Beweis für die Protozoennatur des Pockenerregers ist zur Zeit nicht erbracht; die neuesten Untersuchungen von Pro wazek²⁾ sprechen direkt gegen diese Annahme.

Pro wazek hat nachgewiesen, daß die Guarnierischen Körperchen³⁾ nicht selbst die Erreger der Pocken sein können. Dieselben durchlaufen nicht, wie andere Protozoen, einen bestimmten Entwicklungszyklus. Pro wazek konnte mit allen Stadien von 8—336 Stunden ohne besondere Aenderung der Inkubationszeit sicher infizieren. Wird das mit Vaccine infizierte Hornhautepithel nach dem Vorgang von Foà 24 Stunden mit 10-proz. Kochsalzlösung behandelt, so werden die Guarnierischen Körperchen fast vollkommen zerstört, trotzdem läßt sich mit derartig vorbehandeltem Material eine erfolgreiche Impfung vornehmen. Ebenso wenig wird das Virus durch 24-stündige Einwirkung von 20-proz. und konzentrierter Kochsalzlösung sowie Trypsin (0,5 Proz. Soda) geschädigt. Ferner konnte Pro wazek feststellen, daß das Vaccinivirus nicht allein an das Protoplasma der Hornhautzellen gebunden ist, sondern auch in den Intercellularräumen vorkommt. Mazerierte er das infizierte Cornealepithel mit 0,85-proz. Kochsalzlösung und filtrierte dasselbe durch vierfaches Filterpapier, so konnte er mit dem Filtrat noch sicher infizieren, obwohl dasselbe keine zelligen Bestandteile mehr enthielt.

Das Pockenvirus muß nach den vorliegenden Untersuchungen ein unsichtbarer Mikroorganismus sein, der mit unseren mikroskopischen Hilfsmitteln vorläufig nicht sichtbar zu machen ist.

1) Siegel, Joh., Untersuchungen über die Aetiologie der Pocken, der Maul- und Klauenseuche. Berlin (G. Reimer) 1905.

2) Pro wazek, S., Untersuchungen über das Wesen des Vaccineregerers. (Deutsche med. Wchnschr. 1905. No. 19.)

3) A. Hückel hat bereits 1898 (Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. Bd. XX, Suppl.-Heft 2) durch eingehende histologische Untersuchungen nachgewiesen, daß die Guarnierischen Körperchen nicht als parasitäre Gebilde anzusprechen sind. Was Guarnieri und andere Forscher nach ihm von Wachstumsvorgängen der Parasiten, Teilungsformen, Beweglichkeit derselben etc. geschildert haben, kann H. nicht als einwandfrei ansehen. Nach Hückels Ansicht entstehen die Körperchen aus gewissen Teilen der Zelleiber der Epithelien. Diese Teile gehören der Marksicht des Protoplasmas an, wodurch die zentrale Lagerung der Körperchen nahe dem Zellkern in den Epithelien sich erklärt. Durch Osmiumsäureeinwirkung sowie andere Reize treten in den Hornhautzellen ähnliche Körperchen auf; nur zeigen diese nicht durch Vaccinewirkung erzeugten Körperchen bei Anwendung der Biondischen Färbung eine andere Tinktion als die Vaccinekörperchen. Nach v. Wasielewski sollen von allen Zelleinschlüssen nur die Vaccinekörperchen die Methylgrünfärbung annehmen.

Daß diese Annahme zu Recht besteht, habe ich experimentell sicher erwiesen. Zentrifugiert man bakterienfreie Lymphe, bis sie vollkommen klar ist, hebt die wasserklare Flüssigkeit von dem Sediment vorsichtig ab und verimpft dieselbe, so erhält man Pusteln.

Die mikroskopische Untersuchung des wasserklaren Zentrifugates läßt ungefärbt im hängenden Tropfen, sowie nach Färbung mit den gebräuchlichen Tinktionsmethoden irgendwelche morphotische Elemente nicht erkennen.

Trotzdem das Pockenvirus selbst mit den stärksten Vergrößerungen für unser Auge nicht wahrnehmbar ist, muß dasselbe doch innerhalb mikroskopischer Erkennbarkeit liegen, wie die Filtrationsversuche¹⁾ ergeben haben.

Das Virus ist durch die gebräuchlichen Bakterienfilter (Pasteur, Chamberland, Berkefeld und Pukall) nicht filtrierbar. Die Unsichtbarkeit wird also nicht durch die Kleinheit des Virus, sondern wahrscheinlich durch das relativ hohe Lichtbrechungsvermögen der Leibessubstanz des Virus bedingt. Da das Pockenvirus durch sein hohes Lichtbrechungsvermögen der direkten Beobachtung nicht zugänglich ist, habe ich bereits vor mehreren Jahren, als ich mit Studien über den Pockenerreger begann, versucht, eine geeignete Färbemethode aufzufinden, um das unbekanntes Kontagium sichtbar zu machen.

1) In der Filtration durch die obengenannten Filter haben wir eine Methode, um die ungefähre Größe unbekannter Mikroorganismen festzustellen. Alle näher bekannten Bakterien wie Protozoen, die wir mikroskopisch sehen können, werden durch diese Filter zurückgehalten.

Ebenso wie das Pockenvirus nicht filtrierbar und nicht sinnlich wahrnehmbar ist, verhalten sich die Erreger der Lyssa (P. Bert und Babes) und der Rinderpest (Lemmer und Kolle). Die Unsichtbarkeit der beiden letzten unbekanntes Erreger wird wahrscheinlich ebenso wie beim Pockenvirus durch das äußerst hohe Lichtbrechungsvermögen bedingt.

Dagegen vermögen die Erreger der Maul- und Klauenseuche (Loeffler und Frosch), der südafrikanischen Pferdesterbe (Theiler und Mac Fadyean), sowie die Erreger der Mosaikkrankheit der Tabakpflanzen (Iwanowski, Beijerinck und Konig), sowie der von Nocard und Roux entdeckte und künstlich von ihnen gezüchtete Erreger der Peripneumonie der Rinder die genannten Filter zu passieren. Der Erreger der Peripneumonie der Rinder ist nach den Untersuchungen von Nocard und Roux so klein, daß man ihn mit der stärksten mikroskopischen Vergrößerung nur in Form kleinster, lichtbrechender, beweglicher Pünktchen noch wahrnehmen kann, aber nicht seine Gestalt. Ob das Virus färbbar ist, ist noch nicht mit Sicherheit festgestellt. Der Peripneumonieerreger muß also hart an der Grenze der Sichtbarkeit stehen. Da der Erreger der Peripneumonie eben noch gerade sichtbar ist, so müssen wir annehmen, daß die Erreger der Maul- und Klauenseuche wahrscheinlich jenseits dieser Grenze liegen, also überhaupt nicht mehr wahrgenommen werden können. Nach Abbe ist die Größe von $0,21 \mu$ als untere Grenze der Visibilität zu betrachten, das Virus der Maul- und Klauenseuche etc. muß also kleiner als $0,21 \mu$ sein. Da mit der Größe von $0,21 \mu$ dem mikroskopischen Sehen ein Ziel gesetzt, das nach den Untersuchungen von Helmholtz und Abbe nicht überschritten werden kann, selbst wenn die Linsensysteme noch so sehr verfeinert werden, so werden die Mikroorganismen, die unter dieser Grenze liegen, für immer unsichtbar bleiben.

Mehr Hoffnung dürfen wir auf die Sichtbarmachung des Pocken-, Lyssa- und Rinderpestvirus setzen, da dieselben innerhalb mikroskopischer Erkennbarkeit liegen müssen.

Vielleicht ist die in neuerer Zeit von Köhler (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XXI. 1904) inaugurierte Mikrophotographie mit monochromatischem, ultraviolettem Licht dazu berufen, diese unsichtbaren Erreger uns indirekt durch die photographische Platte sichtbar zu machen. Wie die vorläufigen interessanten Untersuchungen Köhlers ergeben haben, werden die ultravioletten Strahlen speziell von solchen organischen Geweben stark absorbiert, die bei der Beobachtung mit gewöhnlichem Licht eine relativ starke Lichtbrechung zeigen.

Meine Bemühungen mit den bereits bekannten histologischen wie speziell bakteriologischen Färbemethoden, irgendwelche charakteristische morphologische Individualitäten zur Darstellung zu bringen, sind bisher gescheitert. Ich glaube, daß ich keine der bekannten Färbemethoden unversucht gelassen habe, aber ohne jeden Erfolg.

Als ich die Untersuchungen im September vergangenen Jahres, nach einiger Zeit der Unterbrechung, im Blumschen Laboratorium wieder aufnahm, versuchte ich nochmals, mit einer etwas modifizierten Färbung mit neutralen Farbgemischen, Deckglasausstrichpräparate von steriler wirksamer Lymphe¹⁾ zu färben.

Ich hatte hier anfangs sehr auffällige Befunde gemacht in Form zarter Bacillen. Eingehendere Untersuchungen haben mir aber gezeigt, daß es sich erstens um Farbstoffniederschläge handelte, die im polarisierten Licht leicht nachzuweisen waren, und zweitens um eigenartige Gerinnungsbilder beigemischter Eiweißkörper, die Bacillen frappant ähnlich sahen und der Deutung anfangs Schwierigkeiten machte. Letztere zeigten im polarisierten Licht keine Doppelbrechung, so daß ich dieselben zuerst als echte Mikroorganismen ansprach. Dieselben ließen sich aber auch mit sterilen Serumausstrichpräparaten zur Darstellung bringen, so daß vorläufig keine Berechtigung vorliegt, dieselben als Mikroorganismen anzusprechen.

Vollkommen ausgeschlossen ist es nicht, daß es Mikroorganismen gibt, die sich nur mit neutralen Farbgemischen tingieren, ähnlich wie die neutrophilen Granula der Leukocyten.

Da es aber vorläufig an einer geeigneten Differenzierungsmethode fehlt, um echte Mikroorganismen von Artefakten zu unterscheiden, so bleibt die Frage nach der Existenz sogenannter „neutrophiler Mikroorganismen“ offen.

Das Pockenvirus ist also vorläufig unfärbbar. Die Unfärbbarkeit des Pockenvirus mit unseren gebräuchlichen Tinktionsmitteln wird möglicherweise durch das äußerst feine Molekularvolumen der Leibessubstanz des Virus bedingt. Unsere gebräuchlichen Farbstoffe besitzen wahrscheinlich ein viel zu großes Molekularvolumen, so daß dieselben nicht aufgenommen werden können.

Andererseits kann aber auch das Fehlen jeglicher Affinitäten zu den uns bekannten chemischen Agentien die Ursache der färberischen Mißerfolge sein. Die letztere Annahme wird dadurch gestützt, da alle Versuche, die ich in dieser Richtung unternommen habe, dem unbekanntem Kontagium durch Beizen anorganischer wie organischer Natur chromatophile Tendenz zu verleihen, d. h. der nachfolgenden Färbung mit sauren oder basischen Farbstoffen geeignete farbstoffverankernde Haptophore zu verschaffen, mißlungen sind.

Da die Sichtbarmachung des Variolakontagiums vorläufig nicht gelingt, so trat ich der Frage der künstlichen Züchtung derselben näher. Wie bereits oben erwähnt, sprechen eine Anzahl Untersuchungen dafür, daß das Vaccinevirus künstlich kultivierbar ist.

Von den zahlreichen Züchtungsversuchen führe ich nur einige an: So konnten Vanselow und Czaplewski²⁾ aus der Vaccine einen

1) Eine größere Quantität steriler Lymphe hatte mir Herr Geh. Obermedizinalrat Dr. Neidhart zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm an dieser Stelle bestens danke.

2) Vanselow und Czaplewski, Centralbl. für Bakt. Bd. XXV. p. 141 u. 546.

Staphylococcus, Kent¹⁾ einen Diplococcus isolieren. Die Ueberimpfung dieser Kokkenkulturen auf das Kalb erzeugten typische Pusteln. Das unsichtbare Vaccinkontagium mußte sich bei diesen Versuchen neben den Kokken vermehrt haben. Am exaktesten sind die Versuche Ishigamis²⁾ ausgeführt. Derselbe impfte sterile Lymphe in ein Nährmedium, dessen Hauptbestandteile aus Epithelzellen noch nicht geimpfter Tiere bestand. Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt. In das Nährmedium impfte er die Lymphe (Verhältnis zwischen Lymphe und Medium 1 : 1000) und hielt dasselbe 5—7 Tage im Brutschrank (1. Generation). Dann impfte er mit dieser 1. Generation steriles Nährmedium (Verhältnis ebenfalls 1 : 1000) und hielt es wieder 5—7 Tage bei 37° (2. Generation). Ebenso wurde bei der 3. und 4. Generation verfahren. Zur Kontrolle wurde Lymphe in der gleichen Weise mit dem Nährmedium verdünnt und sofort zur Impfung verwandt. Während die bei 37° gehaltenen Verdünnungen (1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 3000) beim Verimpfen auf das Kalb typische Pusteln erzeugten, blieben die mit der Kontrollverdünnung angelegten Schnitte reaktionslos.

Ebenso konnte Bonhoff³⁾ bei seinen Vaccinezüchtungsversuchen, allerdings nur in einem einzigen Falle, bei Verimpfung der 7. Kultur noch spärliche Pusteln erzeugen.

Mit diesen Versuchen ist der Beweis geliefert, daß das Variolavirus auf künstlichen Nährböden vermehrungsfähig ist.

Die Züchtungsversuche haben ferner das interessante Faktum ergeben, daß das Pockenvirus keine charakteristischen, sinnlich wahrnehmbaren Kolonienbildungen oder Veränderungen der gebräuchlichen Nährböden (Verflüssigung, Gasbildung, Farbstoffbildung) hervorruft.

Kein einziger Untersucher, der sich mit Vaccinezüchtungsversuchen beschäftigt hat, hat neben den von ihm isolierten Bakterien, die das Vaccinekontagium sein sollten, die wir aber nur als accidentelle Verunreinigungen anzusehen haben, irgendwelche charakteristischen Veränderungen des Nährmediums, die auf Rechnung des Pockenvirus zu setzen wären, beschrieben. Diesem Umstande ist es bis jetzt zuzuschreiben gewesen, daß trotz Vermehrung des Virus auf den gebräuchlichen Nährböden die Isolierung von begleitenden Bakterien nicht gelang; wurde sterile Lymphe zu den Züchtungsversuchen verwandt, so blieben die Nährmedien anscheinend steril, da weder makro- noch mikroskopische Veränderungen an denselben wahrgenommen werden konnten.

Der Nachweis, daß sich das Virus vermehrt hatte, ließ sich nur auf biologischem Wege, durch Verimpfung der unsichtbaren Kulturen erbringen. Der biologische Nachweis des Vaccinevirus gelingt aber nur so lange, als die Virulenz der Kulturen erhalten bleibt, also die Fähigkeit, bei der Uebertragung auf das Kalb Pusteln zu erzeugen. Nach den bisherigen Erfahrungen erlischt die Virulenz des Pockenvirus nach Uebertragung auf künstliche Nährmedien schon nach der 3.—4. Passage. Ist die Virulenz erloschen, so entzieht sich das Virus unserer Beobachtung. Damit ist aber noch nicht gesagt, daß die Vermehrungsfähigkeit auf künstlichen Nährmedien zu Ende ist.

1) Kent, A. F. S., The specific organism of vaccina. (Lancet. Vol. II. p. 1617.)

2) Ishigami, T., Ueber die Kultur des Vaccine- bzw. Variolaeerregers. (Centralbl. für Bakt. Orig. Bd. XXXI.)

3) Bonhoff, Centralbl. für Bakt. 1903.

Bisher nahm man allgemein an, daß das Vaccinekongium abgestorben ist, sobald die Vaccine bei der Impfung keine Pusteln mehr erzeugt.

Wie ich weiter unten zeigen werde, ist das Vaccinevirus trotz Einbüßung seiner Virulenz noch vermehrungsfähig.

Ebenso verhalten sich gewisse bekannte pathogene Mikroorganismen (Cholera bacillen, Meningokokken, Streptokokken), die nach Uebertragung auf künstliche Nährböden rasch ihre Virulenz verlieren, aber trotzdem noch vermehrungsfähig bleiben. Da ein direktes sinnlich wahrnehmbares Wachstum des Vaccinevirus auf den gebräuchlichen Nährböden nicht zu beobachten ist, so mußte ein Substrat geschaffen werden, das durch das unsichtbare Wachstum derselben wahrnehmbar und womöglich spezifisch verändert wurde.

Nach Ueberwindung vieler Schwierigkeiten ist es mir gelungen, sowohl flüssige wie feste Nährmedien¹⁾ herzustellen, die durch das Wachstum des Vaccinekongiums sinnlich wahrnehmbar verändert werden. Mit Hilfe dieser Nährmedien habe ich aus einer Anzahl von Lymphsorten (Darmstadt, Köln, Bern, Elberfeld, Dresden, Merck) ein und denselben unsichtbaren Mikroorganismus züchten können, bezw. die gleichen Veränderungen der Nährmedien erzielt.

Die Kulturen gedeihen am besten bei 37° C.

Das flüssige Nährmedium wird durch das Pockenvirus homogen getrübt.

Typischer sind die Kulturen auf festen Nährmedien. Das Vaccinevirus erzeugt auf festen Nährböden makroskopisch wahrnehmbare, eigenartige, grau-weiße schmierige Beläge (s. Abbildung).

Dieselben bestehen mikroskopisch zum Teil aus amorphen formlosen Massen, zum Teil aus feinsten Kristalldrüsen.

Diese Beläge sind der sichtbare Ausdruck der Lebensäußerungen des Vaccinevirus.

Da das Virus nach unseren obigen Deduktionen unsichtbar ist, so können diese Beläge nur Umwandlungsprodukte des Nährsubstrates sein, die während der Vermehrung des Virus gebildet werden; dieselben schließen die ultraviolette, unsichtbare Kultur des Vaccinevirus ein. Die Veränderungen, die das Virus auf diesen festen Nährmedien erzeugt, sind spezifisch, sie lassen sich mit keinem der bekannten Mikroorganismen hervorrufen. Erwähnt sei, daß das unsichtbare Kongium auf den betreffenden Nährböden bei einem Gehalt von 20 Proz. Glycerin noch gut gedeiht.

Ueberträgt man diese unsichtbaren Kulturen auf das Kalb, so erhält man gut ausgebildete, aber schwache Pusteln. Verimpft man dieselben auf die Cornea von Kaninchen und Meerschweinchen²⁾, so erhält man die bekannte Vaccinekeratitis. Mikroskopisch lassen sich in der geimpften Cornea die Guarnierischen Körperchen nachweisen. Damit ist der endgültige Beweis geliefert, daß dieselben keine Protozoen sind, sondern nur Zelldegenerationsprodukte, die unter dem Einflusse des Vaccinegiftes gebildet werden.

1) Die Herstellung dieser besonderen Nährböden, die vorläufig noch mit ziemlichen Schwierigkeiten verknüpft ist, soll später mitgeteilt werden.

2) Die Cornea des Meerschweinchens ist ebenso gut wie die des Kaninchens zur Impfung brauchbar. Ich habe das Vaccinevirus auf der Cornea des Meerschweinchens bis zur 40. Generation fortgezüchtet.



Die Virulenz des Vaccinevirus erlischt, wie wir bereits oben erwähnt haben, auf künstlichen Nährmedien, die bei 37° gehalten werden, in wenigen Tagen. Nur wenige Vaccinestämme sind in ihrer Virulenz so resistent, daß sie nach der 3.—4. Passage auf künstlichen Nährmedien die Fähigkeit der Pustelbildung bewahren. Gewöhnlich ist die Virulenz schon nach der zweiten Passage erloschen.

Das avirulente Virus ist auf künstlichen Nährböden beliebig lange fortzuchtbar.

Die dauernde Erhaltung der Virulenz auf künstlichen Nährböden ist mir bis jetzt nicht gelungen; das avirulente Virus erlangt nach Uebertragung auf das Kalb seine Virulenz nicht wieder.

Die Einverleibung der Kulturen in die Blutbahn von Kaninchen erzeugt eine äußerst starke Mastzellenleukocytose, über die ich an anderer Stelle¹⁾ eingehender berichten werde.

Ob das vollkommen abgeschwächte Vaccinevirus nach Injektion in den lebenden Organismus Immunität gegen eine nachfolgende Impfung mit virulentem Virus erzeugt, muß noch festgestellt werden.

Im voraus möchte ich mitteilen, daß ich weder Agglutinine noch Präzipitine im Serum immunisierter Kaninchen nachweisen konnte. Ueber antivirulicite und antitoxische Antikörper werde ich später berichten.

Bei den enormen technischen Schwierigkeiten, die sich bis jetzt den vorliegenden Untersuchungen entgegengestellt haben, war es eigentlich nicht meine Absicht, schon jetzt dieselben zu veröffentlichen. Die eingehende Untersuchung dieser interessanten Kulturen wird aber voraussichtlich noch geraume Zeit in Anspruch nehmen; um mir das vorliegende Arbeitsgebiet zu sichern, habe ich mich zu dieser vorläufigen Mitteilung entschlossen.

Die vorliegenden Untersuchungen habe ich während der Zeit von September 1904 bis August 1905 in dem medizinischen Laboratorium des Herrn Dr. Blum in Frankfurt a. M. durchgeführt.

An dieser Stelle sei es mir gestattet, Herrn Dr. Blum für die Ueberlassung eines Arbeitsplatzes in seinem Laboratorium, für die tatkräftige Unterstützung und das Interesse, das er diesen Untersuchungen entgegengebracht hat, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

1) Erscheint demnächst in der *Folia haematologica*.

Die Malaria in Athen.

Eine biologische und histologische Studie über die Malaria-plasmodien.

Von
N. Pezopoulo,
 ö. Prof. der pathol. Anatomie an der
 Universität Athen und Direktor des
 pathol.-anatomischen Institutes daselbst.

und
Dr. Jean P. Cardamati,
 langjährigem I. Assistenten der Uni-
 versitätsklinik in Athen.

Mit 2 Tafeln.

Im Osten von Athen und zwischen den nordwestlichen Ausläufern des Hymettus, sowie östlich vom Lykabettus erstrecken sich zwei ausge dehnte Stadtteile, namens Watrachonisi und Ampelokipi, in denen seit 1880 die Infanteriekasernen und andere staatliche und private Gebäude errichtet sind. In östlicher Richtung von Ampelokipi liegen zwei kleinere Bezirke, Gudi und Kandrawioti.

Das Terrain, auf dem die genannten Stadtteile liegen, hat nach der Landesvermessungskarte eine Ausdehnung von ungefähr 550 Stremma (Morgen) Landes. Es liegt 85—133 m über dem Meeresspiegel, enthält einige Hügel und wird von kleineren und größeren, meist ausgetrockneten Bachbetten durchzogen, die bald flacher, bald tiefer sich zu dem Wild- bache Ilessos vereinigen, der sich bei Phaleron ins Meer ergießt. Die geologische Beschaffenheit dieses Gebietes unterscheidet sich nicht von der des übrigen Attika. Der Erdboden besteht in Watrachonisi aus leicht verwitterbarem Kalkmergel, in Ampelokipi aus Schiefer von Athen, auf dem neuere Anschwemmungen auflagen, und in Gudi aus verstreuten Lagern von rotem Pikermiton und Schiefer von Athen.

Der Erdboden fast des ganzen Terrains ist an der Oberfläche trocken und wegen der vielen Anschwemmungen durchlässig. In Gudi ist letzteres nicht der Fall, weil das Gestein wasserdicht ist (Schiefer von Athen), und deshalb findet sich hier das Grundwasser in geringer Tiefe.

Da nun die Oberfläche dieses ganzen Terrains trocken ist, ist das Grundwasser fast überall in geringer Tiefe zu finden, und die dort an- sässigen Bewohner sammeln es in Brunnen und benutzen es sowohl zu ihren häuslichen als auch zu Gartenzwecken, sowie zum Trinken, da es sehr wohlschmeckend ist.

Der Pflanzenwuchs ist wegen der Trockenheit und infolge der An- ordnung der verschiedenen Lager sowohl auf dem angebauten wie auch auf dem unangebauten Boden sehr dürrtig, nur in Ampelokipi und Gudi gibt es einige Obstbaumpflanzungen, Gemüse- und Blumengärten, sowie auch mehrere Weinberge. Ein kleiner Teil wird auch mit Korn besät, besonders mit Gerste, die ja bekanntlich überall gedeiht, sogar auf Fel- dern mäßiger Güte.

In diesem oben beschriebenen Terrain brach im Hochsommer und Herbstanfang des Jahres 1901 eine sehr ausgedehnte Epidemie oder besser Pandemie von Malariafiebern aus, von denen ungefähr zwei Drittel der dortigen Bevölkerung und der dort kasernierten Soldaten befallen wurden. Um eine Idee von der Ausdehnung der Epidemie zu geben, genügt es, wenn wir anführen, daß von den 92 Mann, welche die Telegraphisten- kompagnie ausmachen, die in Gudi kaserniert war, 79 Mann von der Malaria befallen wurden. Indessen war trotz der Ausdehnung und der

Hartnäckigkeit derselben kein Todesfall zu verzeichnen. Die Epidemie brach im letzten Drittel des Monats Juli (mittlere Temperatur 27,82°) in Ampelokipi und Watrachonisi aus und verbreitete sich von dort in die benachbarten Stadtviertel. Die Ursache der Epidemie war demnach der Nebenbach „Phlewas“ und in zweiter Linie die übrigen Arme des Wildbaches Ilissos. Anfangs waren die Malariafälle vereinzelt, aber nach den Regengüssen des ersten Drittels des Augusts traten sie häufiger auf und erreichten ihren höchsten Stand vom 20. August (mittlere Temperatur 24,21°) bis Ende September (mittlere Temperatur 23,82°, letztes Drittel des Septembers 20,85°). Mit dem ersten Drittel des Oktobers begannen die primären Malariafälle abzunehmen, während die Rezidive sehr zahlreich waren. Als aber am 12. Oktober ein 12½-stündiger Regen eintrat, wodurch die Höhe des herabgefallenen Wassers auf 13,3 mm stieg, und die Lufttemperatur auf 12,55° sank, wurden auch die Malariafälle seltener und hörten gegen Ende des Monats November fast gänzlich auf. Auch in den Jahren 1902 und 1903 entwickelten sich auf demselben Terrain Epidemien der Malaria, welche aber viel weniger hartnäckig waren als die des Jahres 1901. Diese Epidemien, obgleich sie nicht so bedeutend waren, boten uns Gelegenheit, die Ursachen, welchen sie ihre Entstehung verdankten, zusammenzufassen, und uns mit der histologischen Untersuchung der Plasmodien zu beschäftigen. Die Resultate unseres längeren Studiums werden wir im folgenden auseinandersetzen.

Ursachen der Epidemie von 1901. Allgemein wird angenommen, daß die Ursache der Verbreitung der Malariafieber die *Anopheles*-Mücken sind, welche mit dem Blute an Malaria leidender Menschen infiziert sind. Wir suchten diese Art von Mücken auf und studierten dieselbe nicht nur in der epidemischen Zone, sondern auch in dem ganzen athenischen Becken. Aus unseren Untersuchungen ergab sich, daß in der ganzen Ausdehnung des Gebietes, das wir durchforschten, nur eine Species *Anopheles*-Mücken — in der epidemischen Zone in großer Menge — vorhanden war, der *Superpictus*, den wir nachstehend beschreiben werden. Zur reichlichen Entwicklung desselben in zahllosen Schwärmen trug in der epidemischen Zone der Bacharm „Phlewas“ bei, der während der letzten 20 Jahre ohne Wasser, seit dem Frühjahr 1901 bis zum Herbst desselben Jahres infolge der in diesem Jahre reichlich fallenden Regengüsse in Zwischenräumen Wasser bekommen hatte.

Auch die übrigen Nebenarme dieses Bettes, die sich durch Ampelokipi und Gudi ziehen, dienten wegen des reichlichen Regens des Sommers als Herde für die Vermehrung der *Anopheles*-Mücke *Superpictus*. Denn durch die Unebenheiten des Bettes bildeten sich, sei es durch Regenwässer oder durch Gewässer, die durch die Höhlungen des Bettes aufströmten, Tümpel, in denen Larven und Puppen der *Anopheles*- und gewöhnlichen Mücken in Menge vorhanden waren. Eine solche Entwicklung von mückenartigen Insekten war nach den Versicherungen der Aerzte und Bewohner dieser Bezirke in den Vorjahren nicht beobachtet worden, da das Frühjahr im Gegensatz zu dem des Jahres 1901 gewöhnlich sehr regenarm war.

Diejenigen *Superpictus*, die sich im Frühjahr entwickelten, dauerten während des Sommers und Herbstes fort, denn im Juli und August gingen reichliche Dauerregen nieder, welche das Bett des Ilissos feucht erhielten und an vielen Stellen stagnierende, meistens klare Gewässer bildeten, in denen Myriaden von Larven und Puppen der *Anopheles*-Mücken lebten.

Außer den Regengüssen, welche der Epidemie vorangingen, müssen wir anführen, daß im Frühling und Sommer dieses Jahres wegen der Anlegung neuer Wege viele Umwälzungen des Bodens stattfanden.

Auch in den folgenden Jahren 1902 und 1903 fanden wir auf demselben Terrain *Anopheles*-Mücken im Ueberfluß, immer von der Species *Superpictus*, denn auch in diesen Jahren waren Frühling und Sommer sehr feucht gewesen. Jedoch waren die Epidemien von geringerer Ausdehnung.

Im verflossenen Jahre 1904 war der Frühling ebenfalls regnerisch, und es entwickelten sich daher in Menge die *Superpictus*, welche jedoch im Laufe des Sommers verschwanden. Vielleicht ist dieses Phänomen dem während des ganzen Sommers wehenden Nordwind zuzuschreiben, welcher diese geflügelten Insekten wegfürte. Dabei ist zu bemerken, daß während dieses Frühjahrs in dem Terrain, das in den Vorjahren von der Malaria heimgesucht worden war, zahlreiche Fälle von Rezidiven vorkamen und daselbst im Sommer das Malariafieber nur sehr schwach auftrat; ganz im Gegenteil zu den vorhergehenden epidemischen Jahren, in denen die *Anopheles* sehr zahlreich waren. Aus den von uns angestellten Beobachtungen geht hervor, daß der Höhepunkt und das Sinken der drei Epidemien mit den gleichen Entwicklungsstadien der *Anopheles*-Mücken zusammenfallen, woraus sich ein Zusammenhang der ersteren mit den letzteren ergibt. Gegen die allgemein herrschende Meinung, daß die *Anopheles*-Mücken durch ihre Bisse den Keim der Malaria verbreiten, den sie von an dieser Krankheit leidenden Menschen erhalten haben, erhoben sich in letzter Zeit einige entgegengesetzte Meinungen. Der eine von beiden Verfassern der vorliegenden Arbeit (Cardamatis, Les épidémies de fièvre à Athènes. [Progress médicale de Paris. T. X. 1903. No. 42. p. 17]) neigt zu der Annahme, daß die genannten Mücken nicht die einzige Ursache für die Verbreitung der Malaria sind. Aber selbst wenn man annimmt, daß verschiedene Ursache der Verbreitung der Malaria existieren, so können trotzdem die genannten Mücken als hauptsächlichste Träger des Miasma angesehen werden, welches durch ihre Bisse in den menschlichen Körper gelangt. Das schließen wir nicht nur aus dem von uns über den Verlauf der parallelen Entwicklung der genannten Mücken und der vorliegenden Epidemien Gesagten, sondern auch aus folgenden Tatsachen:

a) Daß die meisten Malariafälle sich unter den Einwohnern, die ihre Wohnungen an den Ufern des Ilissos hatten, entwickelten, und b) daß bei Dionysos, am nördlichen Abhange des Pentelikon, wo sich die englische Gesellschaft zur Ausbeutung der Marmorbrüche eingerichtet hat, nach Versicherung des Arztes der Gesellschaft, sowie nach unseren eigenen Beobachtungen bei Stravovuni, wo ein Wildbach vorbeifließt, an dessen Ufern sich die genannte Mücke *Superpictus* findet, Malariafieber endemisch auftreten, während bei Pigadi, das 3 km von Stravovuni entfernt ist und höher liegt — dort sind die Bureaus, die Maschinenräume und die Wohngebäude der Beamten und es wohnen dort viele Arbeiter — niemals Malariafieber lokaler Herkunft konstatiert wurden. An letzterem Ort fanden wir weder in den Häusern und Stallungen, noch in der freien Luft einen *Superpictus*.

Beschreibung des Athener *Superpictus*.

Der *Superpictus*, den wir überall in jenem Terrain bei Athen fanden, gleicht dem italienischen, welcher von Grassi beschrieben wurde.

Die Flügel des Männchens und des Weibchens zeigen am vorderen Rande 4 längliche, parallel der Flügelachse liegende Flecken, welche mit bloßem Auge zu erkennen sind. Der erste Fleck erscheint gewöhnlich als von zwei Reihen schwarzer Punkte auf dem ersten und dritten der den Flügel durchziehenden Nerven gebildet, während sich der zweite Nerv gewöhnlich in der Höhe des Flecks mit dem dritten Nerven vereinigt. Manchmal besteht aber dieser Fleck aus drei gleichlangen Reihen, und das ist der Fall, wenn der zweite Nerv bis zur Wurzel des Flügels von den übrigen getrennt verläuft. Das geschieht gewöhnlich auf einem der beiden Flügel und besonders auf dem rechten, so daß sehr häufig bei einer und derselben Mücke der erste Fleck auf dem einen Flügel aus zwei Reihen und auf dem anderen aus drei Reihen gebildet wird. Der zweite Fleck besteht immer aus drei unterscheidbaren Reihen, von denen die innere nach vorne um ein Drittel kürzer ist als die beiden anderen. Der dritte und vierte Fleck zeigt immer zwei Reihen, denn der zweite Nerv endigt gleich oberhalb des dritten Flecks auf dem ersten Nerv. Der vierte Fleck jedoch, der an der Spitze des Flügels liegt, fehlt oft, und so haben viele Mückenflügel nur drei mit bloßem Auge wahrnehmbare Flecken. Außer diesen finden sich immer an der Wurzel der Flügel noch zwei andere mit dem Mikroskop oder einer einfachen Linse sichtbare Flecken, welche auf einer schwarzen Linie auf dem ersten Nerv zusammengesetzt sind. Im übrigen zeigt diese Mücke kein besonderes Merkmal.

Die Larven dieser Mücke erscheinen in den Bachbetten und überall da, wo fern von den Häusern stagnierende Gewässer vorhanden sind, im letzten Drittel des März und verschwinden Ende November, wenn die Temperatur dauernd unter 10°C fällt. Es scheint aber, daß im Anfang wenigstens zum Verschwinden derselben sehr die reichlich fallenden Regengüsse beitragen, deren Wasser den Boden rein wäscht und die Larven und Puppen aus ihren Schlupfwinkeln fortschleppt. Wenn wir nämlich Larven in einem mit Wasser gefüllten Reagenzglas in ein Zimmer brachten, dessen Temperatur nicht 10°C überstieg, so lebten sie bis zum Januar, verwandelten sich aber nicht in Puppen.

Diese Larven finden wir immer in klarem oder mäßig trübem Wasser, niemals aber in sehr schmutzigem. Es genügt oft auch nur die geringste Ansammlung von Wasser in Bodenvertiefungen von einigen Millimetern Durchmesser, damit sich die Larven entwickeln. In solchen begrenzten Wasseransammlungen fehlen Larven von gewöhnlichen Mücken gänzlich, wenn sich solche des *Anopheles* darin befinden.

Die Larven und Puppen verschwinden, wie wir schon gesehen haben, im Winter gänzlich, aber die *Anopheles*-Mücken dauern, wenn auch in geringerer Anzahl, fort und finden sich während sämtlicher Wintermonate in verschiedenen Verstecken, in Kellern, dunklen Zimmern, und besonders in den Pferdeställen. So erklärt es sich vielleicht, warum auch zu Wintersanfang noch, wie wir bemerkten, zwar sehr selten, aber doch unanfechtbare Malaria bei Individuen, welche früher nie daran gelitten hatten, vorkam. Die *Anopheles*-Mücken stechen bekanntlich gewöhnlich nur bei Nacht, ihr Stich ist meistens schmerzhaft und wird in den meisten Fällen von einer kleineren, die Wunde umgebenden Entzündung begleitet, manchmal ist er jedoch auch schmerzlos. Das hängt wahrscheinlich von der Empfindlichkeit der betreffenden Stelle ab, denn, wie wir zu wiederholten Malen bemerkten, waren die Stiche an einigen Stellen schmerzhaft, während sie in einiger Entfernung davon schmerzlos waren. Jedoch ist es nicht unwahrscheinlich, daß der Schmerz und die ihn begleitenden Entzündungs-

erscheinungen auch einer Infektion der Wunde durch die Stechorgane, welche zufällig infiziert waren, und nicht dem Sekret der Speicheldrüsen zuzuschreiben sind, denn wir bemerkten, daß nach den ersten künstlichen Saugungen der Mücke ihre weiteren Bisse immer schmerzlos und nicht von Entzündungserscheinungen begleitet waren. Dasselbe geschieht auch, wenn die Mücke 5—6 Tage nach ihrem Einfangen sticht.

Die in der freien Luft gefangenen *Anopheles* stechen leicht, wenn wir die Oeffnung des sie enthaltenden Glases auf die Haut setzen und dasselbe mit einem schwarzen Tuch bedecken, damit es darin dunkel wird. Die in Glasgefäßen dagegen gezüchteten *Anopheles* stechen nicht oder doch nur selten, und dann erst nach Verlauf vieler Stunden, nachdem wir die Oeffnung der Glasröhre auf die Haut setzten. Die Ursache dieser Erscheinung kennen wir nicht. Vielleicht ist die Meinung derjenigen richtig, die da glauben, daß die weiblichen *Anopheles*-Mücken erst nach ihrer Begattung stechen, welche, wie es scheint, nur in der freien Luft stattfindet, denn obgleich wir unter großer fortdauernder Aufsicht Hunderte von Mücken beobachteten, welche in unserem Laboratorium und im Hause ausgebrütet waren, so haben wir doch niemals bemerkt, daß sie zur Begattung geschritten wären. Diese Erscheinung hat vielleicht ihren Grund in dem Mangel an Lust dazu, der einem Magenleiden derselben zuzuschreiben ist, denn wir fanden fast immer die Magenepthelien sehr lang und gedunsen, als ob sie an hydropischer Degeneration litten.

Beschreibung der Malaria plasmodien.

Während der genannten Epidemien fanden wir bei den verschiedenen Kranken, deren Blut wir untersuchten, zwei Arten von Parasiten, das *Plasmodium praecox* und das *P. vivax*, ausnahmsweise auch das *Plasmodium malariae Laveranii*, aber nur bei zwei Kranken.

Plasmodium praecox. Diesen Parasiten fanden wir viel häufiger als das *P. vivax*. Er ist die Ursache verschiedener Fiebertypen, nämlich der Quotidiana, der schweren Tertiana, der Continua.

Das häufige Erscheinen dieses Parasiten wurde in den Monaten August, September und Oktober beobachtet, aber auch in den Wintermonaten und im Frühling war er nicht sehr selten, sowie bei Rezidiven und bei einigen seltenen primären Anfällen.

Dieser Parasit zeigt sich im frischen Blut meistens in Gestalt bald sehr kleiner lichter Körperchen ohne Pigmentkörnchen, bald in Gestalt von größeren durchsichtigen Sphären mit feinen Pigmentkörnchen, welche einen großen Teil des roten Blutkörperchens einnehmen, das ebenfalls licht ist, bald in Halbmondform. Die Pigmentkörnchen, besonders in den halbmondförmigen Parasiten, bewegen sich ziemlich lebhaft und lange Zeit nach Entnahme des Blutes. Der histologische und morphologische Charakter derselben kommt bei trockenen, mit alkalischem Methylenblau und Eosin gefärbten Präparaten mehr zur Erscheinung. Zur Färbung besonders gebrauchten wir aber eine Methode, die uns sehr schöne und konstante Erfolge gewährte, und die wir weiter unten beschreiben werden.

Bei solchen Präparaten zeigt sich nun der Parasit der sogenannten Aestivoautumnalfieber meistens bald in Gestalt sehr feiner und kleiner Ringe, welche $\frac{1}{25}$ — $\frac{1}{3}$ der physiologischen Größe des roten Blutkörperchens haben, bald in Kugelgestalt gleich $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ eines solchen Blutkörperchens, bald in Halbmondform. Die ringförmigen Parasiten erscheinen bald in sehr regelmäßigen Ringen, bald in sehr unregelmäßigen. Sie haben an einer Stelle ihrer Peripherie, gewöhnlich etwas nach außen her-

vorragend, ein Chromatinkörperchen, das sich lebhaft violettrot färbt. Dieses ist bald eiförmig, bald rund, und endlich nimmt es die Gestalt eines vollkommenen oder unvollkommenen Ringes an. Zuweilen scheint der Parasit aus zwei unvollständigen Ringen zusammengesetzt zu sein, von denen der eine aus blaugefärbtem Protoplasma, der andere aber aus violettrottem Chromatin besteht; beide hängen mit ihren Enden zusammen (Taf. I, Fig. 3). Nicht selten gibt es 2—3 Chromatinkörperchen in einem Ringe. Es existieren auch vollkommene und unvollkommene Ringe, welche sich sehr prächtig blau färbten, aber keine Chromatinkörperchen enthalten (Taf. I, Fig. 5—6). Dies bemerkten wir besonders bei sehr schweren Fieberfällen. Alle ringförmigen Parasiten enthalten einen durchsichtigen, farblosen Raum, welcher jedenfalls dem Kernplasma zuzuschreiben ist, denn während dieser Periode der Entwicklung des Parasiten bildet das Chromatin kein Netz, sondern ein dickes Körperchen, während es später, wenn der Parasit an Volumen zugenommen hat, besonders wenn er eine Kugel- oder Halbmondform annimmt, locker wird, und fast den ganzen durchsichtigen Raum anfüllt. Uebrigens befand sich auch in den Merozoiten derselben um das Chromatinkörperchen ein durchsichtiger Ring, welcher nur dem Kernplasma zugeschrieben werden kann (Taf. I, Fig. 1). Bei diesen kleinen Ringen zeigt sich das Protoplasma als eine feine Linie von gleichmäßiger Dicke. Sehr selten jedoch wird bei den größeren wahrscheinlich, welche sich zur Sphäre entwickeln sollen, diese Linie besonders an dem dem Chromatinkörperchen entgegengesetzten Teil stärker. Die Stellung des Chromatinkörperchens an einem Punkt der Peripherie, welche er unterbricht, indem er gewöhnlich nach außen hervorragt, wie der Stein in einem Ringe, machte uns den Eindruck, als ob dies zur Differentialdiagnose dieser in ihrer ersten Jugend befindlichen Ringe von den gleichen des *Vivax* und des *Plasmodium malariae* benutzt werden könnte, denn bei diesen liegt meistens das Chromatinkörperchen innerhalb der Peripherie und durch eine feine durchsichtige Linie von dieser getrennt. Natürlich ist dieses Charakteristikum nicht absolut sicher, denn zuweilen liegt auch bei den ringförmigen Parasiten des *Praecox* das Kernkörperchen etwas innerhalb der Peripherie, dagegen befindet es sich bei denen des *Vivax* und des *Plasmodium malariae* auf der Peripherie. Die kleinen ringförmigen Parasiten ergreifen die roten Blutkörperchen mit ihrer dem Chromatinkörperchen gegenüberliegenden Seite, indem sie sich zuerst auf ihren Rand ansetzen (Taf. I, Fig. 4 und 12). Außer diesen kleinen ringförmigen Formen finden sich auch größere, die gleichfalls ringförmig, sowie sehr unregelmäßig sind, und die im Zentrum ein großes Chromatinkörperchen besitzen, das von einem weiten durchsichtigen Hof umgeben ist (Taf. I, Fig. 9, 10, 11). Von der Peripherie dieses Ringes oder von einer seiner Seiten gehen fadenförmige Auswüchse aus, welche im letzteren Falle häufig untereinander verflochten sind und so ein feines protoplasmatisches Netz bilden. Einige von diesen fadenartigen Auswüchsen tragen an dem freien Ende bisweilen ein kleines Chromatinkörperchen. Die Größe dieser unregelmäßigen Parasiten oder Schizonten ist oft gleich der Hälfte der Größe eines roten Blutkörperchens. Sie sitzen immer auf einem solchen, während die kleinen ringförmigen bisweilen frei in dem Blutplasma schweben, gewöhnlich sitzen aber auch diese auf der Oberfläche der roten Blutkörperchen. Nicht selten finden wir bis zu 5 solcher kleiner Ringe auf demselben Blutkörperchen. Neben den unregelmäßigen Schizonten finden sich auch kugelförmige, nämlich Parasiten, welche sich in der vor der typischen Schizogonie liegenden Periode be-

finden. Diese kleinen Sphären stellen $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ der Größe eines physiologischen Blutkörperchens dar. Es haben aber auch diese, sowie die unregelmäßigen, meistens feine zerstreute Pigmentkörnchen und einen kleinen dicken Kern, der nicht von einem durchsichtigen Hof umgeben ist. Der Körper derselben ist an der Peripherie dick und tief blau gefärbt, während das Zentrum fein ist und sich eben färbt.

Die sphärischen Schizonten entstehen aus den ringförmigen Formen, indem das Protoplasma an seiner ganzen Peripherie dicker wird und sich verdichtet, während das Chromatinkörperchen sich in das Innere des Parasiten verlegt. Dieses Körperchen ist anfangs von einem breiten, durchsichtigen, allmählich aber sich verringernden und endlich verschwindenden Hofe umgeben.

Die derartige Entstehung der sphärischen Schizonten beobachteten wir sehr deutlich in dem peripheren Blutkreislauf an Malaria leidender Personen, in welchem sich alle zwischen den feinen ringförmigen und den in Schizogonie begriffenen Parasiten liegenden Formen vorfanden, wie die Bilder zeigen (Taf. I, Fig. 13, 14, 15).

Nach Plehn gehen diese ringförmigen Parasiten vor jedem Anfall, wenn auch nicht alle mit den sie tragenden roten Blutkörperchen, zu Grunde, und aus der Resorption der Produkte dieses Unterganges entsteht der Fieberanfall. Nur von einigen Parasiten wird mit dem Körper der Kern nicht zerstört, welcher als Hervorbringer eines neuen Parasiten dient. Diese Meinung stützt er einerseits darauf, daß vor dem Fieberanfall die ringförmigen Parasiten verschwinden, andererseits, daß er weder in den inneren Organen, noch in dem Mark der Knochen schizogonische Formen vorfand. Aus unseren vielfachen Betrachtungen ergibt sich zwar, daß, je mehr sich der Anfall nähert, die größeren Parasiten des *Praecox*, nämlich die unregelmäßigen und sphärischen Schizonten, sich verringern und endlich verschwinden. Es verringern sich auch sehr, in Bezug auf die Zahl, die ringförmigen; wir sind jedoch nicht der Meinung, daß alle Parasiten, die aus dem peripheren Kreislauf verschwinden, vollständig zerstört werden, sondern daß vielmehr die meisten von ihnen sich in die inneren Organe wenden, um sich dort zu vermehren, denn sobald der Anfall beginnt, erscheinen in dem peripheren Kreislauf zahlreiche ringförmige Parasiten, welche niemals aus den wenigen nach Plehn nicht zerstörten und zur Hervorbringung neuer Parasiten dienenden Kernen hervorgehen könnten. Die aus diesen entstehenden würden selbstverständlich von gleicher Anzahl wie genannte Kerne und daher weniger zahlreich sein, als die bei dem vorhergehenden Anfall vorhandenen. Auch wir bemerkten oft solche freie Chromatinkörperchen sowohl auf roten Blutkörperchen, als auch im Blutplasma, welche lebhaft violettrot gefärbt waren, aber wir glauben nicht, daß sie zur Wiedererzeugung von Parasiten dienen, sondern sie sind vielmehr zu schneller Zerstörung bestimmt, denn wir fanden gleichzeitig auf roten Blutkörperchen große schwarze Körner, die frei von jeder Umhüllung, oder von einer hyalin degenerierten, daher keinerlei Färbung annehmenden Protoplasmaschicht umgeben sind. Alle diese Körperchen sind tote Parasiten, bei denen in einigen derselben das Protoplasma nicht nur erstorben, sondern auch vollständig verschwunden ist, und nur das tote Chromatinkörperchen übrig bleibt.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Spirochaete, Spironema oder Spirillum?

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. Curt Thesing, Steglitz.

Vor allem sind es zwei neue Arbeiten, auf die ich hier näher eingehen muß, die von Herxheimer: Zur Kenntnis der *Spirochaete pallida* in No. 39 der Münch. med. Wochenschr., da sie sich gegen mich wendet, und die andere von F. Schaudinn: Zur Kenntnis der *Spirochaete pallida*, in No. 42 der Deutsch. med. Wochenschr. Im Anschluß daran werde ich auf einige eigene Beobachtungen kurz eingehen. Ich hoffe, in Kürze in einer ausführlichen Arbeit an der Hand von Photogrammen eingehendere Beweise führen zu können.

Als das wichtigste Ergebnis der neuesten Veröffentlichung von Schaudinn betrachte ich sein endlich, auf meine wiederholt erhobenen Einwände hin, erfolgtes Zugeständnis, daß das als „*Spirochaete Ziemanni*“ bezeichnete Flagellat nichts mit den übrigen Bakterien-Spirochäten und damit zugleich auch nichts mit der *Sp. pallida* zu tun hat. Denn das Zurückversetzen dieser Beziehungen in die „fernsten Zeiten der Stammesgeschichte“ erregt schwere Bedenken. Ich verkenne durchaus nicht die hohe Bedeutung und Notwendigkeit auch der theoretischen Spekulation für den wissenschaftlichen Fortschritt, aber eine derartige unbegründete Hypothese, wie der Vergleich des Gastrulazustandes der Metazoen mit dem (bisher überhaupt noch nicht nachgewiesenem!) Spirochätenstadium in der Phylogenie der Protozoen erscheint unzulässig.

Wichtig ist Schaudinns Zugeständnis, daß die „*Sp. Ziemanni*“ keine Spirochäte ist, vor allem deshalb, weil damit all die zahlreichen Arbeiten, welche sich ausschließlich auf diesen Punkt stützend die Protozoennatur der Spirochäten erweisen zu können glaubten, mit einem Schlage hinfällig geworden sind. Viele dieser Arbeiten sind aber überhaupt auch aus einem anderen Grunde schon hinfällig, weil Schaudinn nämlich jetzt eine ganz neue Charakteristik der *Sp. pallida* entwirft. Nach seinen letzten Untersuchungen unterscheidet sich die *Sp. pallida* von allen anderen Spirochäten vor allem dadurch, „daß der Organismus diese typische Spirale nicht nur im Zustande der Bewegung, sondern auch beim Stillstehen aufweist, während alle übrigen ähnlichen Spirochäten die spiralige, mit engen Windungen versehene Einrollung nur während der lebhaftesten Bewegung zeigen können, in der Ruhe aber in die flach gewundene, mehr der geraden Linie sich nähernden Gestalt zurückkehren. Das eigentümlich starre, man könnte sagen gedrechselte Aussehen der *Sp. pallida* beruht aber darauf, daß die Spirale bei ihr präformiert ist und nur gelegentlich bei Schädigung aufgegeben wird, während umgekehrt die übrigen Formen die enge Spirale nur gelegentlich bei lebhafter Rotation bilden, um bei Rückkehr zur Ruhe sich zu strecken.“

Hiernach muß ich konstatieren, daß dann die meisten von Schaudinn selbst bisher in Photogrammen reproduzierten Spirochäten keine echten *Sp. pallida* sein können, da bei ihnen die Windungen durchaus nicht starr und gedrechselt sind, sondern im Gegenteil in demselben Gesichtsfelde sowohl ganz flache, wie tief gewundene Spirochäten liegen.

Wichtiger ist aber etwas anderes. Nach Schaudinns neuer Diagnose kann die *Sp. pallida* fernerhin nicht mehr zu den Spirochäten gestellt werden, sondern erweist sich als ein *Spirillum*, oder als ein ganz unzweifelhaftes Bakterium, denn der wichtigste Unterschied zwischen Spirillen und Spirochäten ist ja gerade die Starrheit resp. die Flexilität der Windungen.

„Im konservierten Präparat entsteht nun die Schwierigkeit, daß beim Eintrocknen der Ausstriche auch die anderen Spirochäten gelegentlich (? d. Verf.) im Momente der lebhaftesten Bewegung vom Tode überrascht werden und eng gewunden erscheinen.“ Schaudinn rät dann als sicherstes Unterscheidungsmerkmal zwischen diesen Spirochäten und der *Pallida* zur Messung der Dicke auf mikrophotographischem Wege. Bekanntlich ist die mikrophotographische Dickenbestimmung bei so kleinen Objekten so ziemlich das unsicherste, was man sich denken kann, da, je nachdem man das Objekt etwas mehr oder weniger scharf einstellt, es dementsprechend dünner oder dicker erscheint.

Weiterhin entspricht Schaudinns Behauptung, nur die *Sp. pallida* besäße 10–26 enge Windungen, die anderen Spirochäten niemals, nicht den Tatsachen. Ich habe selbst Präparate und Photogramme von Mundspirochäten sowohl, wie von *Sp. Obermaieri* mit 11, 13 und mehr engen Windungen. Ja sogar das von Schaudinn selbst abgebildete Exemplar der *Sp. dentium* scheint, soweit es die etwas verwischte Zeichnung bei Lupenbetrachtung erkennen läßt, 11 enge Windungen zu besitzen. Ebenfalls ist es, wie jeder leicht feststellen kann, nicht richtig, daß nur die *Pallida* spitz auslaufende Enden hat, die übrigen stumpf abgerundete¹⁾. Trotz dieser angeblichen Unterschiede, gesteht Schaudinn selbst zu, gibt es Fälle, in denen man nicht zu einer sicheren Entscheidung kommen kann. Bei all solchen morphologischen Untersuchungen soll ein „gewisses Gefühl für das Typische“ notwendig sein. Bisher war es in der wissenschaftlichen Forschung nicht üblich, sich auf ein „gewisses Gefühl“ zu verlassen, sondern lediglich auf objektive Merkmale.

Endlich ist es Schaudinn gelungen, bei der *Sp. pallida* Geißeln nachzuweisen, und zwar soll die Spirale nach beiden Enden in je eine dünne Geißel auslaufen. Ich zweifle gar nicht an der Richtigkeit dieser Beobachtung, habe vielmehr selbst nach der Art der Bewegung auf das Vorhandensein solcher Geißeln geschlossen, wenn es mir freilich auch bisher nicht mit Sicherheit gelungen ist, im Leben die Geißeln zu erkennen. Nur ist dies natürlich absolut kein Beweis für die Protozoennatur, da ja viele Bakterien und gerade die Spirillen sehr deutliche Geißeln aufweisen.

Diese Feststellung Schaudinns überhebt mich der Widerlegung eines Punktes in der Arbeit von Herxheimer, der an dem einen Ende der *Pallida* eine knopfartige Verdickung abbildet, die er, da die Spirochäten auf einmal absolut Protozoen sein sollen, als ein Centrosom (warum?) anspricht. Herxheimer beschreibt dann aber noch andere Körnchen, und zwar „solche, welche deutlich im Spirochätenleibe liegen, solche welche an denselben gelagert sind, und endlich solche, die in der Nähe der Spirochäten liegen, aber mit dem Körper derselben in keiner

1) Auf den Abbildungen, welche Robert Koch in No. 47 der Dtsch. med. Wochenschr. von Recurrensspirochäten gibt, erkennt man deutlich, daß sie an beiden Enden nadelspitz auslaufen. Ebenfalls betont Koch, daß nichts für ihre Zugehörigkeit zu den Trypanosomen spräche.

Weise verbunden sind“. Ohne die Spur eines Beweises dafür zu erbringen oder auch nur zu versuchen, stellt Herxheimer die Behauptung auf, daß „die kleinen flachen Körperchen den kinetischen Kern oder Blepharoplasten“, die größeren Körperchen „den Kern“ und endlich die endständigen, wie erwähnt, „das Centrosoma“ darstellen. Veranlaßt wurde Herxheimer zu dieser Meinung wahrscheinlich durch Schaudinns Behauptung der Zugehörigkeit der Spirochäten zu den Flagellaten. Jetzt, nachdem Schaudinn selbst den einzigen Stützpunkt für diesen Zusammenhang, die Pseudo-*Spirochaete Ziemanni* fallen läßt, wird Herxheimer seine Vermutungen wohl auch kaum noch aufrecht erhalten wollen. Nach seinen Abbildungen liegt der Gedanke viel näher, daß diese Körnchen, soweit sie nicht Kunstprodukte sind, Endosporen darstellen können, wenigstens ist die Aehnlichkeit seiner Abbildung mit einem Photogramme von v. Ermenghem sehr auffallend. Uebrigens erbringt Herxheimer selbst, ohne es zu wollen, einen sehr wichtigen Beweis für die Bakteriennatur der *Sp. pallida*, indem er auf die doppelte Konturierung der Membran aufmerksam macht, die namentlich im Dunkelfeldphotogramm sehr deutlich sein soll.

Im Anschluß hieran möchte ich gleich auf etwas anderes kurz eingehen. Auf Anregung des Botanikers Magnus ließ ich im zoologischen Institut der Universität verschiedene Spirochätenarten einer Behandlung mit starker Kalilauge unterziehen, und es zeigte sich, daß sie dadurch in keiner Weise in ihrem Aussehen verändert werden. Ein weiterer Beweis für ihre Zugehörigkeit zu den Bakterien.

Den Schlußsatz von Herxheimers Arbeit: „Den Nachweis einer Geißel und damit den Beweisschluß (nämlich für die Protozoennatur der Spirochäten [D. Verf.]) werden wir später erbringen. Jedenfalls ist die Behauptung Thesings: ‚die *Spirochaete pallida* ist ein typisches Bakterium und nichts spricht für ihre Protozoennatur‘, unhaltbar“, bedauere ich nicht verstehen zu können. Was der Nachweis einer Geißel für die Protozoennatur eines Organismus beweisen soll, wo wir hunderte von Bakterien mit prächtigen Geißeln kennen, ist mir unbegreiflich.

Mit wenig Worten muß ich noch auf zwei Punkte in Schaudinns Arbeit zurückkommen. Während die *Sp. pallida* gut ausgebildete Geißeln besitzt, konnte bei ihr mit der Löfflerschen Methode keine Andeutung einer undulierenden Membran nachgewiesen werden, während umgekehrt bei den anderen untersuchten Spirochäten (*Sp. dentium*, *refringens*, *plicatilis* etc.) eine deutlich darstellbare undulierende Membran vorhanden sein soll. Auf den von Schaudinn seiner Arbeit beigegebenen Zeichnungen der genannten Spirochäten sind diese Verhältnisse deutlich zu erkennen.

Bereits im Jahre 1890 veröffentlichte Bütschli eine Arbeit: „Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen“, der bereits im Jahre 1896 eine ausführlichere Arbeit über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien und im Jahre 1902 eine weitere Untersuchung über das gleiche Thema folgte. In diesen sehr eingehenden und ideenreichen Arbeiten geht Bütschli auch speziell auf den feineren Bau der Spirochäten und Spirillen ein, was jetzt ja natürlich von ganz besonderem Interesse ist. Wie bei sehr vielen anderen Bakterienarten und auch den Cyanophyceen etc., so besteht auch der Körper der Spirillen und Spirochäten aus einem Zentralkörper und der meist wabige Struktur aufweisenden Rindenschicht = plasmatischen Hülle. Von diesen Ver-

hältnissen gibt Bütschli nicht nur instruktive Zeichnungen, sondern er belegt sie auch durch tadellos schöne Mikrophotogramme.

Da Schaudinn seinen Untersuchungen hauptsächlich die *Sp. plicatilis* zu Grunde gelegt und Bütschli unter vielen anderen auch gerade diese Art eingehend studiert hat, will ich mich hier ebenfalls vorwiegend an sie halten. Nach Bütschlis Photogrammen und Ausführungen wird die *Sp. plicatilis* (= *serpens* Ehb.g.) ihrer ganzen Länge nach durchzogen von dem fadenförmigen Zentralkörper, um den dann die plasmatische Rindenschicht in Form einer bald engeren bald weiteren Spirale verläuft. Es kommt dadurch ein Bild zu stande, welches typisch eine undulierende Membran, wie Schaudinn sie abbildet, vortäuscht. Namentlich im Leben kann man diese spiralige Plasmahülle, wie ich aus Erfahrung an anderen Spirochäten bestätigen kann, leicht mit einer undulierenden Membran verwechseln. Ganz ähnliche Verhältnisse im Bau weist Bütschli ferner bei verschiedenen Spirillen, Spirulina, Cyanophyceen, Schwefelbakterien etc. nach, deren Bakterien resp. Pflanzencharakter doch wohl niemand ernstlich in Zweifel ziehen will.

Ferner beschreibt Bütschli und bildet ab kleine Körnchen, welche dem Zentralkörper anliegen, die eine überraschende Aehnlichkeit mit den von Schaudinn abgebildeten und als „vegetative Kernmasse in der Form körnchenartiger Chromidien“ gedeuteten Körperchen haben.

Bereits 1890 ist Bütschli zu der Deutung gelangt, einer Ansicht, die Zacharias übrigens bereits drei Jahre vorher geäußert hatte, und welcher ich selbst zuzustimmen geneigt bin, daß der Zentralkörper der Cyanophyceen, Schwefelbakterien und natürlich auch der Spirochäten und Spirillen einen primitiven Zellkern darstellt. Deswegen wird man jedoch nicht diese Organismen den Protozoen angliedern dürfen.

Wir wissen, daß unsere systematischen Begriffe im letzten Grunde willkürliche Setzungen zur besseren Arbeitsteilung und der größeren Uebersichtlichkeit wegen sind; wir wissen ferner, daß (eine Ansicht die de Bary bereits 1884 ausgesprochen hat) die Bakteriaceen im Systeme wahrscheinlich den Flagellaten am nächsten stehen, trotzdem ist es unberechtigt sie nun auf einmal den Protozoen zurechnen zu wollen. Mit dem gleichen Rechte könnten wir seit Entdeckung des *Archaeopteryx* die Reptilien und Vögel, oder mit Bekanntwerden der *Peripatus* Würmer und Insekten in einer Klasse vereinigen.

Am Schlusse seiner Arbeit teilt Schaudinn noch mit, daß er wiederholt Individuen der *Sp. pallida* mit zwei Geißeln an einem Ende beobachtet hätte, die er als beginnende Längsteilung deutet. Nach Bütschlis Untersuchungen, denen ich mich auf Grund meiner Erfahrungen an den Schwanzfäden künstlich geschädigter Spermatozoen und den Membranellen der Ciliaten anschließe, ist die Zerfaserung der Geißeln in einzelne feine Fasern ein häufiger und durchaus normaler Vorgang, der mit einer Längsteilung in gar keinem Zusammenhange zu stehen braucht. Endlich sei noch erwähnt, daß Schaudinn auf Grund der besprochenen Unterscheidungsmerkmale die *Sp. pallida* von den übrigen Spirochäten abtrennt und für sie den Namen *Spironema* annimmt. Wie ich bereits anfangs ausführte, erscheint mir, wenigstens nach Schaudinns Diagnose, die Zurechnung zur Gattung *Spirillum* begründeter. Meiner Ansicht nach ist freilich die *Pallida* eine echte Spirochäte und nur die neue Diagnose irrtümlich.

Was nun die Frage nach der ätiologischen Bedeutung der *Pallida*

angeht, so kann ich nur auf meine diesbezüglichen Ausführungen in No. 28 der Münch. med. Wochenschr. verweisen, die noch immer zu Recht bestehen. Vor allen Dingen mahnen die fast stets negativen Befunde im Blute Syphilitischer zur Vorsicht. Sehr beachtenswert erscheint mir die Arbeit von Prof. W. Scholz, der im wesentlichen die gleichen Bedenken geltend macht, wie ich und seine Ansichten in folgendem Satze zusammenfaßt: „Wenn nach all dem, auch nach meinen Untersuchungen das häufige Vorkommen der *Sp. pallida* in syphilitischen Produkten als auffallend und beachtenswert betrachtet werden muß, so fehlt zum Nachweise ihrer ätiologischen Bedeutung doch noch viel. Das Vorkommen von Spirochäten, welche sich von der *Pallida* nicht unterscheiden ließen, in einem spitzen Kondylom¹⁾, sowie der relativ seltene und spärliche Nachweis in unverletzten luetischen Papeln (von mir gesperrt; der Verf.) mahnen jedenfalls zur Vorsicht.“

„Die Erklärung, warum die *Spirochaete pallida* so häufig und fast ausschließlich in luetischen Produkten vorkommt, wäre jedenfalls einfach, auch wenn diese Spirochäten keine ätiologische Bedeutung haben sollten; in allen syphilitischen Produkten liegt eine Gewebsveränderung spezifischer Art vor, welche sehr wohl einen besonders geeigneten, spezifischen Nährboden für die *Spirochaete pallida* abgeben könnte.“ (Der ganze Absatz von mir gesperrt; der Verf.)

Weiterhin führt Scholz aus, daß, wenn auch die typischen Formen der *Sp. pallida* und *refringens* sich wohl unterscheiden ließen, er „bisweilen Spirochäten gefunden habe, welche gewissermaßen eine Mittelstellung zwischen den charakteristischen Formen der *Pallida* und *Refringens* einnehmen“. Auch „mit den Differenzen der Färbung ist“ nach Scholz „nicht viel anzufangen, da es sich nur um quantitative Unterschiede handelt und sich auch die einzelnen Exemplare der *Sp. refringens* verschieden intensiv färben“.

Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich noch kurz die Untersuchungen von C. Grouven und H. Fabry erwähnen. Das der Arbeit beigegebene Mikrophotogramm, das mehr als 30 Exemplare der *Sp. pallida* in einem Gesichtsfelde zeigen soll, enthält in Wahrheit nicht eine einzige *Sp. pallida*, wohl aber zahlreiche verschiedene Mundspirochäten. Es ist ein Ausstrich von einer Lippensklerose!

Literatur.

- 1) Bary, A. de, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bakterien. Leipzig 1884.
- 2) Bütschli, O., Ueber den Bau der Bakterien und verwandten Organismen. Leipzig 1890.
- 3) — Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1896.
- 4) — Bemerkungen über Cyanophyceen und Bakteriaceen. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. Heft 1.)
- 5) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903.
- 6) Grouven, C. und Fabry, H., Spirochäten bei Syphilis. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 37.)

1) Vgl. auch Kiolemenoglou und v. Cube, denen der Nachweis der *Sp. pallida* bei einfacher Balanitis, im Eiter von skrofulodermatischen Abscessen, jauchigem Carcinom und einigen anderen nicht syphilitischen Produkten gelungen ist.

- 7) Herxheimer, K., Zur Kenntnis der Spirochaete pallida. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39.)
- 8) Kiolemenoglou und v. Cube, Spirochaete pallida (Schaudinn) und Syphilis. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 27.)
- 9) Migula, W., System der Bakterien. Bd. I u. II. Jena 1897 u. 1900.
- 10) Schaudinn, F., Zur Kenntnis der Spirochaete pallida. Vorläuf. Mitteilung.
- 11) Scholz, W., Ueber den Spirochätennachweis bei Syphilis. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 37.)
- 12) Thesing, C., Zu den Spirochätenbefunden bei Syphilis. (Berl. med. Wochenschr. No. 17/18.)
- 13) — Kritische Bemerkungen zur Spirochaete pallida bei Syphilis. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 28.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Pocken der Vögel, ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erreger.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Jena (Direktor:
Geh. Hofrat Prof. Dr. A. Gärtner).]

Von Oberarzt Dr. **Reischauer**, kommandiert zum Institute.

Die sogenannte Geflügelpocke (*Epithelioma contagiosum*) ist eine seit den ältesten Zeiten bekannte und anscheinend über alle Kulturländer verbreitete Infektionskrankheit des Hausgeflügels, namentlich der Tauben und Hühner, ferner der Puter, Fasanen und Gänse. Ob noch andere Vogelarten, sei es für die natürliche, sei es für die künstliche Infektion, empfänglich sind, ist unsicher oder unbekannt. Früher hielt man diese Krankheit allgemein für identisch mit der Variola oder ihr doch nahe verwandt. Im Altertum leitete man den Ausbruch von Pockenepidemien von erkrankten Hühnern ab, und im Mittelalter starben anscheinend blatternkranke Hühner massenhaft, ähnlich wie die Menschen. Erst als Rivolta (1869) in den erkrankten Zellen Gebilde fand, die er für Gregarinen hielt, änderte sich diese Auffassung. Bald darauf beschrieb Bollinger die Krankheit genauer, bezeichnete sie vom Standpunkte des Pathologen aus als Epitheliom und stellte sie zu den Tumoren. In den folgenden Jahrzehnten, welche durch die bakteriellen Entdeckungen beherrscht wurden, glaubte man Spalt- und Sproßpilze als Erreger anzusprechen zu sollen. Die neuesten Untersuchungen haben gezeigt, daß wir über das Wesen und über den Erreger der Krankheit eigentlich sehr wenig wissen. Ich glaubte daher, daß es eine dankbare Aufgabe sein würde, diese Affektion genauer zu studieren, und ging dabei namentlich von dem auch von Marx und Sticker ausgesprochenen Gesichtspunkte aus, ob es nicht möglich sein würde, auf diese Weise Aufschlüsse, sei es über den Erreger der Pocken, sei es über die Aetiologie der Krankheiten, welche in den erkrankten Zellen charakteristische Einschlüsse zeigen, zu gewinnen. Haben wir doch in den Hühnern und Tauben ein ausgezeichnetes Laboratoriumsmaterial, in dem der Parasit seine volle Virulenz entfalten kann, viel besser als dies z. B. bei den Corneaimpfungen der Kaninchen der Fall ist. In den folgenden Ausführungen werde ich über die Ergebnisse meiner Arbeiten berichten, werde zunächst die klinischen Erscheinungen kurz zusammenfassen, dann die histologischen Gewebsveränderungen schildern und zugleich Gelegenheit nehmen, auf die Beziehungen dieser Krankheit zu den echten Pocken einzugehen.

Schließlich werde ich die Frage nach dem Erreger der Affektion genauer erörtern.

I.

Eine Beschreibung der klinischen Erscheinungen dieser Krankheit ist wiederholt gegeben worden (z. B. von Bollinger, Csokor, Polowinkin, Pfeiffer, Marx und Sticker) und findet sich außerdem in den Lehrbüchern der Vogelkrankheiten. Ich beschränke mich daher hier darauf, eine kurze, aber möglichst vollständige systematische Uebersicht der verschiedenen Symptome, welche ich nirgends habe finden können, zu geben.

Wie schon der Name sagt, handelt es sich um eine Infektionskrankheit, die nicht selten epidemisch auftritt, und den Geflügelhof, in den sie eingedrungen ist, vollständig durchseucht. Die Inkubation beträgt im Mittel 5—8 Tage, die Krankheitsdauer gewöhnlich 3—5 Wochen. Von den Symptomen der Krankheit sind am meisten bekannt und am besten beschrieben die Veränderungen der Haut. Hier bilden sich typische kleine Tumoren, auf deren histologischen Bau ebenfalls der Name hindeutet.

Am häufigsten entstehen die Tumoren zweifellos an den unbefiederten Teilen des Kopfes, am Kamm, an den Kehl- und Ohrklappen, an den Augenlidern und an der Nasenwurzel und Nasenschuppe. In zweiter Linie sind befallen die wenig- und kurzbefiederten Stellen, namentlich des Kopfes: die Umgegend des Schnabels, von Auge und Ohr, die Kehlgegend, schon seltener die übrigen Teile des Kopfes, die Beine und die Umgebung der Kloake, bei den Wasservögeln die Schwimmhäute.

An allen diesen Körperstellen kann die Affektion lokalisiert bleiben und kann sich auf die Eruption eines solchen primären Tumors beschränken; meistens jedoch treten im Umkreise noch eine Reihe von sekundären Effloreszenzen auf (lokalisierte Form). Weiter kann man eine disseminierte oder generalisierte Form abgrenzen; hier treten namentlich an den bereits erwähnten, aber auch an allen übrigen Stellen des Rumpfes und der Flügel viele, oft sehr zahlreiche, meist kleinere Knötchen oder Papeln auf. Schließlich kommt noch eine konfluierende oder diffuse Form vor, bei welcher sich so zahlreiche Effloreszenzen bilden, daß sie zusammenfließen, und größere oder kleinere Hautflächen sich mit gelbbraunen, meist stark nässenden Krusten bedecken.

Die typischen Epitheliome haben die Größe eines Hirsekorns, einer Erbse, Bohne oder Maulbeere, einzelne Autoren erwähnen sogar kirschgroße (Bollinger) und klein-walnußgroße Tumoren (Mégnin). Sie sehen graugelblich aus oder haben die braunrote Farbe des Blutschorfs, ihre Konsistenz ist derb, oft knorpelhart. Ihre Oberfläche kann glatt und hornig sein, meist ist sie rau, borkig, höckerig; Salmon vergleicht ihr Aussehen ganz passend mit den Hautwarzen der Kinder (Verruca).

Von dieser typischen und zweifellos häufigsten Form kommen indessen zahlreiche Abweichungen vor. Schon die erwähnte bösartige, diffuse Form, welche in wärmeren Gegenden nicht selten zu sein scheint, zeigt nichts von Tumorbildung. Auch beim leichtesten abortiven Krankheitsverlauf haben wir nur eine flache, papulöse Verdickung der Haut; die Stelle bedeckt sich nach einigen Tagen mit einer trockenen Kruste, welche später abfällt, ohne eine Narbe zu hinterlassen. Ein noch anderes Aussehen gewinnt die Affektion nach der Schilderung Mégnins, welcher

sie den Pocken an die Seite stellt, und wie bei diesen 4 Perioden unterscheidet: „Une d'invasion, une d'éruption, une de sécretion et une de dessiccation.“ Er schreibt weiter: „Während der ersten, welche 5—6 Tage dauert, ist der Vogel traurig, sitzt zusammengekrümmt da, läßt die Flügel hängen und frißt nicht. Während der Eruptionsperiode, welche ebenso lange dauert, treten in der Umgebung der Augen, am Hals, unter den Flügeln, an der Innenseite der Beine wenig erhabene Pusteln von der Größe einer kleinen Linse und von rotvioletter Farbe auf. Die Allgemeinsymptome sind dieselben. In der Periode der Sekretion wird die Kuppe der Pusteln weiß, und sie selbst nehmen eine gelbliche Farbe an. In der vierten Periode verschwinden alle fieberhaften Symptome, die Pusteln trocknen aus, werden zu bräunlichen Krusten, welche abfallen. Alle Symptome der Krankheit verschinden und der Vogel ist geheilt.“ Fast dieselbe Beschreibung geben Rivolta und Delprato nach einem Zitat aus Bénion. — Aehnliches schreibt Bollinger: „Nach Heusingers Forschungen erwähnen schon die ältesten indischen Autoren die Pocken des Geflügels, wobei die große Infektionsfähigkeit der Krankheit besonders betont wird. Unter den Erscheinungen des Fiebers und Appetitmangels brechen die Pusteln am Kopfe in der Umgebung der Ohren und Augen und auf der oberen und unteren Zungenfläche aus. Unter allmählicher Verbreitung auf den übrigen Körper erfolgt der Tod nach 4—5-tägiger Krankheit. In den heißen Ländern kommen nach Guersent bei den Vögeln Pusteln vor, sehr ähnlich den Pocken. Diese bis jetzt sehr unvollkommen beschriebene Krankheit trat in Italien bei den Tauben sehr häufig auf, die Mortalität betrage jedoch nur 5 Proz.“

Hill schreibt, daß „die Hühnerpocken beim Truthahn als kleine gelbliche, von einem roten Hof umgebene Bläschen auftreten. 12 bis 14 Tage nach ihrem Erscheinen trocknen sie ein, das Fieber verschwindet und allmählich tritt Heilung ein. (Dies so sehr pockenähnliche Exanthem hat anscheinend Brugone zu der Behauptung verleitet, daß es ihm gelungen sei, den Truthahn mit Erfolg zu vaccinieren. Er wollte darauf eine Immunisierungsmethode gründen, welche dann als ‚Dindonade‘ besungen und karrikiert wurde [Pfeiffer].) Bei Gänsen nehmen die Pusteln am Halse nicht selten an Größe zu und bilden Geschwüre. Die Federn fallen aus, Hautfetzen können abgestoßen werden, und die hieraus entstehenden Schädigungen sind so ernster Natur, daß ein tödlicher Ausgang nichts Ungewöhnliches ist.“ Vale beschreibt die Krankheit bei Hühnern als kleine Knötchen, welche zuerst erweichen, dann aufbrechen und eine gelbliche Flüssigkeit absondern, die Ränder der so gebildeten Geschwüre sind hart und leicht gewulstet. Neue Knötchen bilden sich dann rings um die ersten Geschwüre und verfallen derselben Degeneration. Infolge des Sekrets bilden sich trockene, gelbliche Krusten. Rivolta und Delprato sprechen von Papeln, welche eine seröse oder serös-eiterige Flüssigkeit absondern, wenn die sie bedeckende Gewebsschicht irgendwie lädiert wird, „die Federn werden hierdurch beschmiert, und wenn Zersetzung eintritt, so entsteht ein sehr häßlicher Zustand“. Sie fanden an gerupften Vögeln auch flache Papeln mit einer seichten zentralen Delle, viele hatten auch ein kleines Loch in der Mitte. Ganz ähnlich ist die Beschreibung von Salmon.

Diese etwas bunte Zusammenstellung von Zitaten zeigt deutlich, daß wir es hier mit einem sehr vielgestaltigen Exanthem der Haut zu tun haben. Diese Erscheinung erklärt sich am besten, wenn man das

Entstehen und Verschwinden der Effloreszenzen in Betracht zieht. Sie beginnen mit einer soliden, bald mehr flachen, bald konischen Verdickung der Haut, welche, wie schon erwähnt, bis Kirschgröße heranwachsen kann, worauf ihre Rückbildung erfolgt. Diese Rückbildung kann aber auch schon bei den kleineren Formen, den Papeln und Knötchen, eintreten, und je nach der Natur der Degeneration entstehen wieder andere Bilder. Bei einfacher Nekrose haben wir trockene Borken oder Krusten, bei Sekundärinfektionen treten nässende Papeln oder Ulcerationen ein, mit nachfolgender Narbenbildung. Bei den größeren Knoten oder Knollen (richtig Tuberculum oder Phyma, aber nicht Epitheliom) beginnt die Rückbildung häufig zentral durch teils fettige, teils käsige Degeneration der zelligen Elemente. Das Charakteristische der Effloreszenzen ist also eine mehr oder weniger starke Hyperplasie und Wucherung der zelligen Elemente der Haut, welche früher oder später der Degeneration anheimfällt.

Nächst der Haut können alle sichtbaren Schleimhäute in spezifischer Weise von der Krankheit befallen werden. Am häufigsten sind wohl Affektionen der Mundhöhle. Es bilden sich hier flache, kondylomähnliche Erhabenheiten auf, unter oder neben der Zunge, am Gaumen und Rachen und am Kehlkopfengang. Die Schleimhaut über ihnen ist anfangs wenig verändert, später bilden sich grangelbliche, käsige Massen, welche diphtherischen Membranen sehr ähnlich sehen, und zu Verwechslungen Veranlassung geben. Häufig ist auch die Conjunctiva befallen, klinisch wechselt das Bild von der einfachen katarrhalischen Conjunctivitis bis zur akuten Blennorrhöe und zur Nekrose. Ferner kann die Nickhaut erkranken, die Cornea, und nach Perforation derselben auch das innere Auge. Auch die Schleimhaut der Nase und ihrer Nebenhöhlen wird manchmal in Mitleidenschaft gezogen. Auf die Einzelheiten dieser bisher nicht sichergestellten und einheitlich beschriebenen Schleimhautaffektionen muß ich im histologischen Teil noch zurückkommen. Hier genügte es mir, zu konstatieren, daß als zweites Hauptsymptom der Geflügelpocken typische Erkrankungen der sichtbaren Schleimhäute auftreten.

Als drittes Symptom kommen dann noch Allgemeinerscheinungen hinzu, die namentlich bei der diffusen Form sehr ausgesprochen, bei der lokalisierten Form oft sehr gering sind; ob sie ganz fehlen, läßt sich bei diesen Tieren wohl schwer feststellen. Sie bestehen in Appetitlosigkeit und Teilnahmslosigkeit, die Tiere sondern sich von den anderen ab und sitzen meist still da. Sie lassen die Flügel hängen, die Federn sind gestäubt, Fieber wird häufig erwähnt (Zörn konstatierte bis 42,8°). In schwereren Fällen tritt eine auffallende Abmagerung ein, dann folgt allgemeiner Kräfteverfall, und unter den Erscheinungen der Cyanose tritt der Tod ein. Einen solchen Fall sah ich bei einer jungen Taube, welche einging, nachdem sie fast einen Tag lang komatös dagelegen hatte. Weder in Kulturen, die mit dem Herzblut angelegt wurden, noch in meinen Schnittpräparaten konnte ich Bakterien nachweisen, ich glaube daher annehmen zu dürfen, daß sie der spezifischen Infektion erlegen ist. Die Schwere der Allgemeinerscheinungen ist bei den einzelnen Epidemien sehr verschieden, hängt ferner ab von dem Kräfte- und Futterzustand des Tieres, weniger vom Alter und vom Sitz der Affektion. Auch die Mortalität ist außerordentlich schwankend, Durchschnittszahlen sind daher nicht anzugeben.

Erkrankungen der inneren Organe sind nicht sicher nachgewiesen,

viele in der Literatur angeführte Sektionsbefunde ergaben keine Veränderungen (Bollinger betont eine ausgesprochene Anämie), auch in meinem Falle habe ich nichts gefunden. Dagegen häufig und für diese Affektion fast typisch sind die Misch- und Sekundärinfektionen. Sie beruhen zum Teil auf den gewöhnlichen Eitererregern, zum Teil sind es die Erreger der Taubendiphtherie und der hämorrhagischen Septikämie, welche die Erkrankungen komplizieren und nicht selten für das Leben der Tiere verhängnisvoll werden.

Schließlich ist noch von großer Wichtigkeit das Auftreten der Immunität, welche in allen Fällen eintritt, noch während das Exanthem besteht, und welche eine vollständige, und anscheinend bei dem kurzen Leben der Tiere eine dauernde ist, wenigstens habe ich nirgends gegen- teilige Angaben gefunden. Marx und Sticker fanden sie nach 5 Monaten noch vollständig.

Fassen wir unsere bisherigen Ausführungen nochmals zusammen, so haben wir in dem Epithelioma contagiosum des Geflügels eine Infektionskrankheit vor uns, deren Symptome bestehen in einem polymorphen, meist knötchenförmigen Exanthem der Haut und einer spezifischen Erkrankung der sichtbaren Schleimhäute. Dazu treten fieberhafte Allgemeinerscheinungen und nach Ueberstehen der Krankheit Immunität.

Dieser Symptomenkomplex ist charakteristisch für eine Gruppe von Krankheiten, welche wir unter dem Namen der akuten Exantheme zusammenfassen und zu deren Hauptvertretern die Pocken der Säuger und des Menschen gehören.

Aus den angeführten Tatsachen geht zur Genüge hervor, daß das Exanthem der Haut, welches ich hier zunächst in Betracht ziehe, unter Umständen dem der Vaccine sehr ähnlich sein kann, enger sind jedoch entschieden die Beziehungen zu den Schafpocken. Bei diesen finden wir dieselben Prädilektionsstellen an den nicht oder schwach bewollten Teilen, namentlich des Kopfes. (Sie sind charakteristisch für die Pocken der Tiere überhaupt.) Auch hier kommt eine solitäre Form vor in Gestalt kleiner, harter Tumoren (Stein- oder Warzenpocke, oft perianal), ferner eine disseminierte Form, die ebenfalls mehr papulöse, knötchenartige Gestalt zeigen kann, und schließlich eine den oben beschriebenen sehr ähnliche diffuse, deren nässende Krusten häufig in stinkende Zersetzung übergehen, daher bei beiden Tiergattungen die Bezeichnung Aaspocke. Diese diffuse Form ist ja auch bei der Variola nichts Seltenes. Auf weitere Beziehungen zwischen den Erkrankungen der Schleimhäute komme ich später.

So viel glaube ich schon jetzt konstatieren zu können, daß das klinische Gesamtbild der Geflügelpocken dem der echten Pocken sehr ähnlich ist. Diese Aehnlichkeit gibt auch Bollinger zu, „sie läßt“, sagt er, „es leicht begreiflich finden, daß den früheren Beobachtern die Identität dieses Prozesses mit den wirklichen Pocken zweifellos erschien“. Es müssen also wichtige histologische Unterschiede vorhanden sein, welche den Pathologen veranlaßten, mit den älteren Anschauungen zu brechen und der Krankheit den Namen Epithelioma contagiosum beizulegen. Es wird daher nötig sein, die histologischen Veränderungen der erkrankten Gewebe genauer zu prüfen, bevor wir die Frage erledigen können, ob wir es hier mit einer Pockenkrankheit zu tun haben oder nicht.

Bemerken möchte ich noch, daß ich prinzipielle Unterschiede zwischen

Hühner- und Taubenpocken klinischer und histologischer Art, wie sie manche Untersucher (z. B. Juliusberg) annehmen, nicht habe finden können.

II.

Das Material für meine Studien verdanke ich Herrn Privatdozenten Medizinalassessor Dr. Klee hier, dem ich hierfür sowie für Ueberlassung von Literatur meinen verbindlichsten Dank sage. Es bestand in zur Untersuchung eingeschickten Köpfen resp. Geschwulstmassen von zwei Hühner- und zwei Taubenepidemieen. Die Tumoren wurden zum Teil zu Untersuchungszwecken verwandt, zum Teil zerkleinert und, mit Glycerin verrieben, zu einer Lymphe verarbeitet, die in Kapillaren eingeschmolzen wurde und dann zur Impfung der Tiere diente. Es wurden geimpft 6 Hühner und 8 Tauben, im ganzen 14 Tiere. Zur Vermeidung zufälliger anderer Infektionen wurden sie auf dem Markte gekauft und entstammten ganz verschiedenen Zuchten.

Die von mir angewandte Technik war folgende: Die exzidierten Gewebstücke und Organe wurden möglichst frisch in konzentrierter Sublimat-Kochsalzlösung, zum Teil auch nach Flemming fixiert, in steigendem Alkohol (bei ersterem mit Jodtinkturzusatz) gehärtet, dann in Bergamottöl und Alcohol abs. $\bar{a}\bar{a}$, Bergamottöl, Bergamottöl und Paraffin $\bar{a}\bar{a}$ und schließlich in reines Paraffin übertragen. Die durch die übliche Behandlung gewonnenen Blöcke wurden in Serienschritte von 2—5 μ Dicke zerlegt, diese mit Eiweißglycerin zu je 5—20 auf Objektträger aufgeklebt, auf 70° im Trockenschrank erhitzt, mit Xylol, Alkohol und Wasser behandelt und dann gefärbt. Verwandt wurde eine ganze Reihe von Färbemethoden; ich will sie kurz anführen und einige Bemerkungen hinzufügen.

1) Die Mehrzahl der Schnitte wurde mit G i e m s a s Azur-Eosinlösung (Grübler) gefärbt, welche mir sehr gute Resultate lieferte. Am besten überfärbt man etwas und differenziert vorsichtig mit $\frac{1}{2}$ -proz. Essigsäure. Diese Methode ergibt klare Uebersichtsbilder, eine sehr scharfe Kernfärbung und läßt alle hier in Frage kommenden Gebilde am deutlichsten hervortreten. Auf die ausgezeichnete Bakterienfärbung habe ich bereits in einer früheren Arbeit hingewiesen.

Als Kontrollfärbungen benutzte ich: 2) B i o n d i - E h r l i c h s Orange-Säurefuchsin-Methylgrünlösung (Grübler). Die Reaktion der auf 1:30—50 verdünnten Farblösung muß ganz schwach sauer sein, um eine gute Differenzierung zu erzielen. 3) H e i d e n h a i n s Eisenhämatoxylinfärbung. Ich entfärbte ziemlich stark und färbte gar nicht oder mit Eosin nach. 4) Sehr gute Dienste leistete mir auch die Methylblau-Eosin-färbung nach M a n n, auf deren Wert namentlich Negri und B o s c aufmerksam machten. 5) Ganz brauchbar erwies sich eine von v. W a s i e l e w s k i bei seinen Vaccinearbeiten angewandte Alaunfuchsin-Hämatoxylinfärbung. 6) Bei Fixierung nach Flemming gut geeignet ist die Färbung mit Saffranin und Gegenfärbung mit Indigokarmin und Pikrinsäure. 7) Für manche Zwecke wurde die Säurefuchsin-Pikrinsäurefärbung nach A l t m a n n verwendet, vereinzelt ferner die gewöhnliche Hämatoxylin-, die v a n G i e s o n s c h e und die L o e f f l e r s c h e (Methylblau-) Schnittfärbung.

(Forts. folgt.)

Zur Anatomie zweier Cestoden.

[Aus der zoologischen Abteilung des städtischen Museums in Bremen.]

Von Dr. Ludwig Cohn, Bremen.

Mit 4 Figuren.

Aus Amphibien war bisher nur eine einzige Cestodenart (in geschlechtsreifem Zustande) bekannt, welche dafür eine um so weitere Verbreitung hat, in der alten und der neuen Welt, in Anuren und Urodelen vorkommt: *Nematotaenia dispar* (Goeze). Unter den Anuren ist sie allerdings auf die Phaneroglossen beschränkt — und bezeichnenderweise ist es gerade eine Art der abseits stehenden kleinen Gruppe der aglossen Anuren, aus deren Darne ich heute eine neue Cestodenart zu beschreiben in der Lage bin. Im Duodenum und hauptsächlich in der vorderen Hälfte des Dünndarmes von *Xenopus laevis* Daud., aus *Angra Pequena* in Südwestafrika, fand ich sowohl ganz junge Scolices, als auch ausgewachsene Cestoden in größerer Zahl. Der Prozentsatz der infizierten Frösche scheint ein recht hoher zu sein, denn unter sechs untersuchten Exemplaren (Spiritusmaterial des hiesigen Museums) wiesen vier den Parasiten auf, und zwar zwei nur vereinzelt Individuen, der dritte wenige Cestoden, während der vierte im Mitteldarm ein ganzes Konvolut enthielt, das ich — die jungen Scolices mit eingerechnet — auf ca. 100 Exemplare schätze. Außer den Cestoden fanden sich in den Därmen der Frösche nur Insektenlarven, doch ist es wahrscheinlich, daß *Xenopus laevis*, ein ausgesprochenes Wassertier, das den größten Teil seines Lebens im Wasser verbringt, und hier seine Nahrung sucht und verzehrt, auch Fischen nachstellt, aus denen er sich seinen Parasiten holt. Ich benenne den neuen Cestoden nach seiner Kopfform und seiner Heimat

Chlamydocephalus namaquensis n. gen. n. sp.

In gestrecktem Zustande wird *Chl. namaquensis* bis zu 18 mm lang und mißt dann in der Breite maximal 0,5 mm; bei stärkerer Kontraktion wächst die Breite aber bis zu 0,8 mm. Auf den Scolex folgt ein kurzes querverzweigtes Schaltstück, das sich auch bei totaler Streckung der Cestoden nicht weit ausziehen scheint. Die ersten, gleich breiten Proglottiden setzen sich erst un deutlich ab, wie denn bei der schwachen Ausbildung der Ringmuskulatur (siehe weiter unten) die Proglottidengrenzen auch sonst später wenig ins Auge fallen. Anfangs bedeutend breiter als lang, nehmen die Glieder recht schnell an Länge zu, so daß bereits Proglottiden, welche die Geschlechtsreife noch lange nicht erreicht haben, an gut gestreckten Exemplaren ungefähr quadratisch sind, wie Fig. 2 zeigt. An einem der längsten Individuen zählte ich ca. 50 Proglottiden, wenn ich die vorderen un deutlich abgesetzten nicht mit einrechne.

Der Scolex ist mit 0,72 mm Länge relativ recht groß; seine charakteristische Gestalt gibt Fig. 1 wieder. Die beiden kurzen, saugnapfartig kräftigen Sauggruben sind 0,3 mm lang und entsprechen den Seitenrändern des Scolex, während der dorsalen und ventralen Fläche je eine Platte aufliegt. Diese beiden Platten sind an ihrem unteren, breit abgerundeten Rande frei und scheinen einer ausgiebigen Bewegung fähig zu sein. Sie können, wie ich an einzelnen der zum

Vergleich durchmusterter Scolices sah, tief schüsselförmig durch Erhebung der dabei gekrausten Ränder sich ausbuchten; andererseits kann auch wieder das auf der Abbildung (im Ruhezustand) breit abgerundete Hinterende sich stark in die Länge strecken und zuspitzen. Aus der Fähigkeit, sich schüsselförmig einzubuchten, ist die Funktion der Platten als Saugorgane klar: Wenn sie sich flach aufpressen und dann die mittlere Partie einziehen, so mag eine ganz beträchtliche Saug-



Fig. 1.

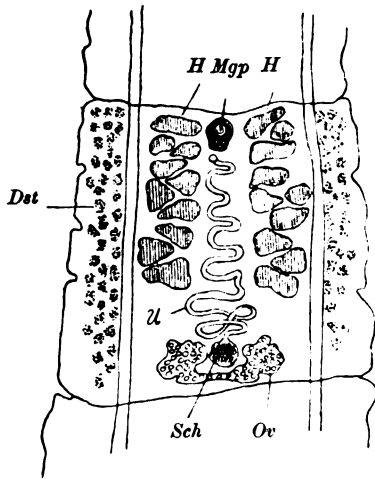


Fig. 2.

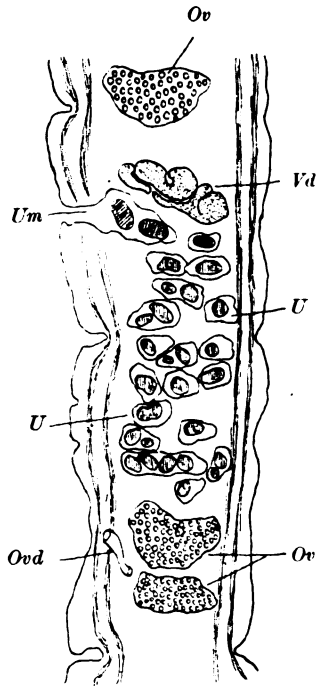


Fig. 4.

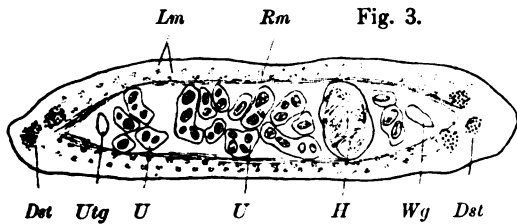


Fig. 3.

Fig. 1. Scolex von *Chl. namaquensis*.

Fig. 2. Nach einem Totalpräparat. Junge Proglottis von *Chl. namaquensis*. Ov Ovarium, Dst Dotterstock, H Hoden, U Uterus, Sch Schalendrüse, Mgp Genitalporus.

Fig. 3. Querschnitt durch eine reife Proglottis von *Chl. namaquensis*. Buchstaben wie oben. Wg Wassergefäße.

Fig. 4. Medialer Schnitt einer Sagittalserie durch reife Proglottiden von *Chl. namaquensis*. Buchstaben wie vorher. Um Uterusmündung.

wirkung resultieren, wobei sich dann die Platten infolge ihrer Beweglichkeit jeder Oberflächenbeschaffenheit des Darmepithels anzupassen vermögen.

In der Muskulatur des *Chl. namaquensis* wiegt die Längsrichtung über. Die Längsmuskeln (Fig. 3 u. 4) sind in zwei Ringen angeordnet, die beide aus zahlreichen Längsbündeln bestehen. Zwischen beiden Ringen ebenso wie auch nach innen von denselben verläuft je eine Schicht schwacher Diagonalmuskeln. Da das Mittelfeld recht breit und die gesamte Muskellage dick ist, andererseits auch das Epithel relativ

hoch ist, so ist das freie parenchymatische Außenfeld der Proglottiden auf eine recht geringe Breite beschränkt.

Vom Wassergefäßsystem konnte ich nur den einen weiten Längsstamm mit seinen Querkommissuren an den hinteren Proglottidengrenzen sehen; der andere engere Gang ist mir jedenfalls entgangen, weil ich aus anderen Rücksichten recht gut gestreckte Exemplare zu Schnittpräparaten verwendete. Auch vom Nervensystem kam mir nur der Hauptlängsnerv jeder Seite zu Gesicht; der Erhaltungszustand ließ das Auffinden der anderen, jedenfalls sehr dünnen Längsnerven nicht zu, an deren Vorhandensein ich übrigens aber nicht zweifle.

In Bezug auf den Genitalapparat fällt die scharf ausgesprochene Proterandrie auf. Bereits weit vorne, wo sich die Proglottiden kaum erst scharf voneinander absetzen, treten die Hodenanlagen auf; sie entwickeln sich dann sehr rasch, und die Hodenbläschen haben ihre definitive Größe erreicht, wenn sich die weiblichen Drüsen und Gänge noch auf früheren Entwicklungsstufen befinden. Andererseits bleiben die Hoden aber auch sehr lange erhalten, da ich sie selbst in vollreifen Proglottiden, deren Uterus in voller Funktion ist, finde, und zwar noch scheinbar funktionsfähig, mit Sperma gefüllt. Die Hoden liegen im Mittelfelde, symmetrisch in zwei lateralen Längsstreifen, und haben meist Keilform mit breit abgerundetem Hinterrande; meist liegen sie so, daß sich die spitzen Keilenden zwischen einander schieben, wie es Fig. 2 zeigt. Die Zahl der Einzelhodien ist weder in den verschiedenen Proglottiden einer Kette, noch auch in den beiden Hodenfeldern derselben Proglottis gleich; sie schwankt für ein Feld zwischen 7 und 12. Der dorsoventrale Durchmesser der Hoden ist recht bedeutend, so daß sie das Mittelfeld in dieser Richtung ganz ausfüllen und dorsal wie ventral an die Transversalmuskelnzüge stoßen (Fig. 3). Die Vasa efferentia konnte ich nicht auffinden; wenn auch der Erhaltungszustand der Cestoden im ganzen nicht schlecht und die Tinktionsfähigkeit daher eine nicht ungenügende ist, so ließ sie doch bei der Verfolgung feinerer Gänge im Stich. Ebenso gelang mir die Entwirrung der weiblichen Gänge in der Schalendrüse und um dieselbe nicht (die Frösche sind unaufgeschnitten in Alkohol geworfen worden, und außer der derben Haut kommt bei *Xenopus* noch die starke Bauchmuskulatur sowie der Verschlussapparat an der Analoöffnung des Weibchens als Hindernis für das Eindringen des Alkohols in Betracht). Die beiden Vasa deferentia ziehen recht weit voneinander getrennt nach dem Vorderrande der Proglottis hin und münden mit kurzem, unpaarem Endstück in die median, ganz vorne an der Proglottidengrenze gelegene, stark gewundene Vesicula seminalis. Ebenda befindet sich das Genitalatrium, in welches der Cirrus mündet. Der Cirrus ist lang und dünn; eine Bewaffnung ist nicht nachzuweisen. Die männliche Oeffnung liegt in der vorderen Ecke des mehr in der Längsachse des Gliedes gestreckten Genitalatriums, während die Vagina, oder vielmehr deren zu einer langen Vesicula erweitertes und aufgerolltes Anfangsstück dahinter mündet.

Für die weiblichen Genitalorgane ist die relativ geringe Entwicklung der Dotterstöcke charakteristisch, die in der Rindenschicht beiderseits nach außen von den Wassergefäßstämmen liegen. Recht groß hingegen ist das Ovarium, ein hantelförmiges Organ, das mehr als den dritten Teil der Proglottidenbreite am Hinterende des Gliedes einnimmt. Die Flügel bestehen aus mehreren Lappen, doch sind zwei, ein vorderer und ein hinterer, jederseits am stärksten entwickelt (siehe auch Fig. 4). In

dorsoventraler Richtung füllt das Ovarium, ebenso wie die Hoden, das Mittelfeld ganz aus. Ist daher nach ihm die Bestimmung der Rücken- resp. Bauchfläche der Kette ebenso unmöglich, wie nach den Hoden, so ist diese Orientierung doch durch die Vereinigung aller drei Genitalöffnungen auf einer Fläche (also der ventralen) gegeben. Die Ovarialeier sind in reifem Zustande ca. 0,038 mm groß. Der große runde Kern ist bläschenförmig, fast dem halben Durchmesser der ganzen Eizelle gleich. Neben diesen typischen Eizellen finden sich im Ovarium noch kleinere Zellen, deren Plasma sich (im Gegensatz zu den ersteren) intensiv gefärbt hat, und deren Kern einen kompakten Bau infolge Auftretens zahlreicher kleiner Kernkörperchen aufweist. Ob es sich hier um Nährzellen oder um junge Eizellen handelt, kann ich nicht sagen, da ich sie nicht in situ fand. Vielfach schien mir die Form der Eizellen auf eine amöboide Beweglichkeit hinzudeuten, da die lobosen stumpfen Vorwölbungen nicht auf frühere gegenseitige Abplattung (die sich ja auch sonst nachträglich bei geringerer Füllung des Ovariums ausgleicht) zurückgeführt werden könnten.

Die Schalendrüse liegt median und der ventralen Fläche genähert der Brücke des Ovariums vorgelagert. In reifen Proglottiden schlägt der Uterus gleich nach dem Verlassen der Schalendrüse eine quere Richtung ein, so daß seine erste Schlinge dem Ovarium dicht anliegt. Bis nahe an die Wassergefäße herantretend, steigt der Uterus dann in eng aneinander gelagerten Querwindungen nach dem Vorderende der Proglottis auf, sich zwischen die Hoden drängend und dorso-ventral nicht immer in derselben Ebene verlaufend. Die letzte Querschlinge geht dann in ein etwas breiteres Endstück über, welches nahe hinter dem Genitalatrium in der Medianlinie der Proglottis nach außen mündet (Fig. 2 u. 4). Die Anlage des Uterus tritt schon zeitig auf, und zwar als geradliniger, medianer Gang, der bis zur Höhe der späteren Ausmündung reicht. Die Windungen nehmen erst allmählich an Zahl zu, verlaufen anfangs auch steiler und weiter auseinandergezogen.

Die Eier liegen im Uterus nächst dem Ovarium dicht gedrängt; sie messen 0,075:0,04 mm. Der geringen Entwicklung der Dotterstöcke entsprechend, enthält das reife Uterusei nur relativ wenig Dotter, der auch sehr bald aufgebraucht zu werden scheint, da ich in Eiern, die sich auf dem Vierzellenstadium befanden, nichts mehr von freiem Dotter wahrnehmen konnte. Die Teilung der Eizelle in die beiden ersten Blastomeren tritt schon im Anfang der ersten Uterusschlinge auf, also gleich nach dem Verlassen der Schalendrüse, so daß die Befruchtung also schon sehr frühzeitig stattgefunden haben muß. Die Eier sind relativ dünnshalig und gedeckelt.

Trotz der mehr medianen Lage der Hoden stimmen die oben beschriebenen Cestoden aus *Xenopus laevis* so gut mit der Diagnose der Subfamilie *Dibothriocephalinae* Lühe überein (Braun, M., Bronns Klass. u. Ord. d. Tierreiches. Vermes I b. p. 1688—89), daß ich sie hierzu zähle. Die Diagnose des neuen, von ihnen vertretenen Genus lautet:

Ordnung: *Pseudophyllidea* Carus.

Familie: *Dibothriocephalidae* Cobb.

Subfamilie: *Dibothriocephalinae* Lühe.

Genus: *Chlamydocephalus* Cohn.

Diagnose: Scolex unbewaffnet, mit zwei seitenständigen Sauggruben und zwei flächenständigen Kopfplatten. Hals kurz, Totallänge gering, Genitalorgane einfach. Hoden in zwei submedianen Seitenfeldern, gering

an Zahl, Dotterstöcke seitlich in der Rindenschicht. Ovarium median, zweiflügelig am Hinterende. Uterus ein in dem Mittelfelde gewunden nach vorn aufsteigender Schlauch, der nahe dem Vorderende median mündet. Genitalporen vor der Uterusmündung. Eier gedeckelt.

Typische Art: *Chlam. namaquensis* Cohn.

Wohnort: In Amphibien (*Xenopus laevis*).

In der Sammlung des Museums fand ich ein Glas mit einer größeren Anzahl von Exemplaren eines Cestoden, darunter meist jüngere, das die Etikett trug: „Sammlung Krause, Im Darm von *Erethizon*. 11. V. 82. Thakan-Thal.“ Da dieses in Alaska liegt, so stammen die Parasiten also aus dem dort heimischen *Erethizon epixanthus* Brandt. Es ergab sich, daß es Anoplocephalinen waren, und zum Genus *Bertia* gehören. Bei Berücksichtigung der Literatur lagen nun zwei Möglichkeiten vor: die *Bertia* mit der *Taenia laticephala* Leidy oder mit *Bertia americana* Stiles zu identifizieren.

Stiles¹⁾ äußert sich über Leidys²⁾ Art, wie folgt: „Leidy has given a short description of a tapeworm (*Taenia laticephala*) from the Canada Porcupine which agrees in some characters with the form I described (*Andrya americana*) from the yellow-haired Porcupine. I am unable to find Leidys types, but it seems to me very questionable whether the two parasites are identical.“

Ich gebe zu, daß die Diagnose, welche Leidy gibt und Stiles zitiert, nicht sonderlich eingehend ist. Da Stiles seine Exemplare aus *E. epixanthus* hatte, Leidy dagegen aus *E. dorsatus*, so konnte immerhin ein Speciesunterschied vorliegen, der in der allgemeinen Charakteristik Leidys nicht zur Geltung kam.

Hinterher hat aber Stiles selbst einige Exemplare gefunden, die er in einer Anmerkung in derselben Arbeit zitiert, und welche, mit seiner *B. americana* ganz übereinstimmend, aus *E. dorsatus* stammten. Damit fällt aber meines Erachtens der Grund fort, Leidys Charakteristik seiner *T. laticephala* als ungenügend zu betrachten. Ich glaube, sie genügt nun, bei nachgewiesener Identität des Wirtstieres, um die species inquirenda *T. laticephala* aus der Welt zu schaffen, indem sie richtig in *Bertia laticephala* (Leidy) umbenannt wird; *B. americana* Stiles würde dann als Synonym dazu zu gelten haben.

Der Beschreibung, welche Stiles von den Genitalorganen gibt, ist wenig hinzuzufügen. Ueber den Uterus bemerkt er: „The development of the uterus could not be followed in detail, but eventually it occupied the entire median field and becomes filled with ova 40 μ in diameter“. In jüngeren Proglottiden legt sich der Uterus als einfacher querverlaufender Schlauch in der Mitte der Proglottidenlänge an. Da die weiblichen Genitaldrüsen von der Mittellinie stark nach dem Porusrande verschoben sind, so ist sein antiporales Ende weit länger, als das porale. Beiderseits reicht er bis dicht an die inneren Wassergefäßstämme. Im weiteren Verlauf der Entwicklung treibt dann der Uterusschlauch nach vorne wie nach hinten weite Divertikel, die sich an ihren Enden gabeln können und sich bei weiterer Ausbildung dicht aneinander lagern, ohne aber zu verschmelzen. In reifen Gliedern, nach dem Schwunde der

1) Stiles, Ch. W., A revision of the adult tapeworms of hares and rabbits. (Proceed. United States nat. mus. Vol. XIX. 1897. p. 165—166.)

2) Leidy, J., Notices of some tapeworms. (Proceed. acad. nat. sc. Philadelphia. Vol. VII. 1856. p. 443.)

weiblichen Drüsen (während aber ein Teil der Hoden noch erhalten ist), füllt er dann fast das ganze Mittelfeld aus, in seinem vorderen und hinteren Teil scheinbar durch longitudinale Scheidewände geteilt — den aneinandergestellten Wandungen der einzelnen Divertikel.

Als eine Eigentümlichkeit der vorliegenden Cestoden erwähnt Stiles in der Anmerkung 2, daß „in several segments (transverse sections) I found the dorsal canals connected with the transverse canals“. Auch mir ist dieses Verhalten aufgefallen, und zwar ist es die Regel. Die beiden Hauptlängsstämme des Wassergefäßsystemes sind hier am Hinterende jeder Proglottis durch eine Kommissur verbunden, die einen stark gewundenen Verlauf nimmt, sich unterwegs auch unter Inselbildung gabelt. Anstatt nun, wie es sonst die Regel ist, daß der engere dorsale Wassergefäßstamm sich an der Abgangsstelle der Kommissur mit dem Hauptstamme verbindet, entsendet er hier einen Querast, der erst weit in deren Verlauf sich mit der Kommissur selbst verbindet. Dieses Verhalten könnte, im Zusammenhange mit der Inselbildung der Kommissur, welche ja auch eine nur sehr seltene Erscheinung ist, zu der Hypothese Anlaß geben, daß ursprünglich die beiden Wassergefäße jeder Seite sich mit denen der anderen selbständig verbanden und so dem Nervenringe an jedem Proglottidenende auch ein Gefäßring entsprach.

Zum Schlusse noch eine Bemerkung bezüglich der neuesten Publikation über das Genus *Bertia*¹⁾.

Bourquin erwähnt die von Zschokke²⁾ vorgenommene Dreiteilung des Genus *Bertia*, wo Zschokke unter die Charakteristik seiner Gruppen A, B und C auch die Zahl der Nervenstränge aufgenommen hat. Nach ihm hat Gruppe A jederseits drei Längsnerven (also die Hauptnerven mit den beiden Begleitnerven), während B und C jederseits nur einen haben sollen.

Bourquin sagt nun, indem er sich scheinbar dieser Unterscheidung anschließt: „*B. Studeri* se place en tête du groupe A, caractérisé par la présence de trois nerfs longitudinaux latéraux“ etc. Andererseits aber setzt er mit Bestimmtheit die *B. plastica* auf Grund seiner eigenen Untersuchungen in die Gruppe C — und er hat doch selbst bei diesem Cestoden außer den dorsalen und ventralen Medianenerven auch die Begleitnerven der Hauptlängsstämme nachgewiesen! Ich bin mit seinem Vorgehen in Bezug auf die Zuerteilung der *B. plastica* zur Gruppe C vollkommen einverstanden; nur beweist eben dieser Fall wieder, daß die stets wiederkehrenden Angaben, bei einem Tetraphyllideen seien nur 2 Seitenstämme vorhanden, ganz unzulässig ist (ebenso wie die über das Fehlen der medianen Längsstämme). Wo ein Tetraphyllidee bisher genügend und an günstigem Material untersucht worden ist, haben sich stets alle 10 Längsnerven gefunden; wir müssen also endlich dieses als allgemeingültig anerkennen, und mangelhafte Untersuchung oder unzulängliches Material für ein abweichendes Resultat verantwortlich machen. Aus den Merkmalen aber, nach welchen das Genus *Bertia* in seine drei Untergruppen geteilt wird, ist die Angabe über das Nervensystem zu streichen.

Bremen, den 10. Oktober 1905.

1) Bourquin, J., Cestodes des mammifères. (Extr. de la Revue d. zool. Suisse. T. XIII. 1905.)

2) Zschokke, F., Neue Studien an Cestoden aplacentaler Säugetiere. (Zeitschr. f. wissensch. Zoologie. Bd. LXV. 1899.)

Nachdruck verboten.

Ueber *Pentastomum denticulatum* beim Menschen.

[Aus der inneren Abteilung des Krankenhauses Bethanien in Berlin
(dirigier. Arzt Prof. Dr. Zinn).]

Von Dr. **Hans Laengner**, Assistenzarzt der Abteilung.

Fast bei jeder Sektion wird die besondere Aufmerksamkeit des Obduzenten durch kleine, stecknadelkopf- bis hanfkorngroße, bisweilen verkalkte Knötchen in Anspruch genommen, die bald in diesem, bald in jenem Organe gefunden werden, und deren sichere Deutung makroskopisch nicht immer zu geben ist, sondern erst mikroskopisch gelingt.

Nach den Erfahrungen an unserem Sektionsmaterial findet man derartige Knötchen besonders oft in der Bauchhöhle, und hier ist wiederum der Darm die häufigste Fundstätte derselben.

Es kann sich bei diesen Gebilden um tuberkulöse Prozesse, um entozoische Bildungen — und hierauf soll im folgenden näher eingegangen werden — um verkalkte Chylangiome, kleinste Tumormetastasen, auch um die sogenannten Kalkmetastasen handeln. Schließlich wäre es wohl denkbar, daß bei Infektionskrankheiten, wie z. B. Typhus und Scharlach, die zu einer starken Mesenterialdrüenschwellung Veranlassung geben, diese entzündlichen Veränderungen nach ihrer Abheilung Verkalkungen hinterlassen.

Nimmt man die Möglichkeit der Tuberkulose an, so kommen, abgesehen von Resorption, bei der angegebenen Stecknadelkopf- bis Hanfkorngröße nur Verkalkungen von Miliartuberkeln oder einem Konglomerat von mehreren derselben in Frage. Selten wird es gelingen, in diesen Kalkkonkrementen noch Tuberkelbacillen nachzuweisen und damit ihre Natur sicherzustellen. Sollte dieser Beweis nicht zu erbringen sein, so könnte eventuell die Anwesenheit von noch nicht völlig verkalktem Käse oder von in der Umgebung der Verkalkung befindlichen frischen Tuberkeln oder tuberkulösen Ulcerationen den nötigen Aufschluß geben.

Was die Chylangiome anbetrifft, so findet man dieselben am häufigsten in den oberen Dünndarmabschnitten, bisweilen in recht großer Zahl. Sie zeichnen sich durch ihre gelbe Farbe aus, sitzen entweder auf der Höhe der Plicae semilunares und flottieren mit ihnen bei auffallendem Wasserstrahl oder sie befinden sich zwischen denselben und sind dann stets über die Oberfläche erhaben. Außer an ihrer gelblichen Farbe erkennt man sie bisweilen an einer feinen Körnelung, den einzelnen erweiterten Chylusgefäßen entsprechend, aus denen sich das Gebilde zusammensetzt. Diese Körnelung fehlt auch bei völliger Verkalkung nicht. Sehr charakteristisch für sie ist ihre unregelmäßig zackige Begrenzungslinie.

Die Erkennung von kleinsten Tumormetastasen dürfte auf keine Schwierigkeiten stoßen.

Findet man Fälle mit kleinen Verkalkungen in den Mesenterialdrüsen, bei denen man für Tuberkulose keinen Anhalt hat, so kann man die Möglichkeit, daß dieselben von einer früher überstandenen Infektionskrankheit, wie Typhus oder Scharlach, herrühren, nicht ganz von der Hand weisen. Denn man kann sich vorstellen, daß Krankheiten, die zu einer so heftigen Enteritis und Lymphdrüenschwellung führen, bei ihrer Abheilung derartige Spuren hinterlassen. Der gleichzeitige

Befund von atrophischen glatten, pigmentierten Peyer'schen Haufen dürfte die Wahrscheinlichkeit dieser Möglichkeit noch erhöhen.

Immerhin muß man aber daran festhalten, daß die Tuberkulose viel häufiger zu derartigen Veränderungen führt, und daß es bisher nicht möglich ist, einen zwingenden Beweis dafür zu erbringen, daß dieselben durch andere Infektionskrankheiten bedingt sind.

Gar nicht zu verkennen sind die sogenannten Kalkmetastasen, von denen Virchow und Grohé berichten. Nach Virchow handelt es sich dabei um eine metastatische Ablagerung von Kalksalzen, die aus den Knochenlücken durch Resorption verschwunden sind. In allen von den genannten Autoren beschriebenen Fällen handelte es sich um maligne Neubildungen, die zahlreiche Metastasen ins Knochensystem gesetzt hatten. Die Kalkmetastasen treten mehr flächenhaft auf, sind nicht über die Oberfläche des betreffenden Organs erhaben. Die befallenen Stellen erscheinen trüb, undurchsichtig, weißlich, bald mehr gleichmäßig, bald etwas fleckig und fühlen sich sehr trocken und resistent an. Mikroskopisch erweisen sich die Kalkmetastasen im Darm als Einsprengungen in das Zwischendrüsengewebe.

Während man die bisher genannten Prozesse schwerlich miteinander verwechseln wird, kann ein Irrtum zwischen echten Tuberkeln und den nun zu besprechenden, durch Entozoen, und zwar vornehmlich durch *Pentastomum denticulatum* verursachten Befunden schon eher möglich sein.

Schon Virchow sagt in seinen „Helminthologischen Notizen“, daß beim Menschen das *Pentastomum* am häufigsten von allen Entozoen zu Verwechselungen mit echten Tuberkeln Veranlassung gibt, und zwar nicht sowohl bei Leber, Niere und anderen Organen, als ganz besonders im Darm. Er sagt: „Was den letzteren Ort betrifft, so finde ich, daß fast alle kleineren Knoten des submukösen Gewebes, welche früher als verkreidete oder verkalkte Tuberkel beschrieben wurden, abgestorbenen Pentastomen angehören.“

Pentastomum denticulatum ist bekanntlich die Larvenform eines zu der Klasse der Arthropoden gehörigen Parasiten, der *Linguatula rhinaria*.

Beim Menschen sind sowohl der Parasit selbst als auch die Jugendform beobachtet worden. Für gewöhnlich lebt der Parasit in der Stirn-, Nasen- oder Kieferhöhle von Hunden, Schafen, Pferden, Wölfen oder Ziegen. Die Schmarotzer verursachen eine starke Entzündung der betreffenden Schleimhaut, ihre Eier gelangen mit dem dabei reichlich produzierten Schleim nach außen und werden so entweder auf andere Tiere oder z. B. durch verunreinigte Nahrungsmittel auch auf den Menschen übertragen.

Die ausgeschlüpften Embryonen wandern durch die Magen- resp. Darmwandung und erreichen entweder so oder im Blut oder in den Lymphgefäßen schwimmend die verschiedensten Organe, wo sie sich mit einer bindegewebigen Kapsel umgeben.

6—7 Monate sind dann erforderlich, um aus dem Embryo die Larve, *Pentastomum denticulatum*, hervorgehen zu lassen, welche sodann die Encystierung durchbohrt, um in die Außenwelt zu gelangen.

Zuerst wurde auf das Vorkommen von *Pentastomum denticulatum* beim Menschen von Zenker in Dresden hingewiesen, der dasselbe in 4,69 Proz. der Fälle antraf. Andere Autoren, wie Heschl, Wagner, Frerichs, bestätigten diese Befunde. Virchow glaubte nach seinen Erfahrungen eine lokale Verschiedenheit des Auftretens annehmen zu

müssen; denn während er in seiner Würzburger Tätigkeit nur einmal „ein paar verkalkte Pentastomen an der Leberoberfläche“ fand, gibt er an, in Berlin 5mal diese Larvenform gefunden zu haben, allerdings nicht unter wie viel Sektionen.

Auch Klebs und Zaeslin wiesen auf das ziemlich seltene Vorkommen in Süddeutschland und der Schweiz hin: auf 900 Sektionen soll 1 Fall, resp. auf 1914 Sektionen 2 Fälle kommen.

Wir konnten bei rund 500 Sektionen 15mal *Pentastomum* konstatieren, also in 3 Proz. der Fälle. Der Parasit wurde 7mal in der Leber, 7mal in der Darmwand, 1mal im Mesenterium gefunden. Was das Geschlecht anbetrifft, so kamen auf das männliche 10, auf das weibliche 5 Fälle, das Alter war bei allen höher als 30 Jahre.

Im allgemeinen wird überall als Hauptfundstätte die Leber angegeben, und daß das Vorkommen in anderen Organen, wie dem Darm, selten sei.

So fanden sich nach Peiper in 22 von Sievers zusammengestellten Fällen die Pentastomen 16mal in der Leber, 1mal in Leber und Dünndarm, 3mal im Dünndarm, je 1mal in Milz und Lunge.

Auch Orth spricht nur von einem „gelegentlichen Vorkommen von *Pentastomum* in der Darmwand“.

Ich möchte nach unseren Ergebnissen meinen, daß die *Pentastomum*-Knötchen im Darm häufiger sind als für gewöhnlich angenommen wird, und daß dieselben entweder übersehen oder nicht als solche erkannt werden.

Sie stellen sich als ungefähr hanfkorngroße Gebilde dar von etwas länglicher, elliptischer Gestalt und grauweißer Farbe. Sie sind — wenigstens am Darm — stets über die Oberfläche etwas erhaben, fühlen sich derb an und lassen, was von großer Wichtigkeit ist, sehr oft in ihrem Innern die hufeisenförmig gebogene, durch ihre helle Färbung sich deutlich von ihrer Umgebung abgrenzende Larve erkennen.

Besonders schön bekommt man die letztere bei Betrachtung in durchfallendem Lichte zu sehen.

Bei der Erhebung dieses Befundes ist die Diagnose schon ziemlich sicher.

Der absolut sichere Beweis wird durch den Nachweis der starken Doppelkrallenfüße der Pentastomen erbracht, der nach Aufhellung in Anilinöl resp. vorheriger Entkalkung meistens gelingt.

Außer dem *Pentastomum denticulatum* ist es meines Wissens nur noch ein Parasit, der eventuell zu ähnlichen Bildungen in der Darmwand führen kann, nämlich *Oxyuris vermicularis*, den O. Wagener an dieser Stelle zuerst gefunden hat. Diese von *Oxyuris* gebildeten Knötchen unterscheiden sich von den durch *Pentastomum* hervorgerufenen hauptsächlich durch ihre geringere Größe, die meist nur einem Stecknadelkopf entspricht. Ferner haben sie eine mehr runde Form und eine graue, opake Farbe. Ihr Lieblingssitz scheinen die Peyerschen Haufen zu sein, wogegen die Pentastomen sich überall in der Darmwand finden. Wegen der Einzelheiten verweise ich auf die Arbeiten von Wagener (Dtsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI. 1904 und Virchows Archiv. Bd. CLXXXII. 1905) und eine demnächst hier erscheinende Mitteilung von Edens, die sich ebenfalls auf unser Sektionsmaterial gründen.

Was bei meinen Befunden, wie ich glaube, bemerkenswert ist, ist

die verhältnismäßig hohe Zahl der in der Darmwand gefundenen Pentastomen, die mit der in der Leber übereinstimmt.

Wendet man diesem Punkte eine ganz spezielle Aufmerksamkeit zu, so werden voraussichtlich die positiven Ergebnisse meine Zahlen noch übertreffen.

Außer den, wie oben berichtet, in Anilinöl aufgehellten Knötchen wurden noch sieben andere, die teils aus dem Darm, teils aus der Leber stammten, in Serienschnitte zerlegt, um vielleicht über den Parasiten selbst oder die ihn umgebende Kapsel etwas Näheres aussagen zu können.

Es gelang nur in einem Knötchen aus der Leber unzweifelhaft Parasiten nachzuweisen. In Verkalkungen eingelagert sah man zwei spindelige Gebilde mit doppelt konturierter Begrenzung. Die Farbe derselben war ein liches Gelbbraun (Chitin?).

Die Leibeshöhle ließ keine Einzelheiten erkennen. Am Kopfende konnten Krallenfüße nicht gefunden werden, doch zeigte dasselbe 3—4 sehr kleine rundliche Vertiefungen.

Die Gesamtform, die eben erwähnten Grübchen, sowie der Fundort, die Leber, lassen mit großer Wahrscheinlichkeit die Annahme eines *Pentastomum* zu.

Die Hülle erwies sich als eine dicke, fibröse, gefäßarme Kapsel, die sich scharf gegen das umgebende Lebergewebe absetzte.

Elastische Fasern konnten in spärlicher Menge in der peripherischen Kapselzone nachgewiesen werden.

Literatur s. besonders bei:

Braun, Die tierischen Parasiten des Menschen. 3. Aufl. 1903.

Peiper, Tierische Parasiten. 2. Aufl. 1904.

Nachdruck verboten.

Unterschiede zwischen aggressiven Exsudaten und Bakterienextrakten.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag
(Vorstand: Prof. Hueppe).]

Von Prof. Dr. **Oskar Bail** und Dr. **Edmund Weil**,
Assistenten des Instituts.

Im Sommer des heurigen Jahres veröffentlichten Wassermann und Citron eine Versuchsreihe, durch welche es ihnen erwiesen schien, daß die aggressiven Eigenschaften der Körperflüssigkeiten infizierter Tiere auf Loslösung von Bakterienbestandteilen beruhen sollten. Denn indem sie durch anhaltendes Schütteln großer Bakterienmengen mit Wasser Extrakte herstellten, gelang es ihnen, mit solchen eine der Eigenschaften der aggressiven Exsudate, die infektionsbefördernde zu demonstrieren. Sie zogen daraus den Schluß, daß diese Extrakte im wesentlichen dasselbe seien, wie aggressive Exsudate, und daß beider Wirksamkeit auf der Bindung bakterizider Schutzkräfte beruhe. Gegen diese Identifizierung wurden bereits bald darauf von uns schwere Bedenken geltend gemacht¹⁾. Es schien aber bei der erheblichen Bedeutung dieser Frage

1) Münch. mediz. Wochenschr. 1905 No. 39 u. 40. — Arch. f. Hygiene. Bd. III.

wünschenswert, in vergleichenden Versuchen Bakterienextrakte und aggressive Körperflüssigkeiten genau zu untersuchen; nicht etwa deshalb, weil eine Verschiedenheit beider für den Bestand der Aggressintheorie wesentlich wäre. Denn das Bestreben derselben ist, die Entstehung der Infektion aus den Eigenschaften des Infektionserregers heraus zu erklären. Das Bedürfnis dazu liegt für jeden vor, der sich nicht bei dem bloßen Worte Virulenzsteigerung beruhigt, wenn er sieht, wie z. B. ein Typhusbacillus heute erst bei Anwendung sehr großer Kulturmengen krank macht, nach einer Anzahl von Passagen aber in sehr kleiner. Das muß in den Eigenschaften des Bacillus selbst begründet sein, da ja der Organismus des als Versuchstier gewählten Meerschweinchen im wesentlichen als konstant zu betrachten ist. Ein solches Bedürfnis liegt überhaupt für die Entstehung jeder Infektion vor; denn warum wird ein und dasselbe Kaninchen von einem Milzbrandbacillus in kleinster Menge infiziert, nicht aber von einem beliebigen saprophytischen Stäbchen? Zur echten Infektion aber gehört die Fähigkeit im Tiere zu wachsen, und diese bildet den Begriff der Aggressivität, da wir gezwungen sind, im Organismus der Versuchstiere Schutzkräfte anzunehmen, die überwunden werden müssen. Sind als Träger der aggressiven Eigenschaften eines Bakteriums Leibesbestandteile desselben anzusehen, die auch außerhalb des infizierten Organismus abgegeben werden, so ist dies ein für das genauere Studium der Aggressivität sehr günstiger Fall, der nur mit Freuden begrüßt werden kann; aber die Bedeutung der Aggressintheorie, d. h. des Versuchs die Infektion aus den Eigenschaften des Erregers heraus zu erklären, wird dadurch nicht berührt. Wie erwähnt ergaben sich aber schon bei bloß theoretischer Erwägung unüberwindliche Schwierigkeiten die Eigenschaft der Aggressivität aufs Bakterienteilchen zurückzuführen, die so wie in dem „künstlichen Aggressine“ von Wassermann und Citron von den Bakterien nur unter mehr oder minder großer Schädigung der Vitalität abgegeben werden können. Diese Schwierigkeit betraf die reinen Parasiten, die schon in einem Individuum zur erfolgreichen Infektion führen. Wenn bei diesen abgegebenen Bakteriensubstanzen das Haften im Tierkörper ermöglichen sollen, so können es nur solche sein, die sich ohne Schaden der Lebensfähigkeit vom Bacillus ablösen können und dann gewiß eigenartig sind.

Wie es zu gehen pflegt, nahmen einige orientierende Versuche als bald einen beträchtlichen Umfang an, indem die Frage der Identität oder Verschiedenheit von Bakterienextrakt und aggressivem Exsudat einerseits, die Frage, ob die Aggressivität auf Bindung bakterizider Kräfte beruhe andererseits untersucht wurde. Nach beiden Richtungen hin ist bereits Klarheit erzielt worden und eine neuerliche Veröffentlichung Citrons¹⁾ ist die Veranlassung auf diese Verhältnisse kurz einzugehen. Citron bestätigt am Beispiele von Schweineseuche und Schweinepest das Bestehen der aktiven und passiven Aggressivimmunität, leugnet aber deren Besonderheit, da es ihm gelang mit Wasserextrakten der genannten Bakterien ebenfalls Tiere aktiv und passiv zu schützen. Die von Citron wiedergegebenen Versuchstabellen zeigen allerdings eine beträchtliche Ueberlegenheit der Aggressivimmunität bei Schweineseuche an, immerhin scheint dadurch auf den ersten Blick eine neue Uebereinstimmung zwischen Bakterienextrakten und aggressiven Körperflüssigkeiten gefunden. Für die Verff. war dieses Ergebnis allerdings

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. No. 1.

keine Ueberraschung. Schon im September d. J. waren vergleichende Versuche mit Schweineseucheaggressin und -extrakt am Meerschweinchen durchgeführt worden und diese hatten zu dem gleichen Ergebnisse geführt: es gelingt auch mit Wassermann-Citronschen Extrakten zu immunisieren. Aber der Grund davon war auch aufgedeckt worden.

Will man zu einer einwandfreien Beantwortung der Frage der Gleichheit der immunisierenden Wirkung von Bakterienextrakt und Aggressin kommen, so muß man notwendig Mikroorganismen wählen, bei denen bisher nichts von einer bakteriziden Immunität bekannt ist. Das sind die echten Parasiten, wie Milzbrand und Hühnercholera für Kaninchen und Mäuse. Was Schweinepest betrifft, so kann über deren Natur als der eines ausgesprochenen Vertreters der Halbparasiten nicht der geringste Zweifel bestehen und zwar für alle Laboratoriumstiere. Von ihr gilt also das Gleiche, wie von den unten noch näher zu besprechenden Typhusbacillen und Choleravibrionen. Aber auch die Schweineseuche ist mit Hühnercholera nicht zu vergleichen, wie sich im Laufe der Untersuchungen immer klarer herausstellte; sie kann wenigstens für Kaninchen, Mäuse und Meerschweinchen nicht als echter Parasit gelten, wenngleich sie diesen weit näher steht als die Schweinepest. Während alle unsere Stämme von Hühnercholera-bacillen, obwohl sie nie aus einer Maus gezüchtet waren, diese Tiere ebenso wie Kaninchen in der kleinsten Dosis in höchstens 24 Std. töteten, mußten Schweineseuchebacillen erst dem Mäusekörper angepaßt werden und wir verfügen über einen Stamm, der selbst in relativ hohen Dosen unschädlich ist. Bei Kaninchen gilt Ähnliches. Es war daher von vornherein zu erwarten, daß wie gegen alle Halbparasiten auch gegen Schweineseuchebakterien mit Bakterienleibern Immunität erzielt werden könne, wie ja bereits Voges mit diesen Bacillen gewisse positive Resultate erhalten hatte. Der Versuch bestätigte diese Erwartung völlig, wie auch Citron übereinstimmend gefunden hat. Damit war aber auch erkannt, daß die Schweineseuche, geradeso wie der Typhusbacillus zur einwandfreien Entscheidung der Frage nach der Selbständigkeit der Aggressinimmunität ungeeignet sei. Wie bei Typhus oder Cholera geht diese hier neben der bakteriziden einher und die Erkennung jedes Bestandteiles ist zwar sehr gut möglich, aber es war wünschenswert, Aggressinimmunität ganz rein hervortreten zu lassen. Gewiß ist Citron nicht der geringste Vorwurf zu machen, wenn er bei seinen Versuchen, die sich offenbar dem Rahmen der bedeutenden Versuche des Berliner Instituts zur Bekämpfung der Schweinekrankheiten einpaßten, gerade diese pathogenen Mikroben als Versuchsobjekte wählte. Aber für die Entscheidung der Selbständigkeit der Aggressinimmunität, die ihm augenblicklich als wichtig vorschwebte, war es eine unglückliche Wahl. Schon der Widerspruch, in den er durch seine Versuche mit einer früheren Arbeit von Wassermann und Citron geriet, hätte ihn auf die Besonderheit des Falles aufmerksam machen können. Denn während daselbst die Autoren von der Unmöglichkeit gegen gewisse Bakterien anders als mit den lebenden Krankheitserregern zu immunisieren sprechen, ist jetzt durch die neuen Versuche Citrons plötzlich die Schweineseuche aus diesem Kreise gewiesen. Wie sich Schweineseuchebakterien im Körper von Schweinen selbst verhalten, ist uns zu wenig bekannt, als daß wir ein Urteil abgeben könnten. Daß sich Ferkel gegen Schweineseuchebacillen, die in der Dosis von $\frac{1}{10}$ Tropfen Bouillonkultur ein Kontrollschwein in 2 Tagen töteten, durch eine zweimalige Injektion von Aggressin (von Kaninchen)

aktiv vollständig schützen lassen, ist erprobt und die Durchführung dieser erfolgverheißenden Schutzimpfung im größeren Maßstabe ist nur noch eine Frage der nächsten Zeit. Aber das sind praktische Versuche, bei denen es schließlich gleichgültig ist, ob ein Teil und welcher der Immunität nebenher bakteriolytisch ist. Die Laboratoriumstiere sind zur Entscheidung der Selbständigkeit der Aggressinimmunität ohne besondere Vorsichtsmaßregeln, die Citron nicht kennen konnte, ungeeignet. Wir behalten uns vor, darauf nach Veröffentlichung der ausführlichen Arbeit Citrons noch näher einzugehen und führen auch im folgenden nur immer einen Versuch an, da ja von diesen Verhältnissen noch tiefergehend wird die Rede sein müssen.

Versucht man gegen echte Parasiten mit Wasserextrakten von Bakterien zu immunisieren, so sind die Resultate absolut negativ. Angeführt sei ein Kaninchenversuch mit Milzbrand und ein Mäuseversuch mit Hühnercholera.

Kaninchen 230 erhielt innerhalb 9 Tagen erst 2 ccm sterile Oedemflüssigkeit subkutan, dann 3 ccm intravenös, 12 Tage später Infektion mit 3700 Bacillen. Es bildet sich ein leichtes Oedem aus, das sich abgrenzt und eiterig wird. Bleibt sonst ohne Krankheit.

Kaninchen 231 behandelt wie 230 mit Wasserextrakt aus jungen üppigen Agarkulturen (2 ccm Wasser auf 1 Kultur) nach Wassermann-Citron. Infiziert wie 230. Stirbt nach 39 Std. typisch mit riesigem Oedem.

Kaninchen 232 behandelt wie 230 mit Kochsalzextrakt, der wie der Wasserextrakt gewonnen war, aus dem aber die toten Bakterienleiber nicht entfernt waren. Infiziert wie 230. Stirbt nach 43 Std. typisch.

Kaninchen, 233 unbehandeltes Kontrolltier infiziert, wie 230. Stirbt nach 51—53 St. typisch.

Maus a erhielt innerhalb 8 Tage 0,2 und 0,4 ccm Hühnercholeraaggressin (von Kaninchen) subkutan. 14 Tage später $\frac{1}{50}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus b behandelt wie a mit Wasserextrakt von Hühnercholera nach Wassermann-Citron (1 Kollische Massenkultur auf 3 ccm Wasser). Infiziert wie a. Stirbt nach 17 Std. typisch. Im Infiltrat und Herzblut massenhaft Bacillen.

Maus c, Kontrolltier infiziert, wie a. Stirbt nach 17 Std. typisch. Im Infiltrat und Herzblut massenhaft Bacillen.

Einwände wegen der Quantität der verwendeten Bacillen sind unmöglich. Namentlich bei Milzbrand ist ja das Oedem von Kaninchen nicht gar so bacillenreich und jedenfalls waren viele hundertmal mehr Bacillen mit dem extrahierenden Wasser in Berührung als im Oedem gewesen sein können. Ein bloßer Blick auf ein Präparat aus Oedem und aus wässriger, geschüttelter Bakterienaufschwemmung zeigt überdies, daß die Degeneration der Bacillen im letzteren nichts zu wünschen übrig läßt. Bakterienteilchen muß also der Extrakt enthalten, wie sie auch das Oedem enthält, aber das Wirksame sind diese bei echten Parasiten nicht. Bei Halbparasiten freilich können sie, wie bekannt, eine bakterizide Immunität hervorrufen und diese wird um so leichter zu erzielen und um so wirksamer sein, je weiter sich der betreffende Mikroorganismus von den echten Parasiten entfernt, also bei Schweinepest leichter als bei Schweineseuche. Das läßt sich auch unschwer bereits aus den von Citron angeführten Versuchen erkennen, wo die Extraktimmunität der Schweineseuche gegenüber der Aggressinimmunität etwas minderwertig erscheint. Längere Vorbehandlung mit sehr starken Extrakten, wie wir sie durchgeführt haben, wird auch Citron noch bessere Resultate liefern, ohne daß die Aggressinimmunität in der ihr zukommenden Eigenart berührt würde.

Weitere Versuche waren zu dem Zwecke ausgeführt, die Natur der Extrakt- und Aggressinwirkung aufzuhellen; denn beide sollen, als

wesentlich identisch nach Wassermann und Citron, durch Bindung bakterizider Kräfte tätig sein. Das geeignetste Objekt boten für die Entscheidung hier die Halbparasiten und naturgemäß diejenigen, welche der Bakteriolyse am meisten zugänglich sind, wo also wieder die Wirkung von Extrakt und Aggressin am reinsten hervortreten mußte. Der Cholera vibrio ist ein solches Versuchsobjekt. Von diesen war schon bekannt¹⁾, daß er trotz Anwesenheit von wirksamem Aggressin der Bakteriolyse durch Immunserum ohne weiteres unterliegt, während der Extrakt (abgesehen von dessen hier noch nicht zu besprechender eigenartiger Giftigkeit) so viel man sehen kann, hauptsächlich durch Aufhebung der Bakteriolyse wirkt. Einige vergleichende Versuche seien angeführt.

Um mit Sicherheit wirksames Choleraaggressin zu erhalten, wurde das Exsudat von Meerschweinchen benutzt, die wieder mit Exsudat infiziert waren²⁾.

M. 196 erhält eine Mischung von 3 ccm Aggressin + Cholera vibrien aus dem Exsudat des gleichen Tieres + 0,002 ccm baktericides Immunserum ip. Nach $\frac{1}{4}$ Std. ist vollständige Granulabildung eingetreten. Leukocytose bleibt bis 5 Std. aus. Das Tier stirbt ca. 48 Std. später mit steriler Bauchhöhle.

M. 197 erhält die gleiche Mischung wie 196, aber mit 3 ccm Choleraextrakt nach Wassermann-Citron (5 ccm Wasser auf 1 Kollischen Schale) ip. Nach $\frac{1}{4}$ Std. finden sich nur spärliche Granula neben Vibrionen, die sich in kürzester Zeit vermehren und das Tier im Laufe der Nacht mit dem Befunde schwerer Infektion töten. — Das Kontrolltier, das nur Bacillen erhalten hatte, stirbt ebenfalls mit dem Befunde schwerer Infektion und liefert das Aggressin für den folgenden Versuch. Das zweite Kontrolltier (Bacillen + Immunserum) bietet den Verlauf eines gewöhnlichen Pfeifferschen Versuches und lebt.

Der folgende Versuch bietet den Verlauf einer Infektion, bei der erst nach anscheinend vollendeter Bakteriolyse Aggressin bezw. Extrakt eingespritzt wurde.

M. 199 erhält 1 Oese Cholera + 0,002 Immunserum ip. Nach $\frac{1}{4}$ Std. nur Granula, worauf 3 ccm Aggressin eingespritzt wurden. Nach einer weiteren $\frac{1}{2}$ Std. sind die Granula sehr vermindert, nach 2 Std. völlig verschwunden. Bis zu 5 Std., wo das Tier bereits krank ist, treten keine Leukocyten in die Bauchhöhle über. Der Tod erfolgt in der Nacht. In 1 Oese des in geringer Menge vorhandenen Exsudats finden sich 39 Kolonien, Abstriche vom Netz liefern deren ca. 400.

M. 200. Geimpft wie 199; nach vollständiger Granulabildung wurden 3 ccm Extrakt injiziert. Nach 2 Std. fanden sich in der Bauchhöhle zahlreiche Leukocyten und nahmen bis zu 5 Std. noch zu. Es traten aber auch erst vereinzelte, später rasch zunehmende Vibrionen auf, die das Tier in der Nacht mit dem Befunde einer relativ leichten Injektion (eiteriges Exsudat, eiterige Auflagerungen auf Netz, Milz, Leber mit stärkster Phagocytose, daneben massenhaft Vibrionen) töteten. Kontrolltiere zeigten den gleichen Verlauf, wie im vorigen Versuche.

Um zu sehen, ob ein Exsudat, das von einem mit Beihilfe von Extrakt getötetem Tiere stammt, typisches Aggressin enthält, oder ob hier Bakterienbestandteile vielleicht eine Rolle spielen, wurde das Exsudat M. 197 als Aggressin mit 0,002 Immunserum verwendet. Das so geimpfte Tier 201 ließ binnen $\frac{1}{4}$ Std. die Bakteriolyse völlig ablaufen, Leukocyten blieben aus und das Tier starb in der Nacht mit 4 ccm klaren, zellfreien Exsudats, ohne Eiterung in der Bauchhöhle. Das mikroskopisch sterile Exsudat lieferte auf Agar 2 Kolonien. Das Kontrolltier 202, in gleicher Weise mit Immunserum und Extrakt geimpft, ergab den dabei gewöhnlichen Befund fortschreitender Vibrionenver-

1) Vergl. auch bezüglich der Erklärung: Arch. f. Hygiene. Bd. LII. p. 272.

2) Vergl. Kikuchi, Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 15. Arch. f. Hygiene. Bd. LIII. p. 303.

mehring. Das Exsudat des Aggressintieres 201 durfte kein Aggressin, mußte aber Bakterienbestandteile enthalten, und tatsächlich lieferte das mit 3 ccm Exsudat, 0,0015 Immunsrum und 1 Oese Cholera geimpfte Tier 208, den Befund eines gewöhnlichen Pfeifferschen Versuches mit Leukocyten nach 2 Std. Das Exsudat von M. 202 lieferte den typischen Aggressintod nach ca. 12 Std. mit keimfreier Bauchhöhle, der Choleraextrakt in der gleichen Menge von 3 ccm vollständige Aufhebung der Bakteriolyse. Um zu sehen, ob nicht etwa das aggressive Exsudat mit einer schwachen Extraktlösung zu vergleichen sei, wurde innerhalb dieser Serie ein Meerschweinchen mit nur 0,75 ccm Extrakt (neben 0,0015 Immunsrum) geimpft. Der Effekt war, daß die Bakteriolyse unvollständig war, daß sich nach 2 und 5 Std. sogar eine Vibrionenvermehrung eingestellt hatte, daß aber Leukocyten bereits nach 2 Std. reichlich auftraten, sich vermehrten und schließlich die Bauchhöhle des überlebenden Tieres mit Eiter erfüllten.

Wir übergangen vorläufig zahlreiche weitere Versuche mit toten Vibrionen, mit Behandlung von Extrakt und Aggressin mit Leukocyten und Serum etc., die neben ihrem eigentlichen Zwecke, des Studiums der Infektionsbedingungen, nebenbei ein erdrückendes Material gegen die Ansicht von Wassermann-Citron ergeben, daß die Aggressinwirkung auf gewöhnliche Bakterienbestandteile und deren hemmende Eigenschaft gegen die Bakteriolyse zurückzuführen sei. Nur einige Reagenzglasversuche mögen noch Platz finden. Es scheint nämlich auf den ersten Blick eine wichtige Bestätigung der Wassermann-Citron'schen Anschauung zu sein, daß aggressive Flüssigkeiten mit einem auf gewöhnliche Weise hergestellten bakteriolytischen Immunsrum Niederschläge geben, die auf Bakterienbestandteile bezogen werden müssen. Daß solche im Exsudate von z. B. Cholera-Tieren vorhanden sein müssen, wurde stets anerkannt, daß sie in demselben in genügender Menge vorhanden seien, um eine ähnliche Wirkung wie Wasserextrakte hervorzubringen, das widerlegen Reagenzglasversuche am besten.

Tabelle I.

Meerschweinchenserum wird mit Immunsrum versetzt und nach Zugabe von Aggressin (von Meerschweinchen 217 und 220, die beide im Tierversuche geprüft waren) und Extrakt auf seine bakteriziden Tätigkeit geprüft.

1) 0,25 ccm Serum + 0,75 NaCl-Lösung	2) 0,25 " " + 0,75 "	3) 0,25 " " + 0,75 "	4) 0,25 " " + 0,75 "	5) 0,25 " " + 0,75 "	6) 0,25 " " + 0,75 "	7) 0,25 " " + 0,75 "	Einsaat	Nach 4 Std. bei zusatz von je	
								a) 0,0001	b) 0,001
								Immunsrum	
								0	0
			+ 0,05 Aggr.	217	gleichmäßig ca. 25 000			113	0
			+ 0,1 "	217				36	0
			+ 0,05 "	220				7	0
			+ 0,1 "	220				0	0
			+ 0,05 Extrakt					∞	528
			+ 0,1 "					∞	9840

Die im Aggressin enthaltenen Bakterienteilchen heben die Bakteriolyse in keiner Weise auf, wobei zu bedenken ist, daß diese Exsudate nur zentrifugiert, nicht sterilisiert waren, also von vornherein mehr Bakterien enthielten. Durch größere Mengen Immunsrum wird, wie bekannt, auch der Extrakt unwirksam gemacht¹⁾.

Was die Niederschlagbildung durch Immunsrum betrifft, so rührt diese davon her, daß die Immunsrumpräzipitation viel zu fein ist, und

1) Bail und Kikuchi, Arch. f. Hygiene. Bd. LIII. p. 275.

auch das Vorhandensein von Bakterienteilchen anzeigt, die wegen ihrer geringen Konzentration weder im Tiere noch im Reagenzglas eine irgend erhebliche Wirkung auszuüben im stande sind. Dafür sind die Extrakte mit Wasser (Cholera wie Typhus) so reich daran, daß ein normal immunkörperreiches Serum wie Rinder Serum darin ausgiebige Ausflockung erzeugt. Aggressive Meerschweinchenexsudate liefern weder Trübung noch Fällung, abgesehen von einer durch öfters eintretende Gerinnung veranlaßten Scheintrübung, die nach Entfernung der zerschüttelten Fibrinfäden dauernd ausbleibt. Es gehört in den Teil der Untersuchungen, die sich mit dem Wesen der Bakteriolyse beschäftigen, möge aber hier kurz Erwähnung finden, daß ein Rinder Serum, welches Extrakt in entsprechender Menge angefällt hat, bakteriolytisch unwirksam geworden ist (aber unter Erhaltung des thermolabilen Faktors), während andererseits auch der Extrakt seine hemmende Wirkung für Bakteriolyse verliert. Ein in gleicher Weise mit Rinder Serum behandeltes aggressives Exsudat ist vor- wie nachher ohne Einfluß auf den Ablauf der Bakteriolyse.

Tabelle II.

Es werden hergestellt	A. 0,5 Choleraexsudat M. 202	zentrif.	+ 1 ccm Rinder Serum
	B. 0,5 Choleraextrakt		+ 1 „ „
	C. 0,5 NaCl-Lösung		+ 1 „ „
	D. 0,5 Choleraexsudat M. 202		+ 1 „ NaCl-Lösung
	E. 0,5 Choleraextrakt		+ 1 „ „

Während 1 Std. Aufenthaltes bei 37° tritt in B Trübung und bald Flockenbildung ein, die anderen Proben bleiben klar. Alle Proben werden über Nacht kalt gestellt, am anderen Morgen zentrifugiert und geprüft. (Verkürzt wiedergegebener Versuch.)

	Einsaat	Nach 4 Std.
1) 0,15 C + 0,85 NaCl-Lösung		1
2) 0,15 A + 0,85 „		0
3) 0,15 C + 0,55 „ + 0,3 A	} ca. 8000	0
4) 0,15 C + 0,55 „ + 0,3 D		0
5) 0,15 B + 0,85 „		über 20000
6) 0,15 C + 0,55 „ + 0,3 B		49
7) 0,15 C + 0,55 „ + 0,3 E		über 20000

Es ist nicht ohne Interesse zu sehen, wie die Exsudate von Meerschweinchen, die von Choleravibrionen wimmeln, sehr oft den thermolabilen Anteil der Serumbakteriolyse enthalten und an sich bakterizid werden, sobald nur Immunkörper in entsprechender Menge zugesetzt wird.

Tabelle III.

Zentrifugiertes Exsudat eines mit 1 Agarkultur (!) ip. geimpften Meerschweinchens. Als Kontrolle normales Meerschweinchenserum. Sehr reichliche Einsaat.

	Einsaat	Nach 4 Std.
1) 0,25 Exsudat + 0,75 NaCl-Lösung		∞
2) 0,25 „ + 0,65 „		∞
3) 0,25 „ + 0,65 „ + 0,0001 Immuns.	} Ueberall ∞	deutl. Abnahme
4) 0,25 „ + 0,65 „ + 0,001 „		732
5) 0,25 „ + 0,65 „ + 0,1 „		6320
6) 0,25 Serum + 0,75 „		∞
7) 0,25 „ + 0,65 „		∞
8) 0,25 „ + 0,65 „ + 0,0001 „		2400
9) 0,25 „ + 0,65 „ + 0,01 „		14 300
10) 0,25 „ + 0,65 „ + 0,1 „		ca. 100 000

Auf die deutlich erkennbare Komplementablenkung sei nebenbei aufmerksam gemacht. Für Typhusexsudate von Kaninchen war schon früher bekannt, daß sie gelegentlich selbst noch bakterizid wirken können¹⁾.

1) Arch. f. Hygiene. Bd. LII. p. 300 ff.

Wenn Wassermann und Citron ihren ersten Artikel damit schließen, daß für sie jeder Zweifel geschwunden sei, daß die Aggressive nur durch Bakterienteilchen wirken und die Bakteriolyse hemmen, so liefern die in eingehendster Weise angestellten Versuche, aus denen hier ein kurzer Auszug gegeben wurde, den unumstößlichen Beweis, daß von einer Bakteriolysebehinderung bei der Aggressivität keine Rede ist. Bakterienteilchen sind zweifellos im Exsudat u. dgl. von infizierten Tieren vorhanden, aber sie sind ohne Bedeutung für die eigenartige als aggressive zu bezeichnende Wirkung derartiger Flüssigkeiten. Die Versuche von Citron beweisen nichts mehr, als daß man gegen gewisse Bakterien mit solchen Bakterienteilchen, die außerhalb des Körpers gewonnen werden können eine Art der Immunität erzeugen kann, die längst als bakteriolytische bekannt ist. Bei Schweineseuche geht es nur etwas schwerer. Der Beweis, daß „die Aggressive in den Bakterienextrakten enthalten sind“ und daß „die Aggressinimmunität keine Immunität sui generis“ sei, kann nicht als erbracht gelten. Wenn Bakterienteilchen die Aggressivität bedingen, so müssen es solche besonderer Art sein. Im übrigen ist nochmals zu betonen, daß selbst die vollständige Uebereinstimmung von aggressiven Exsudaten und Bakterienextrakten der Aggressinlehre nichts von ihrer Bedeutung nehmen würde. Denn das Bedürfnis, den für die Infektionslehre so wichtigen und dabei augenblicklich ganz inhaltsleeren Begriff der „Virulenz“ durch einen inhaltsvolleren zu ersetzen, bleibt bestehen. Wenn es überdies den Aggressinversuchen gelungen ist, eine neuartige Immunisierungsmethode aufzufinden, wofür die erfreuliche Uebereinstimmung der Citronschen mit eigenen Versuchen spricht, und diese theoretisch zu begründen, so waren sie nicht umsonst angestellt.

Prag, 3. Dezember 1905.

Nachdruck verboten.

Ueber Eiweissimmunität und ihre Beziehungen zur Serumkrankheit.

Von Dr. Alfred Wolff-Elsner, Berlin.

In einer jüngst erschienenen Monographie behandeln v. Pirquet und Schick die Klinik und die Theorie der Serumkrankheit.

Es ist sehr bemerkenswert, daß die Autoren noch, wie sie im Schlußwort sagen, die Notwendigkeit empfanden, das Interesse für die Serumkrankheit wieder zu erwecken. Nachdem schon 1896 Hartung eine ausgezeichnete Schilderung der nach Serumeinverleibung auftretenden Krankheitssymptome gegeben hatte, so zeigt diese Tatsache allein schon genug, wie wenig Interesse von Klinikern und Bakteriologen dem großen Gebiete der Eiweißimmunität entgegengebracht wird.

Die Symptome der Serumkrankheit sind, nach der Häufigkeit der Erscheinungen geordnet, Fieber (bis 40°), Exantheme (sehr polymorpher Natur), Drüsenschwellungen, Leukopenie, Gelenkerscheinungen, Oedeme und Albuminurie. Bei Wiederholung der Seruminjektion tritt häufig beschleunigte und verstärkte Reaktion auf, derart, daß das sonst über Wochen sich hinziehende Krankheitsbild auf den Zeitraum von 24 Stunden zusammengedrängt erscheint.

An Erklärungsversuchen für das Symptomenbild der Serumkrankheit hat es natürlich nicht gefehlt. Erwähnenswert ist folgender: Hamburger und Moro haben der Anschauung Ausdruck gegeben, daß die Serumkrankheit mit der Präzipitinbildung in Zusammenhang stehe, und zwar in einem so direkten, daß das Exanthem durch Präzipitinbildung in den Kapillaren bedingt sei. Diese etwas grob materielle, wenn auch naheliegende Erklärung ließen sie jetzt fallen, als Rostoski, Michaelis und Oppenheimer nachwiesen, daß die Präzipitinbildung ein Reagenzglasphänomen sei und im lebenden Körper überhaupt nicht aufträte.

v. Pirquet und Schick nehmen in gewissem Sinne diese Anschauung wieder auf. Sie stellen nun die Theorie auf, daß Serumkrankheit und Antikörperbildung in einem kausalen Zusammenhange stehen, wobei sie den Begriff Antikörper nicht mit dem Präzipitin identifizieren, sondern ihn weiter fassen. Der sofortige Ausbruch der Serumkrankheit bei wiederholter Injektion wird auf vorhandene „Antikörper“ zurückgeführt. Nun ist aber unglücklicherweise der einzige Antikörper, der überhaupt nachweisbar ist, das Präzipitin und darum können die zahlreich angeführten Kurven immer nur darauf hinauslaufen, einen eventuellen Zusammenhang der Serumkrankheit mit der Präzipitinbildung nachzuweisen. Die Annahme, daß der Ausbruch der Serumkrankheit auf vorhandene „Antikörper“ zurückzuführen ist, selbst dann, wenn gar keine Präzipitine nachweisbar sind, braucht niemand, der nicht will, mitzumachen, selbst dann nicht, wenn man zu ihrer Stütze anführt, daß die vitale Reaktion ein feineres Reagens vorstellt, als der Reagenzglasversuch, und selbst wenn man die Serumkrankheit als „vitale Antikörperreaktion“ bezeichnet. Mir scheint es, als wenn man hier gerade das voraussetzte, dessen Existenz man ja beweisen will. Die Antikörper werden von v. Pirquet und Schick als nicht identisch mit dem Präzipitin bezeichnet; eben darum, weil zwischen Präzipitinbildung und Serumkrankheit sich absolut keine Parallelität auffinden ließ. Es widerspricht nun schon von vornherein unseren klinischen und bakteriologischen Erfahrungen, anzunehmen, daß die Erkrankung beschleunigt und verstärkt zu stande kommt, weil gegen die betreffende Krankheitsursache „Antikörper“ gebildet worden sind und die Krankheit durch die Wechselwirkung der Antikörper mit dem einverleibten Stoffe bedingt sei. Auch v. Pirquet und Schick sträuben sich eigentlich gegen diese Annahme und räumen ein, daß sie auf den ersten Blick ganz absurd erscheine, und daß man nur zu einem Verständnis der Auffassung gelangen könne, wenn man bedenke, daß unter natürlichen Verhältnissen eine Einverleibung von nicht vermehrungsfähigem Eiweiß nicht vorkomme und daß der Tierkörper also ganz auf den Kampf gegen vermehrungsfähige Eiweißkörper eingerichtet sei (das sind die Bakterien), und daß im Kampf mit den Bakterien die verstärkte Reaktionsfähigkeit eine zweckmäßige und auf Immunität hinielende Einrichtung sei.

Diese letzte Anschauung deckt sich vollkommen mit den von mir früher ausgesprochenen Gedankengängen über Immunität (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. p. 3). Dagegen kann ich nicht zugeben, daß die Serumkrankheit durch das Zusammentreffen von Antikörpern mit der ursprünglich injizierten Eiweißsubstanz (das ist im vorliegenden Spezialfalle Serum) hervorgerufen werde, da diese Antikörper ganz hypothetisch und in keiner Weise experimentell nachgewiesen sind, wie

ich dies schon oben erwähnt habe. Das gleichzeitige Zusammenbringen von spezifischem Antiserum und Serum im Tierkörper, das die angenommenen Verhältnisse realisiert, ergab keine Resultate (wörtlich nach den Autoren „die Resultate waren nicht eindeutig“) und jedenfalls ist in diesem sonst so ausführlichen Buche kein derartiges Protokoll angeführt.

Es geht so aus den Ausführungen der Autoren deutlich hervor, daß sie bei dem Entstehen der Serumkrankheit eine gewisse Art von Immunität als vorhanden annehmen. Sie geben infolgedessen der Ansicht Ausdruck, daß gegen die Analogiesetzung der Serumeiweißkörper mit den Endotoxinen, wie sie Alfred Wolff vorgenommen hat, jedenfalls die Erfahrungen der Antitoxinbildung des Tierkörpers gegenüber Aalserum sprechen. Es kann absolut nicht zugegeben werden, daß dieser Schluß zwingend ist, da beim Aalserum gerade andere Verhältnisse vorliegen wie bei allen anderen Seris und das Aalserum noch am ehesten in Vergleich zu setzen ist mit dem Schlangengift(-toxin), das doch ebenfalls Antitoxine bildet und in letzter Instanz aus dem Serum der Schlangen gebildet wird. Jedenfalls sprechen ja schon die eigenen Versuchsprotokolle der Autoren dafür, daß nach der Einverleibung von Pferdeserum beim Menschen und beim Versuchstier keine Immunität eintritt. Es ergibt sich aus diesen, daß nach langen Immunisierungsreihen, z. B. nach der 27. und 28. Injektion, noch immer Empfindlichkeit gegenüber der zur Injektion verwandten Eiweißart besteht. Ganz zweifellos liegt bei der Seruminjektion kein Fall einer antitoxischen Immunität vor, da, von den seltenen Fällen der noch recht wenig geklärten Toxin-Ueberempfindlichkeit abgesehen, durch Antitoxine Multipla der ursprünglich tödlichen Dosis neutralisiert werden, während bei den hier vorliegenden Verhältnissen sogar Teile einer ursprünglich keine Reaktion auslösenden Serumdosis reaktionsauslösend bleiben oder gar erst werden. Wenn beim Serum nicht alles so klar liegt, wie es wohl wünschenswert sein würde, sehe ich den Grund darin, daß, wie ich schon an anderer Stelle auseinandergesetzt habe, beim Serumeiweiß eine gewisse Schwierigkeit dadurch bedingt wird, daß das Serumeiweiß so viel ungiftiger ist, als andere Eiweißarten, als Organeiweiß und speziell Bakterieneiweiß, und daß man infolgedessen unter Benutzung des Serumeiweißes zwar sehr gut langsam ablaufende klinische Krankheitsbilder erzeugen kann, aber weniger gut den Ablauf schneller biologischer Prozesse studieren. Es hat dies seine Ursache darin, daß das Serum eine Mittelstellung einnimmt zwischen dem noch nicht assimilierten und daher noch nicht körperspezifischen Nahrungseiweiß und dem streng spezifischen Organeiweiß, das sich aus dem assimilierten Nahrungseiweiß dadurch aufbaut, daß dieses durch Abbau in den Darmdrüsen und darauffolgende Synthese zu artspezifischem Eiweiß umgewandelt wird. Bei der Injektion von Organeiweiß liegen die Dinge so, daß bei der Wiederholung der Injektion nicht nur beschleunigte, sondern auch verstärkte Reaktion eintritt, derart, daß man hier gar nicht in die Lage kommt, überhaupt die Frage der Entstehung von „Immunität“ zu diskutieren, da der schon bei der zweiten oder dritten Injektion auftretende Tod eine Diskussion abschneidet, ob hier sich eine Immunität ausgebildet hat oder nicht. An sich wäre ja bei der Serumkrankheit die Frage durchaus diskutierbar — da die verstärkte und beschleunigte Reaktion hier eine Immunitätserscheinung sein könnte — aber es besteht eben kein prinzipieller Unterschied in der Wirkung von Serum und Organeiweiß, obwohl das

eine nur zu beschleunigter und verstärkter Reaktion, das andere zum Exitus führt. Diese Todesfälle nach Injektion von Organeiwweiß sind so unerwartet und ihre Ursache war so unbekannt, daß z. B. Menzer die bedrohlichen Erscheinungen, die er mehrmals bei seinen Patienten nach (wiederholter) intravenöser Einverleibung seines Serums erzielte, auf Embolien, auf Präzipitinbildung etc. bezog und niemand in der Lage war, ihn bei den sehr zahlreichen Diskussionen über die wahren Ursachen aufzuklären. Und ich habe mich bei der Mitteilung meiner Experimente (Centralbl. f. Bakt. etc. 1904) veranlaßt gesehen, ausdrücklich das etwaige Vorkommen von Luftembolien auszuschließen, da jeder Kliniker, der die Versuchstiere nach kurzen Dyspnoë- und Krampferscheinungen hatte zusammenbrechen sehen, an den Symptomenkomplex einer Luftembolie gedacht hätte.

Es erscheint mir — und zwar nicht nur aus systematischen Gründen — notwendig, die Untersuchungen nicht auf die Injektion von Serum-eiwweiß zu beschränken, da die auf diese Weise gewonnene Auffassung notgedrungen einseitig werden muß. Durch gleichzeitige Einbeziehung der Befunde bei Injektion von Organ- und Bakterieneiwweiß wird die Auffassung eine großzügigere, da sie sich auf diese Weise von Einseitigkeiten fernhält. Die Erfahrungen mit der Serumkrankheit bilden dann nur einen Teil der experimentellen Erfahrungen und zwar den Teil, der mit dem am schwächsten wirkenden Gift gemacht worden ist.

Das Organeiwweiß ist im Gegensatz zum Serumeiwweiß auch morphologisch organisiert. Im Gegensatz zum Serumeiwweiß, das sich jedem mikroskopischen Nachweis nach der Injektion entzieht, können wir nach der Injektion von Organeiwweiß den Verbleib desselben längere Zeit mikroskopisch verfolgen; wir machen bei Bakterien- und Organeiwweiß die interessante und hochbedeutsame Beobachtung, daß bei Wiederholung der Injektion die Lyse der Zellen und Bakterien sich immer schneller vollzieht und diese beschleunigte Lyse in einem ganz direkten und deutlich verfolgbareren Konnex zu der „verstärkten und beschleunigten“ Reaktion steht. Dieser Zusammenhang läßt sich ganz **direkt** verfolgen, während es v. Pirquet und Schick und anderen Autoren absolut nicht gelungen war, zwischen Präzipitinhildung und Serumkrankheit irgend einen direkten Konnex zu beobachten. Mit der morphologisch zu beobachtenden Lyse ist eine erleichterte und beschleunigte Resorption der eingeführten Organ- oder Bakterieneiwweißstoffe für den injizierten Organismus verbunden.

Wir haben oben gesehen, daß zwischen der Injektion von Serum und Organeiwweiß keine prinzipiellen, sondern nur quantitative Differenzen in der klinischen Wirkung bestehen, und unter diesen Umständen erscheint ein Analogieschluß über das Zustandekommen der Serumkrankheit sehr gerechtfertigt. Zwar können wir nicht im Mikroskop verfolgen, wie mit der verstärkten und beschleunigten Reaktion eine beschleunigte Resorption des injizierten Serums parallel geht, aber es erscheint sehr wahrscheinlich, daß, ebenso wie beim Organ- und Bakterieneiwweiß, die verstärkte Reaktion nicht durch Antikörper, sondern dadurch bewirkt wird, daß, ebenso wie bei den eben genannten Eiweißsubstanzen, die Resorbierbarkeit und damit einhergehend die Giftigkeit vermehrt wird.

Dies wären im wesentlichen die Gesichtspunkte, die aus meinen Versuchen über „Eiweißimmunität“ zu gewinnen sind, wenn man sie mit der Serumkrankheit in Verbindung setzt und die ich den von v. Pirquet und Schick aufgestellten Theorien gegenüberstellen möchte.

Diese Schlußfolgerungen findet man in der erwähnten Arbeit deutlich ausgesprochen und nicht etwa, wie aus einer Stelle der Monographie von v. Pirquet und Schick hervorzugehen scheint, nur die Tatsache mitgeteilt, daß einzelne Eiweißsubstanzen, wie z. B. die Spermatozoen, bei wiederholter Injektion toxisch wirken (cf. v. Pirquet und Schick, p. 129). Die Spermatozoen haben kein weiteres Interesse, als daß bei ihnen die Toxizität eine besonders ausgesprochene ist, und ich vermag nicht einzusehen, weshalb die oben entwickelten Anschauungen, die ich als „Endotoxintheorie“ bezeichnet habe, sich nicht auf scheinbar gelöste Eiweißsubstanzen, wie das Serum, anwenden lassen sollen (cf. v. Pirquet und Schick, p. 131). Abgesehen von der durchaus zulässigen Analogisierung ist ja nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse auch das Serumeiweiß nicht mehr als gelöst und homogen aufzufassen (cf. L. Michaelis, Bindungsgesetze von Toxin und Antitoxin. Berlin [Bornträger] 1905, Rählmann u. a.). Wenn man durchaus ein morphologisches Substrat braucht, so denke man an die im Serumeiweiß vorhandenen, mit dem Ultramikroskop nachweisbaren Körnchen, an denen sich eine Lyse analog der an den Organzellen beobachteten abspielen kann.

Wenn auch die Schlußfolgerungen des Werkes von v. Pirquet und Schick von mir nicht geteilt werden können, ist das Erscheinen des Werkes hochwillkommen. Es wird die Diskussion über die Eiweißimmunität auf das Erfreulichste befruchten.

Nachdruck verboten.

The absorption of hemolytic amboceptor¹⁾.

[From the Pathological Laboratory of the University of Chicago.]

By **Wilfred H. Manwaring**, Sc. B., M. D.,

Associate Professor of Pathology and Bacteriology, Indiana University.

With 4 diagrams.

As part of a somewhat extended study of the physical chemistry of hemolytic serum, measurements were attempted of the amount of hemolytic amboceptor absorbed by corpuscles. As these measurements are at variance with results recently published by Arrhenius²⁾, their early publication is desirable. A more extended study of absorption phenomena will be reported later.

To determine the absorption, varying amounts of amboceptor (heated hemolytic serum) were placed in large centrifuge tubes, the volumes made up to a constant with m/8 NaCl and a uniform amount of washed sheep corpuscles added to each. The tubes were incubated at 37.5° for three hours, and placed in an ice-chest over night. They were then centrifuged and accurately measured quantities of the supernatant liquid removed for analysis.

The analysis was performed by means of the amboceptor curve³⁾. This is the curve showing the change in hemolytic power as the

1) Presented before the American Association of Pathologists and Bacteriologists. 1905. April 22.

2) Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XX. p. 559.

3) Journal of Infectious Diseases. Vol. II. p. 471.

amboceptor increases, and is obtained by exposing corpuscles to increasing amounts of amboceptor, in the presence of a constant amount of complement. The fluid to be analyzed was added to the same amount of complement, and the resulting hemolysis compared with readings on the curve.

Knowing the amount of amboceptor originally added to the tubes, the volumes removed for analysis, and the amounts found in these volumes, the loss of amboceptor, or the amboceptor absorbed by corpuscles, can be calculated. A series of results obtained in this way are shown in Table 1, and represented graphically in Fig. 1. The small figure in the upper part of Fig. 1 is the amboceptor curve used in the analysis.

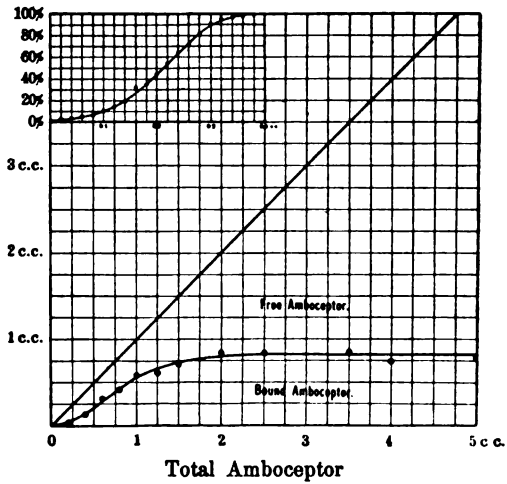


Fig. 1. The absorption curve. (See Table 1.)

Table 1. Absorption of amboceptor.

Recorded amounts of heated hemolytic serum placed in large centrifuge tubes, volumes made up to 10 c.c. with $\frac{m}{8}$ NaCl, 7 c.c. of a 7 per cent suspension of washed sheep corpuscles added to each, recorded amounts removed for analysis. In calculating results allowance was made for volume of corpuscles (0.14 c.c.) and evaporation (0.11 c.c.).

Amboceptor c.c.	Amount analyzed c.c.	Hemolysis %	Corresponding amboceptor c.c.	Free amboceptor (average) c.c.	Bound amboceptor (average) c.c.
5.0	1	70.0	0.252	4.22	0.78
4.0	1	44.0	0.196	3.28	0.72
3.5	1	25.0	0.154	2.66	0.84
	2	95.0	0.320		
2.5	1	10.0	0.100	1.66	0.84
	2	43.0	0.194		
	3	90.5	0.300		
2.0	1	5.8	0.071	1.66	0.84
	2	19.0	0.138		
	3	47.5	0.204		
1.5	2	9.0	0.096	0.79	0.71
	3	19.0	0.138		
1.25	2	7.0	0.080	0.64	0.61
	3	11.0	0.108		
1.0	3	6.0	0.076	0.42	0.58
0.8	3	5.0	0.070	0.39	0.41
0.6	3	4.0	0.052	0.29	0.31
0.4	3	4.0	0.048	0.27	0.13
0.2	3	3.0	0.030	0.17	0.03

In a recent publication¹⁾ Arrhenius claims that this absorption obeys certain well-established physico-chemical laws, that, in brief, the

1) l. c.

amboceptor divides itself between corpuscles and surrounding fluid in accordance with the formula:

$$\frac{[\text{Free amboceptor}]^2}{[\text{Bound amboceptor}]^2} = K, \text{ a constant.}$$

Applying this conception to the data obtained above, and calculating K' , a multiple of K obtained by omitting to divide by volumes — the volumes are constant throughout and this omission introduces no error — there are obtained the values recorded in Table 2. It is seen that K' is not a constant, and that the absorption does not follow the physico-chemical law proposed.

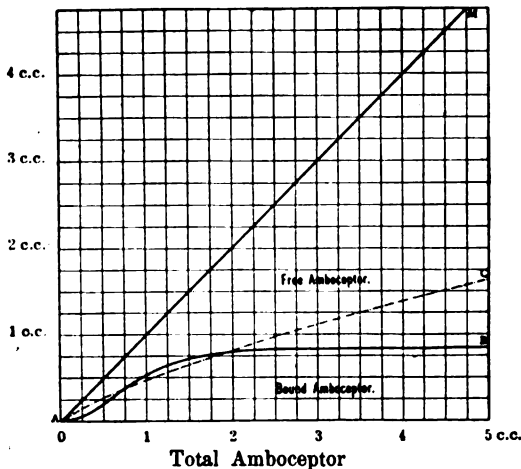
A comparison of the observed absorption and the theoretical absorption of Arrhenius can best be made by calculating the bound amboceptor under the assumption that K' is constant. Table 3 gives such a comparison, the bound amboceptor being calculated from the value $K' = 2$. Other values of K' give even more dissimilar results.

Table 2. Partition coefficient.

Free amboceptor c.c.	Bound amboceptor c.c.	K'	Free amboceptor c.c.	Bound amboceptor c.c.	K'
4.22	0.78	37.5	0.64	0.61	1.9
3.28	0.72	28.8	0.42	0.58	0.9
2.66	0.84	11.0	0.39	0.41	2.2
1.66	0.84	4.7	0.29	0.31	2.8
1.16	0.84	2.3	0.27	0.13	33.2
0.79	0.71	1.7	0.17	0.03	1070.0

Table 3. Observed absorption and calculated absorption compared.

Free amboceptor c.c.	Bound amboceptor calculated from the value $K' = 2$.			Free amboceptor c.c.	Bound amboceptor (observed) c.c.	Bound amboceptor (calculated) c.c.
	Bound amboceptor (observed) c.c.	Bound amboceptor (calculated) c.c.	Bound amboceptor (calculated) c.c.			
4.22	0.78	2.07	0.64	0.61	0.60	
3.28	0.72	1.75	0.42	0.58	0.44	
2.66	0.84	1.52	0.39	0.41	0.42	
1.66	0.84	1.11	0.29	0.31	0.35	
1.16	0.84	0.88	0.27	0.13	0.33	
0.79	0.71	0.68	0.17	0.03	0.24	



The same comparison is shown graphically in Fig. 2. Here the heavy line, AB, represents the observed absorption, the dotted line, AC, the calculated absorption. The curves agree roughly only when small amounts of amboceptor are used. With large amounts they diverge widely.

Fig. 2. Absorption curve and physico-chemical curve compared. AB = observed absorption; AC = calculated absorption from the value $K' = 2$.

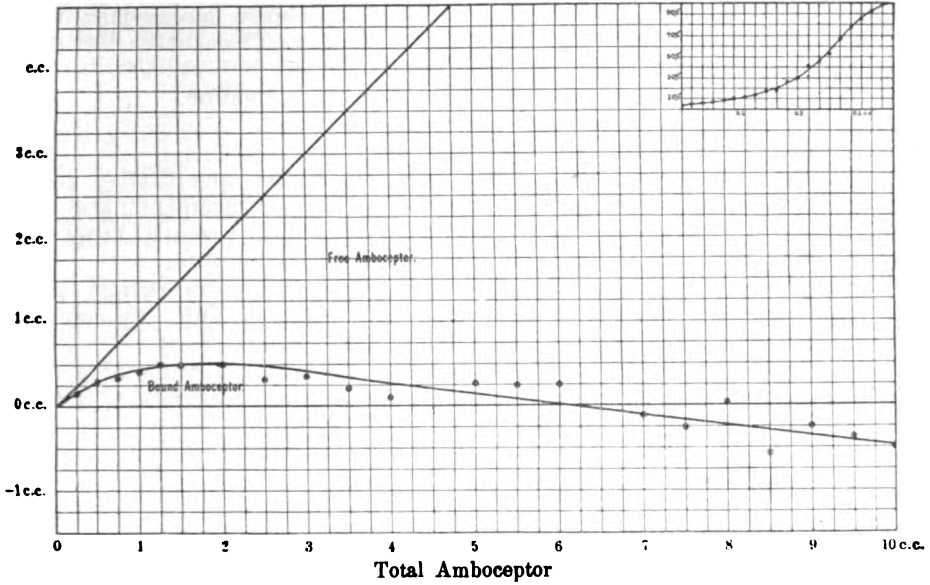


Fig. 3. Absorption curve with large amounts of serum. (Amboceptor No. 2, see Table 4.)

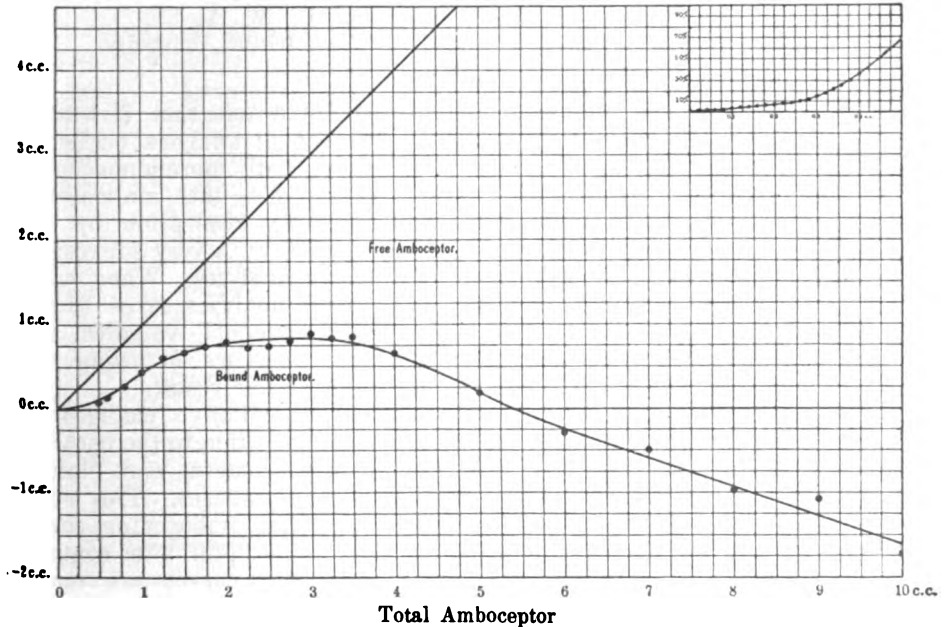


Fig. 4. Absorption curve with large amounts of serum (Amboceptor No. 1.)

In repeating this experiment with larger amount of amboceptor, measurements were obtained that strikingly illustrate the difficulty of attempting to apply physico-chemical laws to phenomena of this nature, before all factors entering into them are known. In this experiments,

when certain quantities were used, apparently more amboceptor was found in the liquid than was put there originally. Two curves illustrating this phenomenon are shown in Figs. 3 and 4.

The cause of this paradox is now under investigation.

Summary.

1) Using a method of analysis involving direct quantitative comparisons between treated and untreated serum, measurements are obtained not in accord with the physico-chemical law recently proposed by Arrhenius for the absorption of hemolytic amboceptor.

2) When corpuscles and serum are put together in certain proportions, analysis at times shows the supernatant fluid to contain apparently more amboceptor than was originally added to it.

3) This fact strikingly illustrates the difficulty of attempting the application of physico-chemical laws to phenomena of this nature, before all factors entering into the phenomena are known.

Nachdruck verboten.

Qualitative changes in hemolytic amboceptor¹).

[From the Pathological Laboratory of the University of Chicago.]

By **Wilfred H. Manwaring**, Sc. B., M. D.,

Associate Professor of Pathology and Bacteriology, Indiana University.

With 3 diagrams.

In a previous communication²) it was pointed out that if heated hemolytic serum is exposed to corpuscles subsequent analysis occasionally shows the supernatant liquid to contain apparently more amboceptor than was originally present in it, in spite of the fact that amboceptor has presumably been removed from the liquid by absorption by the corpuscles. Examining the data of such an experiment, a very suggestive fact is evident, that of non-agreement of duplicate analyses. When equal volumes of liquid are used for analysis, duplicate analyses agree within the limits of experimental error; but, when unequal volumes are analyzed, the duplicates in all cases differ the difference following the uniform rule that the smaller volume gives the higher result.

From this it was suspected that there are qualitative changes in amboceptor due to its contact with corpuscles in addition to the usually-accepted quantitative ones. To test this hypothesis, curves were plotted with amboceptor before and after contact with corpuscles. Two such curves are shown in Fig. 1, AN being the normal amboceptor curve (before contact). AB the curve with the same amboceptor after contact.

The fundamental differences between the two curves are made evident by drawing theoretical curves representing quantitative changes only. Four such curves are shown: AD representing the hemolysis under the assumption that the amboceptor is but a third its original strength, AE under the assumption that it is but 40% its original strength, AF that it is 50%, and AG that it is 66²/₃%. These curves

1) Presented before the Chicago Pathological Society. 1905. June 12.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. p. 382.

were obtained by multiplying the abscisses of AN by constant factors, the ordinates remaining unchanged. They agree, however, perfectly with experimental curves with dilute serum.

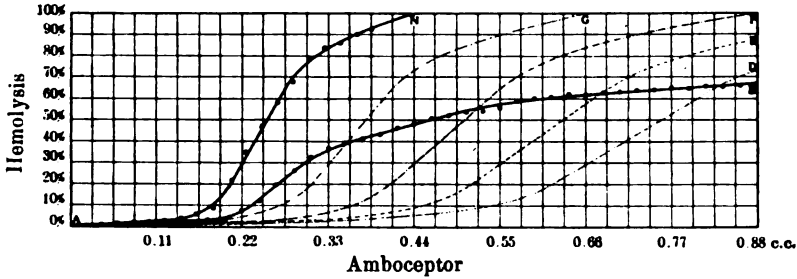


Fig. 1. Amboceptor curves before and after contact with corpuscles. AN = normal amboceptor curve, AB = curve after exposure to corpuscles. Dotted curves = theoretical curves for quantitative changes only (AD = $33\frac{1}{3}\%$, AE = 40%, AF = 50%, AG = $66\frac{2}{3}\%$).

From AB it is seen that if a certain volume of liquid were used for analysis, the resulting hemolysis would indicate that the liquid contains over two-thirds its original amount of amboceptor, if a certain larger volume were analyzed it would apparently contain but half the original amount, and still larger volumes would give 40% and even less than $33\frac{1}{3}\%$. A series of percentages calculated from this curve are given below. From this series the impossibility of direct quantitative analysis is evident.

Volume analyzed	Apparent amboceptor	Percentage	Volume analyzed	Apparent amboceptor	Percentage
c.c.	c.c.	%	c.c.	c.c.	%
0.880	0.279	32	0.495	0.257	52
0.825	0.278	34	0.440	0.249	57
0.770	0.277	36	0.385	0.240	62
0.715	0.273	38	0.330	0.229	69
0.660	0.271	41	0.275	0.209	76
0.605	0.269	44	0.220	0.169	77
0.550	0.264	48			

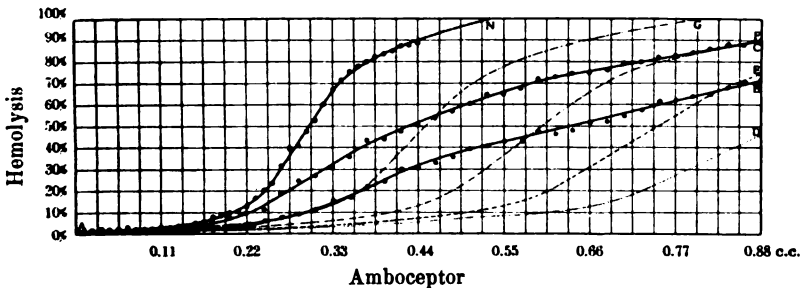


Fig. 2. Amboceptor curves before and after contact with corpuscles. AN = normal amboceptor curve, AB and AC = curves after exposure to corpuscles. AC was obtained with half the number of corpuscles used in AB. Dotted curves as in Fig. 1.

A second set of curves, showing the same phenomenon, is given in Fig. 2.

In certain cases the qualitative changes are such that the new curve actually crosses the original curve. A case of this nature is

shown in Fig. 3. Analysis in such cases would indicate, if the right volumes were used in making the measurements, apparently more ambo-

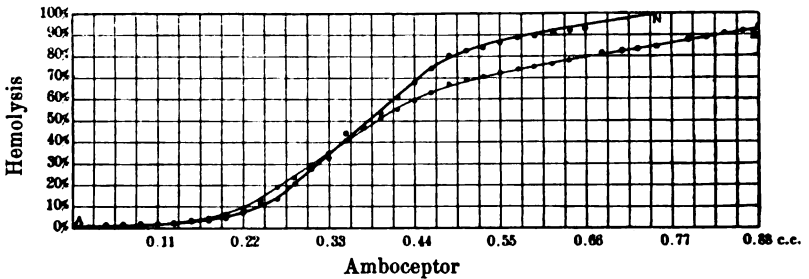


Fig. 3. Paradoxical amboceptor curves. AN = normal amboceptor curve, AB = curve after exposure to a minimal number of corpuscles.

ceptor than was originally present. It was the accidental selection of volumes to be analyzed, so as to cause the analysis to fall in the crossed portion of the curve, that gave the paradoxical results previously reported.

The nature of these changes and the means of overcoming them and thus making analysis possible are now under investigation.

Summary.

- 1) Heated hemolytic serum is so changed by contact with corpuscles that any direct quantitative comparison between it and unexposed serum gives inconclusive results.
- 2) All measurements thus far obtained for the absorption of hemolytic amboceptor are, therefore, of doubtful value.
- 3) A reexamination of much of the work with agglutinins, toxine-antitoxine mixtures, and the like, is necessary, to rule out a possible similar source of error.

Nachdruck verboten.

Ueber die Komplement ablenkende Funktion des normalen Serums.

[Aus dem kgl. Institute für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Von Dr. Hans Sachs, Mitglied des Institutes.

Eine kürzlich erschienene Arbeit von Gay¹⁾ veranlaßt mich, noch einmal auf früher mitgeteilte Versuche²⁾ zurückzukommen, welche die Wirkung der von Pfeiffer und Friedberger³⁾ als antagonistisch

1) Gay, F. P., The fixation of alexines by specific serum precipitates. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 5.)

2) Sachs, H., Ueber das Zusammenwirken normaler und immunisatorisch erzeugter Ambozeptoren bei der Hämolyse. (Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 18.)

3) Pfeiffer, R. u. Friedberger, E., Ueber antibakteriolytische (antagonistische) Substanzen normaler Sera. (Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 1; siehe auch ebenda No. 29.)

bezeichneten Substanzen der normalen Sera bei der Hämolyse zu analysieren bestimmt waren. Pfeiffer und Friedberger hatten gefunden, daß normale Sera, die an und für sich keine antibakteriolytische Fähigkeit besitzen, eine solche erlangen, wenn man sie vorher mit Bakterien digeriert, und zwar wirken solche durch Ausfällen mit Bakterien erhaltene Sera spezifisch antilytisch, in dem Sinne, daß ein etwa mit Choleravibrionen digeriertes Serum ausschließlich Choleravibrionen vor der Bakteriolyse schützt, etc. Ich habe dann dieselben Verhältnisse bei hämolytischen Reagenzglasversuchen nachgeprüft und bestätigt. Kaninchenserum, das mit Hammelblutkörperchen digeriert worden ist, entfaltet eine antihämolytische Wirkung, die lediglich gegen die Hämolyse des Hammelblutes gerichtet ist. Von der Auffassung Pfeiffers und Friedbergers bin ich nur insofern abgewichen, als ich die in Frage kommenden hemmenden Substanzen nicht als neuartige, bisher unbekannte Stoffe auffassen zu müssen glaubte, sondern ihren Wirkungsmechanismus wenigstens bei den Hämolsinen mit demjenigen der im Sinne von Antikomplementen wirkenden Ambozeptoren identifizierte, deren Vorkommen im normalen Serum ja so überaus häufig beobachtet worden ist. Daß aber jedenfalls die hemmenden Stoffe im Serum präformiert sind und ihre Wirkung im nativen Serum nur durch die normalen Ambozeptoren, welche durch die Digestion mit Blutkörperchen resp. Bakterien ausgefällt werden, verdeckt wird, darin stimmen wohl die Anschauungen von Pfeiffer und Friedberger und die meinigen überein.

Gay ist anderer Ansicht. Er hat speziell meine die Hämolyse betreffenden Versuche nachgeprüft und ist zu dem Schlusse gelangt, daß meine Erklärung „certainly incorrect“ ist. Gay glaubt die Ursache des beschriebenen Phänomens in einer Bindung der Komplemente durch Präzipitate suchen zu müssen. Das Präzipitin ist nach seinen Ausführungen in dem auf Hammelblut wirkenden Immunserum, die präzipitable Substanz in dem mit Hammelblut digerierten Kaninchenserum vorhanden und stammt aus den geringen Serummengen, die das ungenügend gewaschene Hammelblut noch enthält. Diese Erklärung macht in der Tat bei oberflächlicher Betrachtung einen bestechenden Eindruck. Daß die aus der Vereinigung von Serumeiweiß und einem entsprechenden Antiserum entstehende Verbindung befähigt ist, Komplement zu binden, ist ja seit den Untersuchungen Gengous¹⁾ bekannt. Die Erscheinung steht neuerdings durch die Arbeiten von Moreschi²⁾ und Gay³⁾ im Vordergrund des Interesses, und ich habe gemeinsam mit M. Neisser⁴⁾ auf Grund spezieller Versuche die komplementbindende Funktion der mit Antiserum beladenen Eiweißkörper für den forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes, speziell des Menschenblutes, zu verwerthen gesucht. Dabei ist es für die vorliegende Frage irrelevant, ob das entstehende Präzipitat als solches die Komplemente absorbiert, oder ob, wie wir annehmen, die Eiweißkörper durch spezifische Ambozeptoren im Sinne Gengous sensibilisiert werden, so daß sie nunmehr ebenso

1) Gengou, Sur les sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuminoïdes. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVI. 1902.)

2) Moreschi, C., Zur Lehre von den Antikomplementen. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 37.)

3) Gay, F. P., l. c.

4) Neisser, M. u. Sachs, H., Ein Verfahren zum forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 44.)

wie Ambozeptorbeladene Zellen die Komplemente binden. Nach Gays Auffassung soll jedenfalls durch das Zusammenwirken von Hammelserum und dem auf Hammelblut wirkenden Immuserum die Hemmung der Hämolyse bedingt werden.

Die von Gay angestellten Versuche bestätigen scheinbar seine Vermutung. Wusch er nämlich die zur Vorbehandlung des Kaninchenserums dienenden Hammelblutkörperchen, um jede Spur von Serum zu entfernen, 5mal hintereinander mit physiologischer Kochsalzlösung, so erwies sich das abzentrifugierte Kaninchenserum nicht mehr hemmend, während es nach Digestion mit 1mal gewaschenem Hammelblut die von mir beschriebene Hemmung zeigte. Der von mir ermittelte Unterschied im Verhalten der normalen und immunisatorisch gewonnenen Ambozeptoren des Kaninchenserums in Bezug auf die hemmende Wirkung des mit Hammelblut vorbehandelten Kaninchenserums soll demnach auch nur ein scheinbarer sein. Im normalen Serum fehlen einfach die auf das Hammelserum wirkenden Antikörper (Präzipitine), und aus diesem Grunde bleibt nach Gay die Hemmung aus. Nun habe ich aber in einem Versuche nachgewiesen, daß die Hämolyse von Blutkörperchen, die nur mit Immuserum sensibilisiert sind, durch das Hemmungsserum aufgehoben wird, während mit Immuserum und außerdem mit normalem Serum sensibilisierte Blutkörperchen gelöst werden. In beiden Fällen habe ich die Serumflüssigkeit nach Verankerung der Ambozeptoren durch Zentrifugieren entfernt, dies im zweiten Falle zufällig anders ausgedrückt als im ersten. Ich schrieb nämlich im zweiten Falle „die Blutkörperchen wurden mit Serum digeriert und durch Zentrifugieren von der Serumflüssigkeit befreit“, im ersten „als Reagens diente mit Immuserum sensibilisiertes Hammelblut“. Unter „sensibilisiertem Blut“ verstehe ich nun Blutkörperchen, die nach Vorbehandlung mit Ambozeptoren abzentrifugiert sind, und ich habe in einem anderen Versuche der Arbeit, in dem das nicht geschehen war, dies auch besonders ausgedrückt, indem ich schrieb: „Hammelblut + Immuserum“. Immerhin will ich zugeben, daß die von mir gewählte Ausdrucksweise zu einem Zweifel Anlaß geben konnte. Aber Gay scheint meine Versuchsanordnung besser zu kennen, als ich selbst. Er erklärt einfach, ich hätte im zweiten Falle zentrifugiert, also den präzipitierenden Anteil des Immuserums entfernt, im ersten nicht. Meine Versuche wiesen also „a grave experimental error“ auf, und „a complete refutation of Sachs' hypothesis“ glaubt Gay durch seine Versuche erbracht zu haben.

Gay befindet sich in einem bedauerlichen Irrtum. Er selbst ist bei der Nachprüfung meiner Versuche einem schwerwiegenden Versuchsfehler anheimgefallen. Es ist nämlich in meinen Versuchen gleichgültig, ob das Immuserum von den Blutkörperchen abzentrifugiert wird oder nicht, da das von mir benutzte Immuserum so reich an Ambozeptoren ist, daß die zur Sensibilisierung benutzte Menge (0,002 ccm) nur $\frac{1}{300}$ der von Gay verwandten Immuserummenge betrug. Eine so geringe Menge dürfte aber nach meinen Erfahrungen schwerlich eine die Eiweißkörper des Serums präzipitierende oder sensibilisierende Wirkung ausüben. Immerhin habe ich mehrere Versuche nach dem Vorgange Gays mit meinem Immuserum ausgeführt. Ich behandelte Kaninchenserum mit 1mal gewaschenem, eine andere Probe mit 5mal gewaschenem Hammelblut. Beide derart vorbehandelten Serumproben erwiesen sich in der gleichen Weise antihämolytisch, während das native Kaninchen-

serum jeder hemmenden Wirkung entbehrte. Folgendes Versuchsprotokoll mag das illustrieren:

Absteigende Mengen inaktiven Kaninchenserums werden mit 0,05 ccm Meerschweinchenserum digeriert, sodann erfolgt Zusatz von 1 ccm 5-proz. 5mal gewaschenes Hammelblut + 0,0015 ccm Ambozeptor (Serum des mit Ochsenblut vorbehandelten Kaninchens). In der folgenden Tabelle bedeutet:

- A natives Kaninchenserum.
- B mit 1mal gewaschenem Hammelblut behandeltes Kaninchenserum.
- C mit 5mal gewaschenem Hammelblut behandeltes Kaninchenserum.

Tabelle.

Mengen des Kaninchenserums ccm	Eingetretene Hämolyse		
	A	B	C
1,0	} komplett	0	0
0,5		0	0
0,25		0	0
0,15		mäßig	mäßig
0,1		"	"
0		komplett	komplett

Der Erklärungsversuch Gays ist also für meine Versuche gänzlich unzutreffend. Gay glaubt zwar, die von mir angegebene Versuchsanordnung genau befolgt zu haben, ist aber doch in einem wesentlichen Punkte abgewichen. Er hat nämlich mit einem auffallend schwachen hämolytischen Immuserum gearbeitet, einem Serum, von dem 0,2 ccm die lösende Dosis betrug, während mein Immuserum noch in einer Menge von 0,001 ccm komplett löst. Gay hat 0,4 ccm Immuserum für seine Versuche verwandt, ich 0,002 ccm, also den 200. Teil. In 0,4 ccm Immuserum aber können die von Gay als Präzipitate aufgefaßten, die Serumeiweißkörper sensibilisierenden Antikörper sehr wohl vorhanden sein, in einer minimalen Menge von 0,002 ccm fehlen sie so gut wie sicher, und ich habe bei Verwendung dieser Menge auch niemals eine Präzipitationswirkung beobachten können. Bei der Verwendung einer so großen Immuserummengenge, wie in Gays Versuchen, wird also das Vorhandensein geringer Mengen Hammelserums einen Ausschlag geben können, während es bei meiner Versuchsanordnung völlig irrelevant ist.

Wie erklärt sich nun aber die Tatsache, daß Gay bei Digestion des Kaninchenserums mit 5mal gewaschenem Hammelblut die von mir beschriebene hemmende Wirkung nicht hat nachweisen können? Dafür ist wiederum das gleiche Mißgeschick verantwortlich zu machen, welches Gay ein so unwirksames Immuserum für diese Versuche in die Hand gegeben hat. Gay hat nämlich offenbar mit normalen Ambozeptoren gearbeitet. Kaninchenserum löst ja bereits normalerweise Hammelblut, und die gewöhnliche Stärke dieser hämolytischen Fähigkeit entspricht durchaus derjenigen des von Gay benutzten Immuserums. Die komplett lösende Dosis des normalen Kaninchenserums schwankt bei den meisten Seris zwischen 0,25 und 0,1 ccm. Von dem Immuserum Gays stellten 0,2 ccm die lösende Dosis dar. Eine Menge von 0,4 ccm, wie sie Gay verwandte, genügt wohl bei fast jedem Kaninchenserum, um 1 ccm 5-proz. Hammelblut bei Zusatz von 0,1 ccm Meerschweinchenserum komplett zu lösen. Es erscheint demnach überhaupt

nicht ausgeschlossen, daß Gay mit einem Serum gearbeitet hat, welches gar keine immunisatorisch erzeugten Ambozeptoren enthielt, sondern ausschließlich ein Eiweißantiserum darstellte. Wenn Ambozeptoren künstlich erzeugt waren, so waren sie jedenfalls nur in so geringer Konzentration vorhanden, daß sie die Wirkung der normalen Ambozeptoren nicht wesentlich zu verstärken vermochten. Nun habe ich in meiner Arbeit ausdrücklich hervorgehoben, daß die durch Vorbehandlung mit Blut hemmend gemachten Sera nur gegen die Hämolyse durch die immunisatorisch erzeugten Ambozeptoren wirken, daß diese antilytische Wirkung aber durch die Mitwirkung der normalen Ambozeptoren wieder aufgehoben wird. Damit hatte ich ja das Fehlen der hemmenden Funktion im nativen Serum erklärt, indem ich annehme, daß die hemmenden Antikörper im nativen Kaninchenserum bereits vorhanden sind und darin nur durch die gleichzeitig mitwirkenden spezifischen normalen Ambozeptoren verdeckt werden.

In diesem Sinne stellen also die Versuche Gays eine unfreiwillige vollkommene Bestätigung meiner Auffassung dar, und es ist um so mehr zu bedauern, daß Gay sich zu so irrtümlichen Deutungen meiner Versuche hat verleiten lassen, als er ihre Unhaltbarkeit schon aus einigen Angaben meiner ersten Arbeit hätte ersehen können. Wenn Gays Ansicht richtig wäre, dann müßte ja die hemmende Wirkung in jedem mit ungenügend gewaschenem Hammelblut oder Ochsenblut vorbehandelten Kaninchenserum auftreten. Nun habe ich aber hervorgehoben, daß ich eine hemmende Wirkung durch Absorption mit Blutkörperchen nur dann nachweisen konnte, wenn das zu untersuchende Serum von vornherein Ambozeptoren für die betreffende Blutart enthält. Ich habe insbesondere mitgeteilt, daß das normale Kaninchenserum, welches keine Ambozeptoren für Ochsenblut enthält, durch Absorption mit Ochsenblut in keiner Weise geändert wird, d. h. es hemmt weder vor noch nach der Behandlung mit Ochsenblut die Hämolyse des Hammelbluts durch Immunserum, dagegen diejenige des Ochsenbluts vor- und nachher gleich stark. Schließlich habe ich auch über einige Kaninchensera berichtet, denen die Ambozeptoren für Hammelblut ausnahmsweise fehlten, und diese Sera wirkten schon an und für sich antilytisch gegenüber der Hämolyse des Hammelbluts und blieben es in quantitativ gleicher Weise nach dem Digerieren mit Hammelblut. Nach alledem muß unbedingt daran festgehalten werden, daß die hemmenden Stoffe bereits im nativen Serum vorhanden sind und ihre Wirkung darin nur durch die Konkurrenz der normalen Ambozeptoren verdeckt ist. Werden letztere durch Absorption mit Blutkörperchen entfernt, so tritt die Wirksamkeit der antilytischen Substanzen in Erscheinung. Der Versuch Gays, diese Auffassung zu widerlegen, ist also gänzlich gescheitert durch einen Umstand seiner Versuchsanordnung, den Gay selbst — wohl mit einigem Recht — als „a grave experimental error“ bezeichnen würde.

*Nachdruck verboten.***Alexine et Leucocytes.**[Institut pathologique et bactériologique de Liège.
Prof. Firket et Malvoz.]

Par MM. U. Lambotte et T. Stiennon.

(Fortsetzung.)

A ces exsudats nous faisons subir diverses manipulations destinées à les débarrasser complètement du liquide inflammatoire qui les baigne et que nous avons reconnu, ainsi qu'il sera démontré plus loin, être lui-même alexique. Toutes les opérations se font dans la chambre-étuve à 37° avec des appareils et des liquides portés à la même température. L'exsudat est centrifugé; le dépôt leucocytaire, après décantation, est émulsionné dans une quantité égale et même souvent supérieure au liquide d'exsudat. On procède à deux nouvelles centrifugations, en ayant soin de renouveler chaque fois l'eau physiologique ou le sérum chauffé de lavage. Le dernier dépôt est enfin remis soit dans du liquide physiologique, soit dans du sérum du lapin correspondant inactivé au préalable par un chauffage à 55—56°.

L'émulsion de leucocytes est répartie dans différents tubes stérilisés, et suivant le but que nous nous proposons, nous ajoutons à ces tubes des vibrions cholériques normaux, ou sensibilisés, avec ou sans alexine, sous la forme de sérum frais de lapin. Les tubes sont placés au thermostat à 37°; après des temps variés nous faisons des préparations sur lamelles afin de suivre les phénomènes. Les lamelles sont fixées par l'alcool-éther puis colorées par l'éosine et bleu de méthylène. D'heure en heure nous éprouvons la vitalité des leucocytes par la phagocytose de la bactérie charbonneuse. Lorsque l'activité phagocytaire commence à fléchir, ce qui arrive ordinairement entre 3 et 5 heures après le début de l'expérience, celle-ci est considérée comme terminée.

Dans huit séries d'expériences exécutées dans cet ordre d'idées, les résultats se sont toujours montrés identiques; c'est pourquoi nous nous bornerons à relater les faits observés régulièrement en prenant comme type l'observation suivante:

Lapin VI. Tué par saignée générale. Exsudats de 48 heures. La plèvre droite donne 8 c. c. liquide; la gauche 10 c. c. Les exsudats sont réunis et centrifugés. Après trois lavages dans l'eau salée à 37°, le dépôt cellulaire est divisé en deux parties égales: l'une est émulsionnée dans 4 c. c. d'eau physiologique, l'autre dans la même quantité de sérum provenant du même lapin, et inactivé par un chauffage d'une demi-heure à 55°. L'examen qualitatif de l'émulsion révèle 81% de polynucléaires pour 19% de cellules à un seul noyau. — On fait les essais suivants:

Tube 1.	8 p. Leucocytes dans sérum	+ 8 p. Vibrions sensibilisés	+ 2 p. Alexine
" 2.	8 p. " " "	+ 8 p. " " "	+ 2 p. Eau salée
" 3.	8 p. " " "	+ 8 p. Vibrions normaux	+ 2 p. Alexine
" 4.	8 p. " " "	+ 8 p. " " "	+ 2 p. Eau salée
" 5.	8 p. Leucocytes dans eau salée	+ 8 p. Vibrions sensibilisés	+ 2 p. Alexine
" 6.	8 p. " " "	+ 8 p. " " "	+ 2 p. Eau salée
" 7.	8 p. " " "	+ 8 p. Vibrions normaux	+ 2 p. Alexine
" 8.	8 p. " " "	+ 8 p. " " "	+ 2 p. Eau salée

Ces tubes sont placés à 37°. Après $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2, 3 et 4 heures une anse de produit de chaque tube est étendue sur lamelle, fixée et colorée.

Après $\frac{1}{4}$ heure.

Tube 1 (alexine). Phagocytose nette; beaucoup de globules blancs ont englobé des vibrions; ceux-ci à l'intérieur des cellules sont pour la plupart intacts, se colorant

fortement par le bleu de méthylène; à côté, certains leucocytes, outre des vibrions intacts, montrent des vibrions en boules, également bien colorés en bleu. En dehors des cellules les amas de microbes ont en partie subi la transformation globuleuse.

Tube 2 (pas d'alexine). Phagocytose énergique. Dans les leucocytes les vibrions sont entiers, prennent le bleu d'une façon intense. Pas de vibrions en boule.

En dehors amas bien colorés de vibrions entiers.

Tube 3 (alexine). Phagocytose peu prononcée. Presque tous les vibrions sont intacts. Rares boules en dedans comme en dehors des phagocytes. Pas d'agglutination.

Tube 4 (pas d'alexine). Ne diffère du tube 2 que par un degré moindre de phagocytose et l'absence d'agglutination.

L'agglutination signalée dans les tubes 1 et 3 est due à l'action du sérum qui a servi à sensibiliser les microbes.

Tubes 5, 6, 7, 8. Les résultats sont respectivement identiques à ceux des tubes 1, 2, 3, 4.

On n'observe pas de boules dans les préparations sans alexine.

Après $\frac{1}{2}$ heure.

Tube 1 (alexine). La phagocytose s'accroît. Presque tous les leucocytes, surtout les polynucléaires contiennent de nombreux microbes. En dehors le nombre de vibrions a fortement diminué (phagocytose).

Dans les leucocytes comme en dehors, forte proportion de vibrions transformés en boules.

Tube 2 (pas d'alexine). Absence complète de boules en dedans comme en dehors des cellules. Partout les vibrions sont bien entiers et colorés. De nombreux leucocytes renferment des vibrions en grande quantité.

Tube 3 (alexine). A l'extérieur petits amas de microbes dont la moitié environ présentent le phénomène de Pfeiffer.

Dans certains leucocytes les vibrions entiers prédominent, dans d'autres, on n'aperçoit guère que des boules.

Tube 4 (pas d'alexine). Même chose que le no. 2. Donc pas de boules.

Phagocytose moins prononcée.

Tubes 5, 6, 7, 8. Respectivement comme les tubes 1, 2, 3, 4.

Après une heure.

Tube 1 (alexine). En dehors des globules blancs on ne trouve plus de vibrions entiers; encore quelques amas de vibrions transformés. Presque tous les leucocytes sont gorgés de microbes pour la plupart transformés en boules.

Nous observons ici un nouveau phénomène: c'est le changement d'affinité de certains éléments microbiens pour les matières colorantes. Alors que la majorité des vibrions continuent à prendre la couleur basique, d'autres ne sont plus que faiblement teintés par la même couleur, d'autres enfin fixent de préférence la couleur acide. Cette modification dans le chimisme des microbes est peut-être due à l'action exercée sur eux par les ferments digestifs leucocytaires. Les vibrions transformés, comme les vibrions entiers, subissent cette altération au même titre, car en même temps que des vibrions rouges on trouve aussi des boules rouges.

Tube 2 (pas d'alexine). Les préparations ont un aspect absolument différent de celles faites avec le tube 1. Les vibrions phagocytés sont intacts et facilement reconnaissables. Une partie d'entre eux a subi un commencement de digestion (changement de coloration). Nulle part on ne voit de boules. Une autre modification des vibrions consiste dans une espèce de désagrégation qui les fait apparaître sous un aspect granuleux.

Tube 3 (Alexine). Comme le tube 1, avec cette différence qu'il y a moins de boules en dedans comme en dehors des cellules.

Tube 4 (Pas d'alexine). Comme le tube 2.

Les tubes 5, 6, 7 et 8 sont comparables respectivement aux tubes 1, 2, 3 et 4. Cette similitude se maintenant dans la suite, nous ne mentionnerons plus les résultats des tubes 5, 6, 7 et 8.

Après deux heures.

Tube 1 (alexine). Il n'y a plus de microbes en dehors des leucocytes. A l'intérieur de ceux-ci on observe de véritables aggrégats de vibrions globuleux. Quelques leucocytes montrent encore des vibrions intacts dont quelques uns se colorent mal en bleu pâle ou en rose. Le nombre des boules roses a manifestement augmenté.

Tube 2 (pas d'alexine). Toujours pas de boules. Les préparations sont caractéristiques: autant sont nombreux les vibrions transformés à l'intérieur des leucocytes du tube 1, autant l'on trouve ici des vibrions intacts quant à la forme, mais devenus granuleux. Certains ne fixent que faiblement le bleu de méthylène, d'autres fixent plutôt l'éosine et apparaissent colorés en rose.

En dehors des leucocytes on trouve encore de petits amas de microbes entiers bien colorés en bleu foncé.

Tube 3 (alexine). Comme le tube 1, avec une légère différence: la phagocytose n'est pas achevée; on trouve encore en liberté de petits amas de boules.

Tube 4 (pas d'alexine). La phagocytose est moins accusée que dans le tube 2. On n'observe pas le phénomène de Pfeiffer, pas plus en dedans qu'en dehors des leucocytes.

Après trois et quatre heures.

Les préparations faites après 3 et 4 heures de séjour à 37° ne nous apprennent plus rien de nouveau sur les phénomènes qui se passent dans les conditions où nous nous sommes placés. Elles ne diffèrent des préparations après deux heures que par le degré d'altération des microbes englobés, altération à laquelle participent aussi bien les vibrions entiers que les boules.

La distinction radicale entre les tubes à alexine et les tubes sans alexine subsiste entière; là où ce produit fait défaut, les leucocytes se montrent incapables de transformer en boules les vibrions englobés.

Les tubes témoins faits après quatre heures avec des leucocytes soit dans du sérum, soit dans l'eau salée, et une émulsion de bacilles du charbon, accusent une atténuation manifeste des phénomènes de phagocytose. Tandis que jusque là les globules blancs s'étaient montrés bien vivants, phagocytèrent énergiquement les bacilles mis à leur disposition dans les tubes témoins, après 4 heures on n'observe plus que de rares figures de phagocytose. Il est donc vraisemblable que dans les tubes à vibrions les phagocytes ont aussi perdu, après 4 heures, de leur énergie. C'est pourquoi l'observation est arrêtée à ce moment.

Il résulte de ces expériences que dans les essais où l'alexine fait défaut (Tubes 2, 4, 6 et 8) on ne voit jamais de vibrions transformés en boule, pas plus à l'intérieur qu'à l'extérieur des leucocytes. Et cependant, ceux-ci ne restent pas inactifs à l'égard des microbes qu'ils englobent: ils les modifient, désagrègent en quelque sorte leur substance au point de les rendre grenus, granuleux, altèrent leur matière composante au point de changer leurs affinités chimiques. Les vibrions restés libres ne subissent au contraire pas de modifications; ils conservent leur forme normale et continuent à fixer vivement la couleur basique. Etant donné que dans une partie de nos essais les vibrions ont été sensibilisés par l'action d'un sérum préventif qui les rend plus aptes à subir l'influence de l'alexine (tubes 2 et 6), si les leucocytes polynucléaires, qui sont réputés être les producteurs de la cytase bactéricide, en avaient contenu une trace, le phénomène de Pfeiffer aurait dû se produire avec intensité à leur intérieur. L'absence complète de ce phénomène ne nous permet-elle pas de conclure que le rôle attribué aux microphages dans l'élaboration de l'alexine vibrionicide ne se justifie pas?

Signalons encore certains faits observés dans les tubes à alexine et qui confirment pleinement cette manière de voir. Dans ces tubes, on assiste dès le début de l'expérience à l'englobement tant des vibrions entiers que des vibrions transformés en boules. Dans la suite, ces vibrions englobés à l'état entier se retrouvent dans bon nombre de cellules; s'ils subissent l'influence de leur hôte, c'est pour se désagréger ou perdre leurs caractères chimiques et non pour prendre la forme globuleuse. On voit par là que les microbes soustraits hâtivement à l'alexine du milieu ambiant échappent à la transformation de Pfeiffer: ce ne serait pas le cas, pensons nous, si les leucocytes polynucléés élaboraient la cytase bactéricide, puisque les microbes phagocytés entreraient dans un milieu où la concentration en alexine serait logiquement beaucoup plus forte.

Déjà avant nos essais la phagocytose in vitro des vibrions cholériques et le sort des éléments englobés ont servi à la recherche de l'origine

des cytases. Levaditi¹⁾ notamment a mis en contact in vitro des vibrions normaux avec de l'exsudat péritonéal frais et complet (liquide et cellules) de cobaye normal. Levaditi voit dans ces conditions se former des boules à l'intérieur des phagocytes et conclut à l'origine cellulaire du complément. Les résultats absolument inverses que nous observons en faisant phagocyter des vibrions sensibilisés (et non pas normaux) par des leucocytes bien vivants, en suspension dans un liquide indifférent (et non pas alexique) montrent bien que les cellules du sang sont étrangères à l'élaboration de la cytase.

III.

Les résultats des expériences précédentes et les conclusions que celles-ci entraînent nécessairement sont en contradiction avec l'opinion émise par Gengou et Tarassevitch sur l'origine de la microcytase. Cette divergence de vues nous a engagés à reprendre avec des procédés analogues les expériences de ces auteurs.

Nous avons comparé entre eux le sérum du sang, le liquide d'exsudat débarrassé des éléments cellulaires et le produit d'extraction préparé au moyen de ces derniers, non seulement au point de vue du pouvoir bactéricide par le procédé des plaques, comme Gengou, et du pouvoir hémolytique, comme Tarassevitch, mais aussi de la propriété essentielle de l'alexine de réactiver les sérums préventifs devenus inefficaces à la suite d'un chauffage à 55—56°.

Nos expériences ont porté sur des exsudats pleuraux recueillis après un ou deux jours, c'est-à-dire à un moment où les globules polynucléés sont encore en grande majorité. Des exsudats de deux jours nous ont toujours donné un minimum de 80% de polynucléaires; le plus souvent ils renfermaient 85 à 90% de ces éléments et 10 à 15% de grands macrophages. Ces exsudats servent à préparer le sérum d'exsudat et l'extrait leucocytaire. Nous centrifugeons énergiquement et recueillons le liquide surnageant absolument débarrassé des cellules. Cette opération se fait à 37° afin de conserver aux leucocytes le plus de vitalité possible; celle-ci est du reste contrôlée par l'épreuve de la phagocytose du bacille du charbon, et nous rejetons les exsudats dans lesquels les leucocytes ne se sont pas montrés bien vivants. Le liquide provenant de la centrifugation abandonné à lui-même se coagule, mais plus lentement et avec moins d'intensité que le sang. Il y a épaissement, diminution de fluidité plutôt que formation d'un véritable caillot. Ce liquide épais laisse exsuder au bout de quelques heures une petite quantité de sérum que l'on voit augmenter par la centrifugation. On obtient ainsi ce que nous désignerons dans la suite sous le nom de sérum d'exsudat.

L'extrait de leucocytes est préparé par la méthode de Buchner, selon les indications de Tarassevitch et de Gengou. Les globules blancs isolés par centrifugation sont soigneusement lavés à l'eau salée stérilisée et centrifugés à trois reprises différentes, puis enfin après une dernière décantation, émulsionnés dans leur volume d'eau salée ou de sérum de lapin chauffé. S'ils sont trouvés bien vivants ils sont soumis à des congélations et des réchauffements successifs, puis enfin abandonnés à 37° pendant 12 à 18 heures, de façon à faciliter le passage des produits actifs des leucocytes altérés dans le liquide ambiant. Ces deux produits, extrait leucocytaire et sérum d'exsudat, sont essayés à l'état

1) Levaditi, Etat de la cytase dans le plasma. (Ann. Pasteur. 1901. p. 904.)

frais et après un chauffage préalable d'une demi-heure à 55°, en même temps que le sérum du sang correspondant. On y recherche la présence de l'alexine par le pouvoir bactéricide, et leur action sur des hématies et des vibrions sensibilisés.

1) Pouvoir bactéricide. On le détermine, comme l'a fait Gengou, par le procédé des cultures successives sur plaques de gélatine nutritives, à l'aide du vibron cholérique sensibilisé.

Voici quelques unes de nos expériences.

Lapin No. III. Exsudats d'un jour. Plèvre droite 10 c. c. de liquide. 92 % polynucléaires. Plèvre gauche 7 c. c. liquide. 90 % polynucléaires.

Une émulsion en eau salée de vibrions cholériques frais est mise en contact à 37° pendant 5 heures avec un volume double de sérum préventif inactivé. Nos mélanges d'essai sont faits dans les proportions d'une anse d'émulsion microbienne pour 5 gouttes de produit. Des cultures sur plaques de gélatine sont ensemencées avec une anse de chacun des mélanges, successivement après 5 minutes, une heure, vingt-quatre heures et quarante-huit heures. Les résultats de ces cultures sont consignés dans le tableau suivant.

Vibrions cholériques sensibilisés.

Tubes	5 min.	1 h.	24 h.	48 h.
1) sérum sang frais	242	2	0	0
2) sérum sang chauffé	208	194	1186	∞
3) sérum exsudat frais	296	43	0	0
4) sérum exsudat chauffé	428	648	2696	∞
5) extrait leucocyt. (eau salée) frais	284	48	139	70
6) extrait leucocyt. (eau salée) chauffé	298	328	0	11
7) eau salée	361	72	33	9

Le nombre des colonies ne diminue notablement et d'une façon durable que dans les tubes à sérum du sang et d'exsudat. Dans ces deux produits, le pouvoir bactéricide paraît bien dû au complément, car il disparaît après chauffage à 55° (tubes 2 et 4). Quant à l'extrait leucocytaire, il est malaisé d'après cet essai de dire s'il est bactéricide ou non; il paraît plutôt se comporter comme l'eau salée, où les colonies tendent à diminuer de plus en plus.

Ce fait paraît encore plus marqué dans l'essai suivant:

Lapin No. VIII. Exsudat de deux jours. Plèvre droite 9 c. c. liquide. 85 % polynucléaires.

On procède comme précédemment, avec cette différence toutefois que l'émulsion de vibrions sensibilisés est moins riche en microbes, de façon à mettre mieux en évidence, s'il existe, le pouvoir bactéricide de l'extrait leucocytaire.

Vibrions cholériques sensibilisés.

Tubes	5 min.	1 h.	24 h.	48 h.
1) sérum sang frais	106	0	0	0
2) sérum sang chauffé	54	40	1198	∞
3) sérum exsudat frais	124	0	0	0
4) sérum exsudat chauffé	104	83	692	∞
5) extrait leucocyt. (eau salée) frais	146	29	0	0
6) extrait leucocyt. (eau salée) chauffé	23	2	0	0
7) eau salée	43	10	0	0

L'extrait leucocytaire frais ne se comporte pas autrement que l'extrait chauffé ou l'eau salée. D'un côté comme de l'autre le nombre des colonies, faible dès le début, tombe à 0 après un jour. Ces résultats ne paraissent pas concorder avec l'existence dans les extraits de l'alexine bactéricide, substance très active à l'état frais, inactivée au contraire par le chauffage. C'est ce que montrent très nettement les tubes 1, 2, 3, 4.

Dans tous nos autres essais (au nombre de 8) le pouvoir bactéricide n'existait pas du tout; l'extrait leucocytaire frais ou chauffé n'empêchait nullement la multiplication des germes, pas plus que le liquide sanguin ou le sérum d'exsudat chauffés. Au contraire, les sérums frais du sang et d'exsudat se montrent dans toutes nos expériences nettement doués d'un pouvoir bactéricide très marqué aboutissant à la disparition complète des microbes ensemencés.

L'absence complète de pouvoir bactéricide que nous constatons le plus souvent (8 fois sur 10 essais) dans nos extraits de globules blancs ne peut être imputée au procédé employé pour les préparer. Des extraits obtenus avec des leucocytes émulsionnés non plus dans l'eau salée, mais dans du sérum préalablement chauffé (55°) de lapin normal, ou dans du bouillon ordinaire (Gengou), ne se sont pas montrés plus bactéricides pour le vibron cholérique. D'autre part nos extraits leucocytaires ne sont pas dépourvus de toute activité vis-à-vis de ce microbe. Nous avons trouvé, ainsi que nous le montrerons plus loin, qu'ils possèdent des propriétés n'existant pas dans les liquides qui ont servi à les préparer; la présence de ces propriétés nouvelles est un sûr garant du passage dans ces liquides de principes provenant des globules blancs. On pouvait aussi se demander si les manipulations nécessitées par la préparation des extraits afin d'amener la désintégration complète des éléments cellulaires n'étaient pas capables par elles seules de détruire la substance bactéricide. Pour nous en assurer, nous avons fait subir les mêmes opérations à du sérum sanguin et à du liquide d'exsudat frais. Après congélations et réchauffements successifs, suivis d'un séjour de 12 heures à 37°, ces deux produits ont été éprouvés au point de vue du pouvoir bactéricide comparativement avec des sérums normaux frais. Les résultats exposés dans le tableau suivant montrent que les produits ainsi traités conservent toutes leurs propriétés vibrionicides.

Lapin XXI. Exsudat 2 jours. 86 % polynucléaires.

Vibrions cholériques sensibilisés.

Tubes	5 min.	1 h.	24 h.	48 h.
1) sérum sang frais normal	7694	124	0	0
2) sérum sang frais traité	8248	22	0	0
3) sérum exsudat frais normal	6510	0	0	0
4) sérum exsudat frais traité	7234	12	0	0

Il résulte de l'ensemble de nos recherches sur la détermination du pouvoir bactéricide par la méthode des cultures successives que ce procédé ne fournit pas, pour le vibron cholérique tout au moins, de résultats bien probants sur l'existence du complément bactéricide dans les extraits de leucocytes polynucléaires. Rappelons que nos extraits ont toujours été préparés à l'aide de leucocytes rentrant pour la plupart dans la catégorie des éléments polynucléés (80 à 95 %) c'est-à-dire ceux qui pour Metchnikoff et son école sont les grands producteurs des substances actives sur les microbes (microcytase). Si parfois ces extraits paraissent, tout comme l'eau salée d'ailleurs, détruire un certain nombre de vibrions cholériques, on ne constate le plus souvent aucune action empêchante. Quand nous aurons fait observer en outre que cette action nocive, quand elle existe, ne disparaît pas par un chauffage d'une demi-heure à 55—56°, on sera bien près de conclure à la non-production de l'alexine vibrionicide par les polynucléaires. Nous savons bien que Metchnikoff et Tarassevitch soutiennent que les diastases in-

corporées dans les éléments cellulaires telles que l'alexine sont plus résistantes à la chaleur que quand elles sont libres dans un liquide; mais c'est là une pure hypothèse. Quoiqu'il en soit nous ne voulons pas nous appuyer sur des résultats en partie discordants pour tirer des conclusions sur l'origine de la microcytase. Le pouvoir hémolytique et le phénomène de Pfeiffer beaucoup plus nets et plus réguliers nous fourniront des éléments d'appréciation bien plus précis, irréfutables à notre avis.

2) Pouvoir hémolytique. L'un des principaux caractères de la substance complémentaire des sérums réside dans le pouvoir de déterminer la globulolyse des hématies d'espèce différente, surtout lorsque ces hématies ont au préalable été influencées par un sérum sensibilisateur spécifique. Cette propriété des sérums frais disparaît au bout de quelques jours ou après un chauffage à 55–56°. Pirenne¹⁾ a donné dans ses mémoires les caractères de la véritable alexine, qui sont communs à notre alexine hémolytique et vibrionicide, et établi que l'on a souvent donné le nom d'alexine à des substances bactéricides qui ne sont pas des compléments. Il n'y a qu'une alexine bien typique, c'est celle de Buchner-Bordet, et c'est cette substance qui sert de critérium à nos recherches.

Dans nos liquides d'expériences fournis par le sang de lapin et les produits d'injection de gluten-caséine dans les cavités pleurales, on recherche le pouvoir hémolytique à l'aide d'hématies de poule sensibilisées par un contact d'une heure avec du sérum de lapin-poule chauffé.

Lapin No. XVI. Exsudat de 2 jours. Plèvre droite 12 c.c. liquide. 79% polynucléaires. 21% mononucléaires. On fait les essais suivants dont les résultats sont notés après des temps variant de 1/2 heure à 5 heures de séjour à 37°.

Hématies de poule sensibilisées.

Tubes	1/2 heure	1 heure
1) 6 p. sérum sang frais 1 p. hématies sensibilisées	} hémolyse complète	} hémolyse complète
2) 6 p. sérum sang chauffé 1 p. hématies sensibilisées	} 0	} 0
3) 6 p. sérum exsudat frais 1 p. hématies sensibilisées	} hémolyse nette, mais moins forte que dans 1	} hémolyse complète
4) 6 p. sérum exsudat chauffé 1 p. hématies sensibilisées	} 0	} 0
5) 6 p. extrait leucocyt. (eau salée) frais 1 p. hématies sensibilisées	} 0	} 0
6) 6 p. extrait leucocyt. (eau salée) chauffé 1 p. hématies sensibilisées	} 0	} 0
7) 6 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	} 0	} 0

1) Pirenne, Recherches sur les alexines et les substances bactéricides du sérum normal. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. No. 2, 3 u. 5.)

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Hemolytic curves¹⁾.

[From the Pathological Laboratory of the University of Chicago.]

By **Wilfred H. Manwaring**, Sc. B., M. D.,
Associate Professor of Pathology and Bacteriology, Indiana University.

With 15 diagrams.

As an introduction to the study of the physical chemistry of hemolytic serum, it was found necessary to determine the quantitative relation between each component of such serum and the amount of hemolysis produced by the serum. These relations are quite complex and are not expressible as simple mathematical formulae. A graphic method of representation was therefore adopted. A few of the curves obtained by this method are here presented.

The serum used in this work was that of goats immunized against sheep corpuscles. The hemolytic experiments were performed in accordance with the routine technique of this laboratory, described elsewhere²⁾.

The complement. To determine the relation between complement and hemolytic power, sensitized corpuscles were exposed to increasing amounts of normal serum. The corpuscles were sensitized by exposing them to amboceptor (heated hemolytic serum) for an hour, at room temperature. The amount of hemolysis was estimated colorometrically, and the results plotted as a curve showing the change in the amount of hemoglobin liberated as the complement increases. A curve obtained in this way is shown in Fig. 1.

A similar curve obtained with non-sensitized corpuscles is shown in Fig. 2. In plotting this curve, washed corpuscles were exposed to

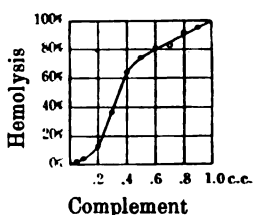


Fig. 1. Complement curve (sensitized corpuscles).

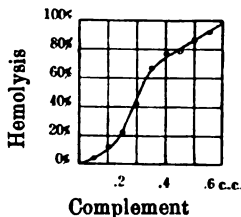


Fig. 2. Complement curve (constant amboceptor).

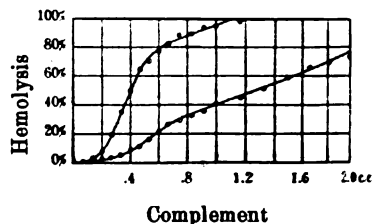


Fig. 3. Parallel complement curves.

increasing amounts of complement in the presence of a constant amount of amboceptor. This curve differs so little from those with sensitized corpuscles that the use of sensitized corpuscles was discontinued at this point.

To determine the influence of the amount of amboceptor on the nature of this curve, parallel curves were plotted with the same increasing amounts of complement but with different constant amounts of amboceptor. Two curves obtained in this way are shown in Fig. 3, and a series of such curves in Fig. 4.

1) Presented before the American Association of Pathologists and Bacteriologists, 1905, April 22.

2) Journal of Infectious Diseases. Vol. II, p. 460.

The amboceptor. In a similar way curves were plotted showing the change in hemolytic power as the amboceptor increases. To do this, corpuscles were exposed to increasing amounts of amboceptor

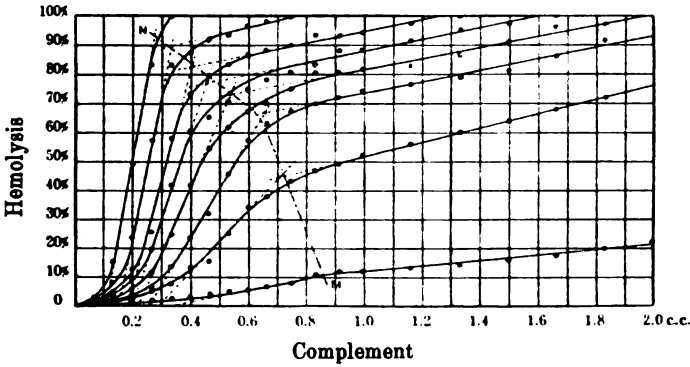


Fig. 4. Parallel complement curves. The curves read from below upwards were made with the following constant amounts of amboceptor: .01 c.c., .02 c.c., .03 c.c., .04 c.c., .05 c.c., .06 c.c., .08 c.c., .12 c.c.

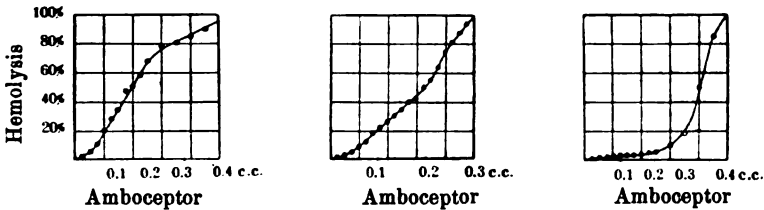


Fig. 5. Amboceptor curves. The curves read in order were made with the following constant amounts of complement: $0.33\frac{1}{3}$ c.c., 0.20 c.c., $0.06\frac{2}{3}$ c.c.

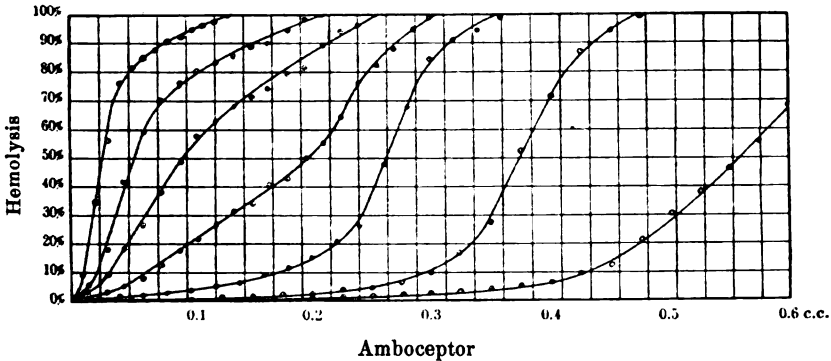


Fig. 6. Parallel amboceptor curves. Read from below upwards, the curves were made with the following constant amounts of complement: $0.03\frac{1}{3}$ c.c., $0.06\frac{2}{3}$ c.c., $0.13\frac{1}{3}$ c.c., 0.20 c.c., $0.26\frac{2}{3}$ c.c., $0.33\frac{1}{3}$ c.c., $0.53\frac{1}{3}$ c.c.

(heated hemolytic serum) in the presence of a constant amount of complement (normal serum). Three curves obtained in this way are shown in Fig. 5.

To determine the influence of the amount of complement on the nature of this curve, parallel curves were plotted, with the same in-

creasing amounts of amboceptor, but with different constant amounts of complement. A series of such curves is shown in Fig. 6.

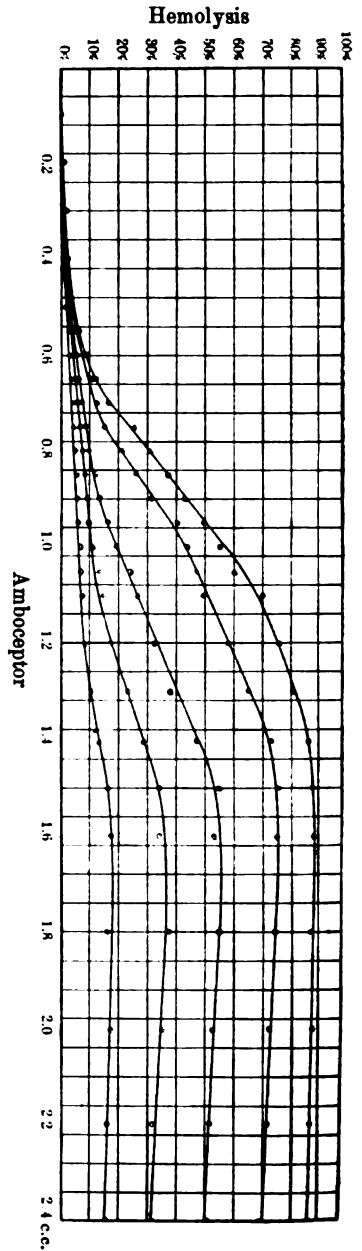


Fig. 7. Amboceptor curves with minimal constant amounts of complement. Read from below upwards, the curves were made with the following constant amounts of complement: 0.01 c.c., 0.0125 c.c., 0.015 c.c., 0.0175 c.c., 0.02 c.c., 0.0225 c.c.

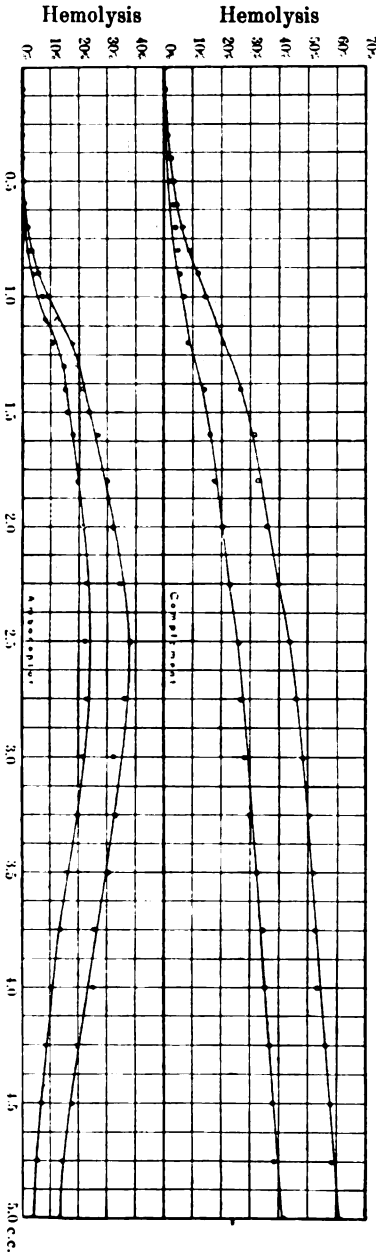


Fig. 8. Complement and amboceptor curves compared. The two upper curves were made with 0.0135 c.c. and 0.018 c.c. constant complement respectively, the two lower curves with the same amounts of constant amboceptor. The curves were made on the same day and with the same sera and corpuscles.

A second series made with smaller constant amounts of complement is shown in Fig. 7. A comparison between the amboceptor and complement curve, is made in Fig. 8.

The whole serum. Experiments were also undertaken to determine the effect of varying both complement and amboceptor simultaneously. To do this, corpuscles were exposed to increasing amounts of hemolytic serum, or of an artificial amboceptor-complement mixture, and curves plotted as before.

A curve obtained in this way is shown in Fig. 9. This curve was so nearly the parabola determined by the equation

$$\text{Hemolysis} = K(\text{Serum})^2$$

that in drawing it an accurately-determined point, A, was selected as a point of true observation and the curve calculated mathematically from it. The agreement between the observed hemolysis and the hemolysis calculated from this assumption is shown in Table I.

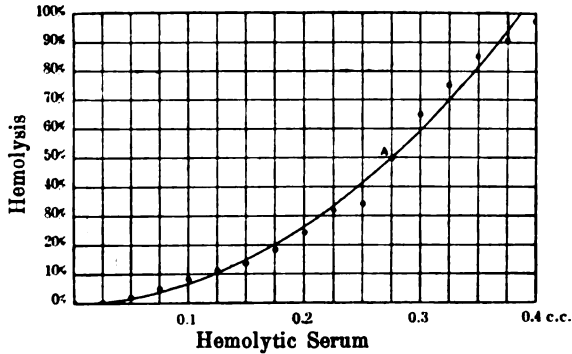


Fig. 9. The curve of squares. (Immune Serum No. 1.)

Table I. The curve of squares (see Fig. 9).

Serum	Hemolysis (obs.)	Hemolysis (calc.)	Serum	Hemolysis (obs.)	Hemolysis (calc.)
c.c.	%	%	c.c.	%	%
0.000	0	0	0.225	33	33
0.025	0 +	0.4	0.250	34	41
0.050	2.5	1.6	0.275	50	[50]
0.075	5	3.8	0.300	65	60
0.100	8.5	6.6	0.325	75	70
0.125	11.25	10.3	0.350	85	81
0.150	13.75	15	0.375	90	93
0.175	18.5	20	0.400	95	103
0.200	24	26.5			

From this agreement a law might readily have been deduced that the amount of hemolysis increases as the square of the amount of serum present, were it not for the fact that the serum of a second animal gave a totally different curve (Fig. 10). Three months later, after eight additional injections, a similar curve was obtained from the first animal (Fig. 11).

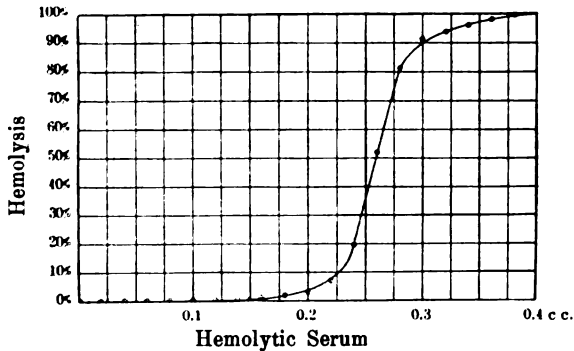


Fig. 10. Whole-serum curve. (Immune Serum No. 2.)

It was suspected from this that the approximate parabola obtained above was a special case of a more complex curve. A reexamination of data showed this in fact, to be the case, the true hemolytic curve

being, even in this case, a curve of double curvature. The relation between the true curve and the calculated parabola is shown in Fig. 12.

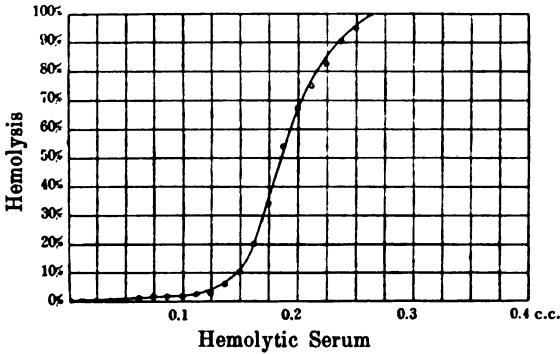


Fig. 11. Whole-serum curve. (Immune Serum No. 1; three months later.)

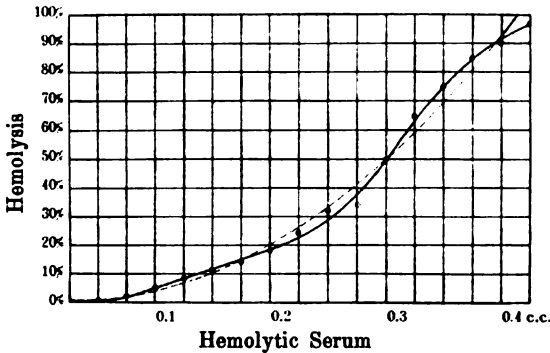


Fig. 12. Whole-serum curve and curve of squares; compared. (See Table 9.)

As the curve changed with repeated injections, it was thought that its nature might depend on the relative amounts of complement and amboceptor present. Curves were therefore plotted with various artificial amboceptor-complement mixtures. A number of these are shown in Fig. 13.

By interpolating a curve between A and B in this series a curve would be obtained that approximates a parabola. Attempt to reproduce this parabola with an artificial amboceptor-complement mixture was successful (Fig. 14).

The corpuscles. Experiments were also undertaken to determine the effect of varying the number of corpuscles. Increasing numbers of corpuscles were subjected to the action of the same amount of hemolytic serum

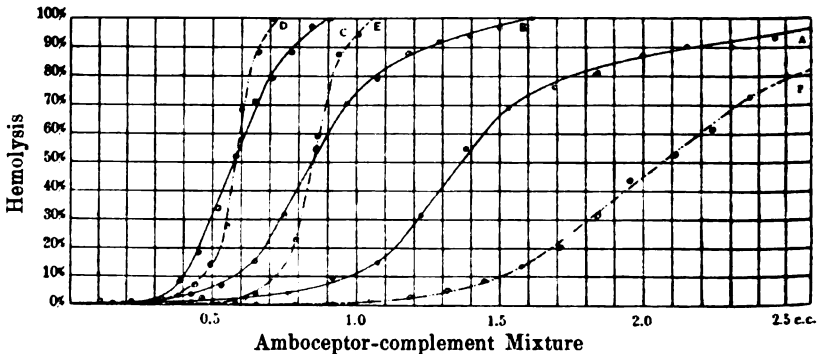


Fig. 13. Artificial whole-serum curves. Read in alphabetic order the curves were made with the following approximate amboceptor-complement ratios: 1:40, 1:13, 1:3, 1:1, 5:1, 20:1.

and the amount of hemoglobin liberated estimated colorometrically, as before. Four curves obtained in this way are shown in Fig. 15. In

this figure the curve of complete lysis is represented by the straight line AB.

Conclusion.

These curves are part of work preliminary to the study of the physico-chemical laws governing hemolytic serum. They are of value in showing the complexity of hemolytic action, and in illustrating the readiness with which erroneous conclusions can be drawn. The curves,

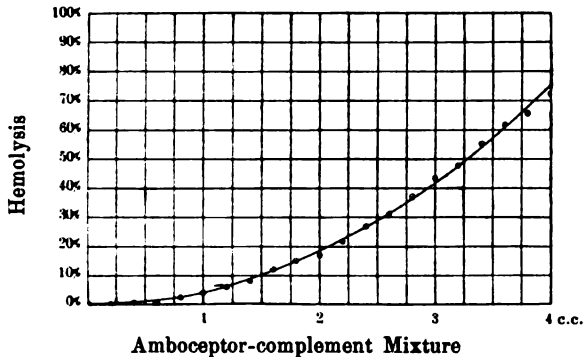


Fig. 14. Coincident whole-serum curve and curve of squares.

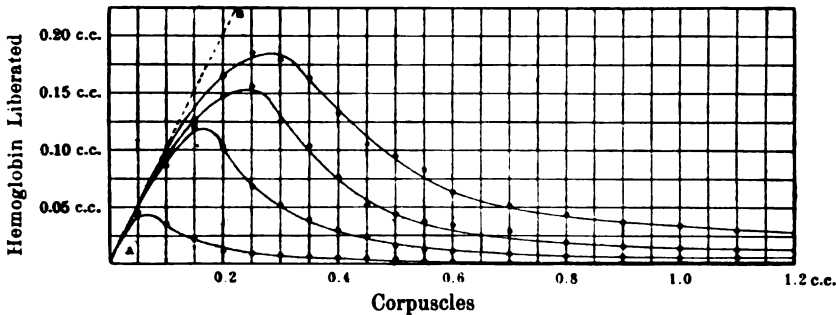


Fig. 15. Corpuscle curves. Read from below upwards the curves were made with the following constant amounts of hemolytic serum: $0.13\frac{1}{3}$ c.c., $0.16\frac{2}{3}$ c.c., 0.20 c.c., $0.23\frac{1}{3}$ c.c.

moreover, in themselves, furnish data by means of which one of the physico-chemical laws recently proposed for such serum can be tested. An analysis of the data with this object in view will be the subject of a later report.

Nachdruck verboten.

Die spezifischen Serumveränderungen bei Cholera bacillenzwischenträgern¹⁾.

[Aus dem Königl. hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Professor R. Pfeiffer).]

Von E. Friedberger.

Die Bildung beträchtlicher Mengen spezifischer Antikörper im Blute bei Cholera asiatica ist seit Entdeckung dieser Stoffe durch R. Pfeiffer wohl bei allen Cholera epidemien von zahlreichen Autoren nachgewiesen.

1) Diese Bezeichnung möchte ich für gesunde Individuen vorschlagen, die Krankheitserreger ausscheiden, ohne krank gewesen zu sein, während der Ausbruch „Bacillen-

Dagegen liegen Befunde über einschlägige Untersuchungen des Serums von Cholera-Bacillenzwischenträgern — soweit mir die Literatur zugänglich ist — bisher nicht vor.

Gerade aber von Untersuchungen des Bluteserums derartiger Personen durfte man in mancher Richtung interessante Aufschlüsse erwarten.

Bei der diesjährigen Choleraepidemie bot sich mir die willkommene Gelegenheit, diese Untersuchungen mit dem Bluteserum von 3 gesunden Bacillenzwischenträgern, aus deren Stuhl im hygienischen Institut Choleraerreger gezüchtet wurden, auszuführen.

Im ersten Falle handelte es sich um ein 12-jähriges Mädchen, Marie Sch. aus Warnikheim in Ostpreußen, deren Mutter einem rapiden Choleraanfall erlegen war.

Nach Ueberführung der ansteckungsverdächtigen Familie in die Isolierbaracke in Korschen wurden bei dem erwähnten Kinde alsbald im hygienischen Institut reichliche Mengen von Cholera-Vibrionen im Stuhl nachgewiesen. Die Vibrionenausscheidung dauerte, vom Tage der ersten Untersuchung an gerechnet, 9 Tage (18.—27. September), von da an war der Stuhl dauernd vibrionenfrei.

Während des ganzen Aufenthaltes in der Isolierbaracke waren objektiv keinerlei Krankheitssymptome bei der „Patientin“ nachweisbar; ebenso war das subjektive Befinden normal; der Stuhl war stets von normaler Konsistenz und Farbe.

Anamnestisch ergaben sich gleichfalls keine Anhaltspunkte für eine vorausgegangene, wenn auch noch so leichte Choleraerkrankung.

Am 8. Tage der nachgewiesenen Vibrionenausscheidung (26. September) entnahm ich der Patientin etwas Blut; auch bei dieser Gelegenheit erklärte mir das sehr wohl aussehende Kind auf eingehendes Befragen, in der kritischen Zeit keinerlei Krankheitssymptome verspürt zu haben.

Die beiden anderen Bacillenzwischenträger, Rosalie K., 43 Jahre, und Hildegard K., 2 Jahre, gehörten einer russischen Flößerfamilie an, auf deren Traft vor Dirschau ein einjähriges Kind an Cholera erkrankt und gestorben war. Die Familie wurde in Dirschau isoliert und bei den beiden erwähnten Personen wurden im Königsberger hygienischen Institut reichliche Mengen von Cholera-Vibrionen im Stuhl nachgewiesen. Die Vibrionenausscheidung dauerte bei Rosalie K. vom 18.—21. September, bei Hildegard K. vom 18. bis 22. September.

Das Befinden der beiden Bacillenzwischenträger war, wie mir der Leiter der Choleraüberwachungsstelle in Dirschau, Herr Stabsarzt Dr. Vagedes, mitteilt, während der ganzen Beobachtungszeit völlig normal; auch anamnestisch waren keine Anhaltspunkte für eine vorausgegangene Choleraerkrankung zu gewinnen.

Am 22. September sandte mir Herr Stabsarzt Vagedes auf mein Ersuchen von den beiden Personen etwas Blut; hierfür und für die freundliche Auskunft über die Gesundheitsverhältnisse der beiden Bacillenträger gestatte ich mir, ihm auch an dieser Stelle zu danken.

Die Sera der drei Bacillenträger wurden mit einem Cholera-Stamm von $\frac{1}{10}$ Oese Virulenz auf ihren Gehalt an bakteriziden Antikörpern im Pfeifferschen Versuch geprüft und ferner das eine Serum, von dem genügende Quantitäten zur Verfügung standen, mit dem homologen

träger“ besser für diejenigen Personen reserviert bleibt, die nach überstandener Krankheit die Erreger abnorm lange Zeit über die Rekonvaleszenz hinaus in ihrem Organismus beherbergen.

und einer Reihe anderer Stämme auf seine agglutinierende Fähigkeit ausgewertet.

Die Resultate dieser Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Serum der	Bakterizider Titer mit virul. Cholera	Agglutinationstiter mit Stamm			
		Marie Sch.	Rosalie K.	7.	1.
Marie Sch.	5—1 mg	$\frac{1}{30} \pm$ $\frac{1}{40} =$	$\frac{1}{30} \pm$ $\frac{1}{40} =$	$\frac{1}{30} \pm$ $\frac{1}{40} =$	$\frac{1}{30} \pm$ $\frac{1}{40} =$
Rosalie K.	1—0,5 „				
Hildegard K.	5—1 „				

Wie die Tabelle zeigt, sind einigermaßen erhebliche Mengen von Agglutinin in dem einen darauf untersuchten Falle nicht nachweisbar gewesen, weder gegenüber dem homologen (aus der Bacillenzwischenträgerin gezüchteten) noch gegenüber anderen Stämmen von Bacillenzwischenträgern und Cholera kranken der letzten Epidemie.

Diese Stämme sind im übrigen, wie die vergleichenden Versuche mit tierischen Immuneris ergeben, gut agglutinabel.

Dagegen zeigt uns die Tabelle, daß bakterizide Schutzstoffe bei allen drei Bacillenträgern in beträchtlichem Grade vorhanden sind.

Wenn wir den Normaltiter des menschlichen Serums mit ca. 0,5 annehmen, so ist bei unseren Bacillenträgern eine Steigerung auf das 100- bis 500-fache dieses Wertes zu konstatieren.

Diese Anhäufung spezifischer Schutzstoffe müssen wir wohl zunächst auf die Anwesenheit der Cholera vibriionen im Darm zurückführen. Allerdings sind gegen diese Deutung zwei Einwände möglich:

1) Der hohe bakterizide Titer ist die Folge einer früher überstandenen — vielleicht nur leichten — deshalb der Patientin nicht mehr erinnerlichen Cholera; das könnte bei der 43-jährigen Flößersfrau aus Rußland allenfalls zutreffen, ist aber bei der 12-jährigen Marie Sch. aus Warnikeim ausgeschlossen, die nie aus ihrem ostpreußischen Dorfe herausgekommen ist, wo sicher seit mehr als 10 Jahren keine Cholera geherrscht hat.

2) Der hohe bakterizide Titer ist nicht die Folge der Vibrionen-invasion, sondern ist das Primäre; er ist gerade die Ursache dafür, daß die Choleraerreger im Organismus keine krankmachende Wirkung entfalten konnten. So bestechend auch diese Annahme ist, so ist sie doch höchst unwahrscheinlich, wenn wir in Betracht ziehen, daß auch nur annähernd gleich hohe Werte bei der Austitrierung vieler menschlicher Normalsera durch die verschiedensten Autoren bisher nie gefunden worden sind.

Der hohe Titer bei den Bacillenzwischenträgern muß also durch die im Darm vegetierenden spezifischen Erreger herbeigeführt sein. Gerade die Cholera asiatica bietet ja in ihrem Verlaufe die mannigfachsten Uebergänge von der foudroyanten, mit einer völligen Zerstörung des Darmepithels einhergehenden und in kürzester Zeit zum Tode führenden Enteritis bis zur leichtesten Reizung der Darmschleimhaut.

Wir müssen annehmen, daß eine ganz leichte, mehr oder weniger lokalisierte Infektion der Schleimhaut auch in unseren Fällen bestanden hat, wenn auch die Bacillenträger keine objektiven Krankheitssymptome darboten und sich subjektiv wohl fühlten.

Ohne diese Annahme wäre es schwer verständlich, wie die doch wohl nur in geringen Mengen in den Darm gelangten Vibrionen sich da so lange halten und vermehren konnten.

Auf diese Weise erklären sich auch leicht die beobachteten spezifischen Serumveränderungen. Wir dürfen annehmen, daß Zerfallsprodukte der in und auf der Schleimhaut des Darmes natürlich in großen Mengen absterbenden Bakterien resorbiert worden sind und so allmählich eine aktive Immunität erzeugt haben.

Vielleicht handelt es sich bei den Bacillenzwischenträgern um Individuen, deren Organismus besonders prompt und intensiv auf den Reiz der resorbierten Bakterienmassen mit der Bildung von Antikörpern antwortet, so prompt, daß es infolge dieser „Schnellimmunisierung“ überhaupt gar nicht mehr zum Ausbruch von Krankheitssymptomen kommen kann, sondern die Bacillenausscheidung und die spezifische Serumveränderung die einzigen Symptome der stattgehabten Infektion bleiben.

Eine lokale Infektion der Darmschleimhaut hat wohl die Resorption der Bakterienantigene begünstigt und die hohen Titerwerte dadurch ermöglicht, denn von der intakten Schleimhaut des Verdauungstraktus aus gelingt eine Immunisierung mit Bakterien nur sehr unvollkommen. Hierfür sprechen auch die Ergebnisse von mir angestellter Fütterungsversuche an Kaninchen.

Kaninchen No. 43, 2250 g, erhält nach 24-stündiger Hungerperiode mit der Schlundsonde eine Aufschwemmung von 5 bei 60° abgetöteten Schrägagarkulturen per os.

Am 8. Tage nach dieser Eingießung beträgt der bakteriolytische Titer 0,0075, der Agglutinationswert $\frac{1}{10} +$, $\frac{1}{20} \pm$.

Kaninchen No. 44, grau, 820 g, wird mit 5 Agarkulturen und nach weiteren 8 Tagen, nachdem keine nachweisbare Antikörperbildung erfolgt war, noch mit 12 Agarkulturen von abgetöteter Cholera wie das vorige Tier behandelt.

Am 8. Tage nach der letzten Fütterung mit Cholera-vibrionen betrug der bakteriolytische Titer 6 mg (gegen 0,3 normal) und der Agglutinationswert $\frac{1}{10} +$, $\frac{1}{20} \pm$ (vorher 1:3 -).

Wenn man die kleinen Mengen von Cholera-vibrionen in Betracht zieht, die vom Unterhautzellgewebe und vor allem nach meinen Untersuchungen von der Blutbahn aus genügen, um bei dem so reaktionsfähigen Kaninchen die höchsten Titerwerte zu erzielen, so sind die geringen Ergebnisse, die durch die Verfütterung einer so kolossalen Bakterienmenge erzeugt sind, für die Annahme einer Resorption beim Menschen durch die völlig gesunde Schleimhaut wenig günstig.

Es wäre immerhin noch der Einwand möglich, daß die Bakterien bei der Passage durch den langen Darm des Pflanzenfressers allzusehr durch die Verdauungssäfte alteriert und in ihren antigenen Eigenschaften geschwächt worden wären und daß dadurch die geringen Werte beim Kaninchen zu erklären wären. Daß aber die Verdauungssäfte auch bei protrahierter Einwirkung nicht die Antigene der Bakterien vollständig zu zerstören vermögen, konnte ich speziell für Cholera nachweisen.

Je 5 Oesen Kultur (bei 60° abgetötet) wurden durch 12 Stunden mit einer künstlichen, auf ihre Wirksamkeit geprüften Verdauungsflüssigkeit mit Pepsin- resp. Trypsin-

1) Fränkel und Otto (Münch. med. Wochenschr. 1897. No. 39) behaupten allerdings, daß bei Verfütterung von Typhusbakterien an junge Hunde nur Agglutinine, keine Bakteriolytine gebildet würden. — Schon Schwarz (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXII. 1903. p. 641) konnte in Versuchen mit Coli die Befunde dieser Autoren nicht bestätigen und auch die obigen Resultate meiner Cholera-verfütterungsversuche sprachen nicht im Sinne von Fränkel und Otto.

zusatz behandelt. Die durch Kerzen filtrierte sterile Flüssigkeit, ebenso wie die ange-dauten Bakterienrückstände wurden auf ihre antigene Fähigkeit geprüft.

2 ccm des Pepsinfiltrates einem Kaninchen von 1700 g injiziert, lieferten ein Serum, das am 8. Tage nach der Injektion Cholera bis $\frac{1}{50}$ agglutinierte (Grenze des Normalserums 1:3) und dessen bakteriolytischer Titer geringer als 1 mg war.

Gleich wirksam erwies sich das Filtrat der mit Trypsin verdauten Vibrionen.

Auch die ange-dauten Bakterienrückstände, sowohl die „Pepsinbakterien“ wie die „Trypsinbakterien“ zeigten intensive antigene Wirkung. Steigerung des Agglutinationswertes durch intravenöse Injektion von $\frac{1}{2}$ Oese beim Kaninchen für Agglutination um das 20-fache, für Bakteriolyse um das ca. 500-fache des Normalwertes.

Auffallend ist, daß bei dem einen daraufhin untersuchten Bacillen-zwischenträger bei der Gegenwart beträchtlicher Mengen von bakteriziden Schutzstoffen die Agglutininbildung so sehr gering war.

Es ist das gerade ein umgekehrtes Verhalten, als wie man es nach den Versuchen von Fränkel und Otto zunächst erwarten mußte.

Ob hier eine Zufälligkeit oder ein gesetzmäßiges Verhalten vorliegt, kann natürlich nicht entschieden werden, solange ein größeres Unter-suchungsmaterial nicht zur Verfügung steht. Es sei jedoch hier an die gleichfalls negativen Agglutinationsbefunde erinnert, die Jürgens¹⁾ bei einigen Typhusbacillenträgern erhoben hat.

Epidemiologisch kann unter Umständen die Tatsache, daß beim Cholera-bacillenzwischenträger spezifische Antikörper im Serum auftreten, von hoher Bedeutung sein, um die verschlungenen Wege der Infektion auf-zudecken. Wenn wir irgendwo, fern von der großen Seuchenstraße, einen lokalen Choleraherd entstehen sehen, ohne daß andere als „ge-sunde“ Personen zu- resp. durchgereist sind, so vermag oft noch die Untersuchung des Bluts erums dieser Individuen zu einer Zeit, wo sie schon längst wieder bacillenfrei sind, die Entstehung der Epidemie auf die einfachste und natürlichste Weise aufzudecken; und dadurch wird allen jenen müßigen Spekulationen, wie sie sich gerade an die Ent-stehung derartiger Epidemien geknüpft haben, der Boden entzogen.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Professor R. Pfeiffer, sage ich für das dieser Arbeit entgegengebrachte Interesse meinen ergebensten Dank.

Nachdruck verboten.

La tétanoly sine et la peptone de Witte.

[Travail de l'Institut sérothérapique de l'Etat Danois. Copenhague.]

Par Th. Madsen et L. Walbum.

Outre l'antitétanoly sine obtenue par immunisation, nous connaissons un certain nombre de substances possédant la faculté de neutraliser les effets hémolytiques de la tétanoly sine. Tel est le cas de plusieurs sérums normaux (Ehrlich, Kraus et Clairmont, Detré et Sellei), de l'albumine (Arrhenius et Madsen), de la choléstérine (Noguchi), et de plusieurs autres substances „lipoides“.

Nous avons trouvé une nouvelle antitétanoly sine très active dans la peptone de Witte; nous communiquerons dans ce qui suit quelques déterminations quantitatives de la vitesse de réaction entre ces deux substances.

1) Jürgens, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII.

La tétanolysine était de cette force, que 0,8 c.c. produisaient une hémolyse totale dans une émulsion de 1% d'hématies de cheval en solution de NaCl, de 0,9%, et qui avaient été lavées une fois dans une solution salée de la même force. Comme peptone fut employée une solution de 2% de la peptone de Witte, de même, dans une solution de NaCl de 0,9%.

Le mode de faire s'explique le mieux par la description d'une expérience. On chauffe la tétanolysine, la solution de peptone de 2%, et la solution de NaCl de 0,9% dans un bain marie Ostwald jusqu'à 37,7°, la température de réaction. Ensuite, on mélange les liquides dans la proportion de 4 c.c. de lysine, 0,2 c.c. de sol. de peptone, et 3,8 c.c. de sol. de NaCl.

Au bout des temps indiqués au Tabl. I, première colonne, on prend des échantillons qu'on refroidit aussitôt à 0° dans des tubes entourés d'eau avec de la glace fondante; ainsi, on les conserve jusqu'à la fin de l'expérience. Par ce fort refroidissement, la vitesse de réaction fut réduite à un minimum, et tous les échantillons purent être conservés à 0°, sans progrès notable de la destruction de la toxine.

Puis, on observa simultanément la faculté hémolytique de tous les échantillons vis-à-vis d'une émulsion de 1% de sang de cheval en sol. de NaCl de 0,9%, selon le procédé ordinaire de cet Institut. De chaque échantillon, on répartit d'abord des quantités décroissantes dans une série de tubes, puis on ajouta tant de sol. de NaCl que le volume total de chaque tube devint le même partout, 2. c.c.; enfin, on ajouta, avec une seringue, 8 c.c. de 1% d'émulsion d'hématies lavées de cheval. On agite rapidement le mélange; tous les tubes sont plongés dans un bain d'eau à 37°; au bout de 30 minutes, on les sort; on les met à 2°; le lendemain, on note le pourcentage de l'hémolyse, estimant l'hémolyse totale égale à 100.

La source d'erreur provenant du réchauffement de la peptone et de la tétanolysine à 37°, semble être très petite. Cela est probablement dû à ce que le mélange fut très dilué par l'addition du sang; encore, la lysine libre est presque immédiatement fixée par les hématies, et échappe ainsi à l'influence de la peptone. La toxicité, marquée par q dans les tableaux, est calculée en la supposant égale à 100 pour le temps 0.

Tabl. I.

4 c.c. de tétanolysine + 0,2 c.c. de peptone (2%) + 3,8 c.c. de NaCl.

Temp. 37,7°.

Temps t (Heures)	Toxicité		$\frac{1}{q}$ obs.	$\frac{1}{q}$ calc.
	q obs.	q calc.		
0	100	100	0,01	0,01
0,25	81.	77	0,0123	0,013
0,5	55	62	0,0182	0,0161
1	45	44	0,0222	0,0225
2	25	28	0,04	0,0355
3	20	21	0,05	0,0485
4	16,3	16,3	0,0614	0,0613
6	11,5	11,5	0,087	0,087
8	6,1	8,9	0,164	0,113

$$K = 0,0128.$$

On voit que la toxicité décroît proportionnellement aux temps. La réaction semble suivre la loi d'une réaction bimoléculaire quant à la quantité de lysine libre (q); ainsi, nous avons:

$$-\frac{dq}{dt} = Kq^2$$

$$\text{et: } \frac{1}{q_2} - \frac{1}{q_1} = K(t_2 - t_1).$$

Les valeurs de q , calculées suivant cette supposition, avec $K = 0,0128$, s'accordent, en dedans de la faute d'expérience, avec celles calculées. —

Pour les expériences des Tabl. II et III, on s'est servi de deux différentes solutions de peptone. Chacune comprend trois expériences avec 0,15; 0,20; et 0,25 c.c. de sol. de peptone de 2%, qui fut mélangée avec respectivement 3,85, 3,8, et 3,75 c.c. de sol. de NaCl, et 4 c.c. de lysine. La température était la même, 36,1°, dans les deux cas.

Tabl. II.
Temp. 36,1°.
0,15 c.c. de peptone.

t Heures	Toxicité		$\frac{1}{q}$ obs.	$\frac{1}{q}$ calc.
	q obs.	q calc.		
0	100	(55,8)	0,01	(0,0179)
0,5	47,7	47,7	0,021	0,0210
1	39,7	41,4	0,0252	0,0241
2	30,3	33,0	0,0330	0,0303
4	22,3	23,4	0,0448	0,0427
6	18,1	18,1	0,0552	0,0551
8	17	14,8	0,0588	0,0675

$$K = 0,0062.$$

0,20 c.c. de peptone.

0	100	(60)	0,01	(0,0167)
0,5	41,6	41,6	0,024	0,024
1	30,3	31,5	0,033	0,0313
2	20	21,5	0,050	0,0460
4	12,2	13,5	0,082	0,0754
6	9,6	9,7	0,105	0,105
8	8	7,5	0,125	0,134

$$K = 0,0147.$$

0,25 c.c. de peptone.

0	100	(70)	0,01	(0,0142)
0,5	35,2	35,2	0,0284	0,0284
1	22	23,4	0,0455	0,0426
2	13	14	0,0769	0,0711
4	6,0	7,8	0,167	0,128
6	5,3	5,4	0,189	0,185
8	3,8	4,1	0,263	0,242

$$K = 0,0285.$$

Tabl. III.
Temp. 36,1°.

0,15 c.c. de peptone.

t Heures	Toxicité		$\frac{1}{q}$ obs.	$\frac{1}{q}$ calc.
	q obs.	q calc.		
0	100	(56,2)	0,01	(0,0178)
0,5	47	47	0,0213	0,0213
1	39,3	40,3	0,0257	0,0248
2	29,7	31,4	0,0337	0,0318
4	22	21,8	0,0455	0,0458
6	16,7	14,3	0,0599	0,0698
8	14,7	13,6	0,068	0,0738

$$K = 0,007.$$

t Heures	0,20 c.c. de peptone.		1 obs. q	$\frac{1}{q}$ calc.
	Toxicité			
	q obs.	q calc.		
0	100	(62,5)	0,01	(0,016)
0,5	41,2	41	0,0243	0,0244
1	29,7	30,5	0,0337	0,0328
2	19,8	20,4	0,0505	0,0491
4	12,1	12,1	0,0826	0,0825
6	8,9	8,6	0,112	0,116
8	6,7	6,7	0,149	0,149

$$K = 0,0167.$$

t	0,25 c.c. de peptone.		1 obs. q	$\frac{1}{q}$ calc.
	Toxicité			
Heures	q obs.	q calc.		
0	100	(71,4)	0,01	(0,014)
0,5	40,6	40	0,0246	0,025
1	26,6	23,8	0,0376	0,042
2	14,8	13,2	0,0676	0,0756
4	7	7	0,143	0,143
6	4,1	4,8	0,244	0,210
8	3	3,6	0,333	0,277

$$K = 0,0337.$$

Les valeurs calculées suivant la formule ci-dessus, s'accordent avec celles observées, en dedans de la faute d'observation. Cependant, il y a une exception générale pour la première valeur ($t=0$), où la valeur calculée est constamment considérablement plus basse que celle observée. Ceci provient probablement de ce qu'il est difficile — comme dans beaucoup de processus chimiques — de déterminer le zéro du temps, puisque la réaction ne finit pas immédiatement après que le mélange a été sortie du bain d'eau.

La constante K s'accroît très rapidement avec la concentration de la solution, quant à la peptone, ce qu'indiquent les tableaux suivants.

Résumé du T. II.

Conc. de pept. C.	0,15	0,20	0,25
Const. K obs.	0,0062	0,0147	0,0285
Const. K calc.			
= 1,833 c.c.	0,0062	0,0147	0,0286

Résumé du T. III.

Conc. de pept. C.	0,15	0,20	0,25
Const. K obs.	0,007	0,0167	0,0337
Const. K calc.			
= 2,125 c.c.	0,0072	0,017	0,0332

La vitesse de réaction est proportionnelle à $q^2 C^3$, ce qu'on pourra expliquer en supposant qu'il se forme d'abord une combinaison de deux molécules de tétanolsine et de trois molécules de peptone, combinaison se décomposant très vite, avec destruction de la tetanolysine.

Il ressort du caractère de la réaction que l'effet de la peptone est différent de celui de l'antily sine préparée par immunisation; elle semble plutôt fonctionner comme une espèce de catalysateur. On peut aussi montrer la différence autrement. Les propriétés antihémolytiques de la peptone ne s'affaiblissent pas par l'ébullition, même pendant une demi-heure; au contraire, elles semblent augmenter un peu. —

Les expériences décrites ont toutes été exécuté avec la peptone de Witte, constituée essentiellement, à ce qu'on présume, d'albumoses. Toutefois, une autre préparation de peptone, celle de Chapeaut, n'offre aucun effet prévenant du tout vis-à-vis de la

tétanoly sine. Pour savoir si la peptone de Witte possède constamment des propriétés antihémolytiques, on examina une nouvelle préparation, qui avait des effets encore plus forts que la première. Cette fois, l'influence de la température fut impliquée dans les expériences, par la mensuration à 4 différentes températures 37,1°, 31,2°, 27,5°, et 17,8°, de la vitesse de réaction entre 0,08 c.c. de peptone de 2%, et 4 c.c. de lysine.

Tabl. IV.

Influence de la température.

4 c.c. tétanoly sine + 0,08 c.c. de peptone + 3,92 c.c. de NaCl.

t Heures	Toxicité		$\frac{1}{q}$	
	q obs.	q calc.	obs.	calc.
37,1°.				
0	100	100	0,01	0,01
0,33	41,5	41,7	0,0241	0,024
1	18,8	18,9	0,0532	0,053
2	12,1	10,4	0,083	0,096
K = 0,0431.				
31,2°.				
0	100	100	0,01	0,01
0,33	46,7	48,8	0,0214	0,0205
1	26,3	24,2	0,038	0,0414
2	13,2	13,8	0,0758	0,0726
K = 0,0313.				
27,5°.				
0	100	100	0,01	0,01
0,33	48,9	54,9	0,0205	0,0182
1	28,3	28,2	0,0353	0,0355
2	16,7	16,4	0,0599	0,061
4	9,5	8,9	0,106	0,112
K = 0,0255.				
17,8°.				
0	100	100	0,01	0,01
0,33	69,8	69	0,0143	0,0145
1	46,1	40,8	0,0217	0,0245
2	21,5	25,7	0,0465	0,0389
4	13	14,8	0,0769	0,0676
K = 0,0144.				

Comme le montre le Tabl. IV, l'accord entre les valeurs observées et calculées est satisfaisant, bien qu'il le soit moins à 17,8°, où la température n'était pas tout-à-fait constante. Comme présumé, la vitesse de réaction monte avec la température, et la corrélation peut s'exprimer par la même formule qu'Arrhenius a indiqué pour la dépendance de la vitesse de réaction de la température, dans nombre de phénomènes chimiques connus

$$\frac{K_1}{K_2} = e^{\mu \frac{T_1 - T_2}{T_1 T_2}}$$

où K indique la vitesse de réaction aux températures T_1 et T_2 ; T_1 , et T_2 , les températures absolues, où μ est une constante, et R, exprimé en calories, est supposé égal à 2.

Ci-dessous, on trouvera une resumée des valeurs du T. IV.

Temp.	K obs.	K. calc.
37,1°	0,0431	0,0431
31,2°	0,0313	0,0313
27,5°	0,0255	0,0255
17,8°	0,0144	0,0144

La première colonne indique la température, la deuxième les valeurs observées, la troisième les valeurs de la vitesse de réaction calculées suivant la formule précitée. L'accord est parfaitement satisfaisant, d'où il ressort que l'influence de la température sur la vitesse de réaction est de la même nature que dans la plupart des processus chimiques.

L'exposant μ fut trouvé égal à 10 200, donc de même ordre que pour la saponification de l'acétate éthylique (11160 cal.).

Des recherches nouvelles doivent nous apprendre quelle est la substance de la peptone de Witte qui cause cet antieffet. Nous ajouterons encore qu'elle est soluble en éther, acétone, alcool et chloroforme.

Nachdruck verboten.

Ueber die bakterizide Kraft des 60-proz. Aethylalkohols.

[Aus dem hygienisch-bakteriologischen Institut zu Straßburg i. E.]

Von Dr. J. Igersheimer.

Bestände die früher allgemein aufgestellte Forderung noch zu Recht, daß ein Desinfektionsmittel nur dann den nötigen Anforderungen Genüge leiste, wenn es auch die Dauersporen der Bakterien abtöte, so hätte eine Untersuchung über die desinfektorischen Fähigkeiten des Alkohols wohl kaum einen Sinn; Koch ¹⁾ hat ja bereits vor vielen Jahren gezeigt, daß Milzbrandsporen dem Alkohol monatelang widerstehen, und zu ähnlichen Resultaten gelangten nach ihm Krönig ²⁾, Minervini ³⁾, Barsickow ⁴⁾, Weigl ⁵⁾ u. A. Höchstens scheinen der siedende Alkohol [Saul ⁶⁾] und Alkoholdämpfe [Franck ⁷⁾, v. Brunn ⁸⁾] sporentötende Eigenschaften zu besitzen, allerdings betont Seige ⁹⁾ gegenüber den Ergebnissen der letztgenannten Autoren, daß Wasserdämpfe viel energischer auf die Sporen wirken als Alkoholdämpfe.

Die Forderung gilt nun allerdings heute nicht mehr, sondern es kommt darauf an, zum ständigen Gebrauch ein möglichst wenig giftiges Antiseptikum zu besitzen, das die vegetativen Bakterienformen möglichst rasch und möglichst sicher abtötet. Der Alkohol war seit 1888 nach dieser Richtung hin vielfach Gegenstand eingehender Untersuchungen, aber die Autoren kamen zu sehr widersprechenden, oft ganz rätselhaften Resultaten. Während Landsberg ¹⁰⁾, Leedham-Green ¹¹⁾ und vor

1) Koch, R., Veröffentl. d. kaiserl. Gesundheitsamts. Bd. I. 1882. p. 234.

2) Krönig, Centralbl. f. Gynäk. 1894. p. 1346.

3) Minervini, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. 1898. p. 117.

4) Barsickow, Refer. im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXI. 1902.

5) Weigl, Arch. f. Hyg. Bd. XLIV. 1902. p. 275.

6) Saul, Arch. f. klin. Chirurgie. 1898. p. 686.

7) Franck, Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 134.

8) v. Brunn, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. p. 309.

9) Seige, Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XVIII. 1902. p. 362.

10) Landsberg, Zur Desinfekt. d. menschl. Hand. [Inaug.-Diss.] Breslau 1888.

11) Leedham-Green, Dtsche med. Wochenschr. 1896. No. 23. p. 360.

allem bis in die neuere Zeit hinein Krönig dem Alkohol nahezu jede bakterientötende Eigenschaft abstreiten, gestehen ihm andere wohl bakterizide Fähigkeiten zu, jedoch erst nach einer Zeit, die für die Verwendung in der Desinfektionspraxis viel zu lang ist [Martens¹⁾, Epstein²⁾, Minervini], oder sie berichten, daß die Staphylokokken sich im Gegensatz zu den anderen Bakterien dem Alkohol gegenüber sehr resistent verhalten [Buchner, Fuchs, und Megele³⁾, Schaeffer⁴⁾, Weigl]. Eine dritte Gruppe vertritt das entgegengesetzte Extrem und hält den Alkohol für ausgezeichnet im Kampfe gegen die Bakterien [Baum⁵⁾, Ahlfeld und Vahle⁶⁾, Fürbringer und Freyhan⁷⁾, Tjaden⁸⁾, Winckler⁹⁾, Salzwedel und Elsner¹⁰⁾, Barsickow u. A.]. In machen Fragen, so z. B. betreffs der Konzentration des zu verwendenden Alkohols, herrscht auch im alkoholfreundlichen Lager keineswegs Uebereinstimmung. Aus den verschiedenen Arbeiten gewinnt man den Eindruck, daß der 50—70-proz. Alkohol die besten Wirkungen entfaltet; es wurde deshalb in den vorliegenden Untersuchungen, die auf Anregung des Herrn Prof. E. Levy unternommen wurden, der 60-proz. Alkohol benutzt und wegen der gleich im Anfang erzielten günstigen Resultate auch späterhin beibehalten.

I. Versuche an feuchten Bakterienkolonien.

Ahlfeld und Vahle¹¹⁾ teilten bereits vor längerer Zeit die Beobachtung mit, daß angefeuchtete Bakterien dem Alkohol gegenüber wenig widerstandsfähig sind. Darauf gerichtete eigene Versuche ergaben das gleiche Resultat, und sollen nur deshalb hier kurz Erwähnung finden, weil sie auf Grund einer quantitativen Versuchsanordnung angestellt sind und zeigen, wie außerordentlich groß die Bakterienmengen sein können, die von kleinen Quantitäten Alkohol abgetötet werden. Es wurden bestimmte Mengen des Rasens von Agarkulturen einer und derselben, gleichalterigen Bakterienart auf der analytischen Wage in steriler Schale abgewogen, wobei streng darauf geachtet wurde, daß keine Agartheilchen mitgewogen wurden; diese Bakterienkolonien wurden mit 2 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung fein zerrieben, dann wurde so viel 96-proz. Alkohol zugefügt, daß eine 60-proz. alkoholische Flüssigkeit entstand, gut gemischt, und aus dieser Flüssigkeit wurden nach 1, 3 und 5 Minuten 2 Spiralen, à 32 mg, in Bouillon und flüssigen Agar überimpft. Der mit auf die Nährböden übertragene Alkohol übte keinen irgendwie nennenswerten Einfluß auf die Kulturen aus, wovon wir uns durch besondere Versuche überzeugten. Wirgin¹²⁾ sah zwar schon nach 0,1 Proz. Alkoholzusatz zum Nährboden öfters eine Wachstumshemmung, die meisten Bakterien entwickelten sich auch bei ihm noch bis zu 5 Proz. Alkoholzusatz, einige bis zu 8,5 Proz.

1) Martens, Virchows Arch. Bd. CXII. 1888. p. 366.

2) Epstein, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIV. 1897. p. 1.

3) Buchner, Fuchs u. Megele, Arch. f. Hyg. Bd. XL. 1901. p. 347.

4) Schaeffer, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 9 u. 10.

5) Baum, Arch. f. Gynäk. Bd. LII. 1896. p. 621.

6) Ahlfeld u. Vahle, Dtsche med. Wochenschr. 1896. p. 81.

7) Fürbringer u. Freyhan, Dtsche med. Wochenschr. 1897. No. 6.

8) Tjaden, Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäk. Bd. XXXVIII. 1898. p. 351.

9) Winckler, Beitr. zur Frage d. Alkoholinfekt. [Inaug.-Diss.] Marburg 1899.

10) Salzwedel u. Elsner, Berl. klin. Wochenschr. 1900. p. 496.

11) l. c.

12) Wirgin, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902. p. 308.

Auf diese Weise an virulenten Kulturen von *Staphylococcus aureus*, *B. typhi*, *B. coli*, Diphtheriebacillen und *Pyocyaneus* angestellte Untersuchungen ergaben, daß noch 48 mg jeder dieser Bakterienarten von etwa 5 ccm 60-proz. Aethylalkohols in 1 Minute abgetötet werden (48 mg Diphtheriebacillen entsprechen ungefähr 12 Agarkulturen). Mit großer Wahrscheinlichkeit kann man die Bakterienmengen noch bedeutend steigern, wir mußten aber wegen allzugroßen Verbrauchs von Nährböden darauf verzichten. Für praktische Vergleiche genügen die genannten Mengen natürlich vollkommen.

II. Wirkung des Alkohols auf angetrocknete Bakterien.

Von ungleich größerer Wichtigkeit ist das Verhalten angetrockneter Bakterien dem Alkohol gegenüber; auf diesen Punkt wurde daher das Hauptgewicht in dem vorliegenden kleinen Beitrag gelegt. Zur Antrocknung dienten nicht, wie sonst meistens, Seidenfäden, Stahlnadeln oder Granaten, sondern aus später zu erörternden Gründen 3 qcm große, sicher sterilisierte Tapetenstücke. Auf diesen wurde 1 Tropfen Bouillonkultur gut verteilt, 24 Stunden lang angetrocknet; alsdann wurden die Stücke mit steriler, in 60-proz. Alkohol getauchter Watte 1 Minute lang leicht abgewaschen. Nach Verdunsten des Alkohols wurden die Papiere in sterile Bouillon hinein zerschnitten, und nachdem sie einige Zeit darin verweilt, wurde ein Teil der Bouillon zum Agarplattengießen verwendet. Das Wachstum auf beiden Nährböden wurde mindestens 8 Tage lang beobachtet.

Bei 22 mit *Staphylococcus aureus*, *B. coli* und *Pyocyaneus* angestellten Versuchen wurde 19mal Sterilität erzielt, 3mal wuchsen Keime; in den 3 Fällen handelte es sich stets um Tapeten, die mit Staphylokokken infiziert waren. Dieses Resultat wäre ein recht gutes zu nennen, wenn nicht ein Umstand die Beweiskraft der ganzen Versuchsreihe stark beeinträchtigt hätte. Von den dazugehörigen Kontrolltapeten, die nicht mit Alkohol abgewaschen waren, gingen nämlich in 11 Fällen ebenfalls keine Keime an, in den übrigen 11 Versuchen entwickelten sich allerdings unzählige Kolonien. Diese häufige Sterilität der Kontrollplatten machte zuerst der Deutung große Schwierigkeiten; es wurde auf bakterizide Eigenschaften der Tapetenfarben und ähnliches gefahndet, aber ohne Resultat. Schließlich führte uns ein Einwand auf den richtigen Weg, den Prof. Forster bereits 1899 gelegentlich der Pestkonferenz im kaiserl. Gesundheitsamt gegen die meisten Austrocknungsversuche erhoben hatte. Seiner Meinung nach können die physikalisch-chemischen Vorgänge, die beim Austrocknen einer Bouillonkultur erfolgen, starke Konzentration des Kochsalzes, Veränderung der Reaktion etc. für die Bakterien nicht gleichgültig sein.

Mit Rücksicht darauf wurden deshalb in einer neuen Versuchsreihe von 10 Versuchen die Tapetenstücke statt mit Bouillon- mit Agarkultur infiziert, und in der Tat wuchsen jetzt auf sämtlichen Kontrollen unzählige Keime. Mit allergrößter Wahrscheinlichkeit darf man wohl annehmen, daß hier die Vertauschung der Nährböden den Umschwung der Ergebnisse verursacht hat, es dürfte deshalb diese experimentelle Bestätigung der Forsterschen Anschauung vom allgemein-bakteriologischen Standpunkt entschieden von Interesse sein.

Für unsere Spezialfrage förderte die zweite Versuchsreihe gleich günstige Ergebnisse wie die erste, denn von den 10 Fällen brachte die Alkoholwaschung 9mal völlige Sterilität zu stande, nur einmal gingen

wenige Keime (59) an. Für diejenigen, die in dem mechanischen Moment des Abwaschens den Hauptgrund für das Zustandekommen der Sterilität sehen sollten, sei gesagt, daß ein großer Teil der Kontrollstücke statt mit Alkohol in analoger Weise mit physiologischer NaCl-Lösung abgerieben wurde und trotzdem sich unzählige Keime entwickelten. Es ist also der Alkohol, der in unseren Fällen Keimfreiheit hervorrief.

Nun ist aber diese außerordentlich starke Einwirkung des 60-proz. Alkohols auf Bakterien, die an Tapeten angetrocknet sind, nicht nur von theoretischem, sondern auch von praktischem Interesse, vor allem für die Wohnungsdesinfektion. Der Gedanke, daß der Alkohol die bisher gebräuchlichste Methode der Formollampen verdrängen soll, liegt uns ganz fern; in einzelnen Fällen aber, wenn es sich z. B. um Desinfektion einzelner Stellen der Wand handelt, oder auch, wenn die Lampen aus irgend welchen Gründen nicht zu beschaffen sind, dürfte wohl an den Alkohol ernstlich zu denken sein. Ob die Tapeten sehr leiden bei der Behandlung mit Alkohol, kann ich nicht endgültig entscheiden. Versuche an zehnerlei Tapetensorten ergaben, daß die mit Anilinfarben hergestellten Papiere stark sich verändern, während die Oeldrucke auch nicht im geringsten angegriffen werden; einen mittleren Standpunkt nahmen die Leindrucke ein, die zwar etwas Farbe verlieren, aber doch nicht erheblich geschädigt werden.

III. Händedesinfektion.

Auf dem Gebiete der Händedesinfektion ist die Alkoholfrage ganz besonders heiß umstritten, seitdem Reinicke¹⁾ als erster und dann vor allem Ahlfeld²⁾ für die ausschließliche Verwendung des Alkohols neben Wasser und Seife eintraten. Die meisten Praktiker desinfizieren sich heute noch immer nach der älteren Fürbringerschen Vorschrift, wobei der Alkohol nur ein Zwischenglied in der Waschung bildet und ihm eine zweite desinfizierende Flüssigkeit folgt, die Ahlfeldsche Methode dagegen scheint sich nur einer kleinen Anhängerschaft zu erfreuen; zwar resumiert v. Herff³⁾ in allerneuester Zeit seine Erfahrungen, die jedoch nicht auf experimenteller Grundlage, sondern auf klinischen Beobachtungen und Vergleichen fußen, dahin: „Der Alkohol übertrifft also an Tiefenwirkung in der Haut alle wässerigen antiseptischen Lösungen, auch die der Karbollösungen . . . , erreicht an Sicherheit und Schnelligkeit der bakteriziden Wirkung auf freiliegende Bakterien mindestens die 1‰ Sublimatlösung.“ Selbst Schaeffer⁴⁾, der nur eine mechanische Desinfektion gelten lassen will, meint auf Grund von etwa 1000 Versuchen, der Alkohol übertreffe nahezu alle anderen Antiseptica.

Als Gegner der alleinigen Verwendung des Alkohols traten gleich im Anfang Landsberg, Krönig, Leedham-Green auf, und in den letzten Jahren wandten sich vor allem Paul und Sarwey⁵⁾, Fueth-Mohaupt⁶⁾, Engels⁷⁾ u. A. gegen die Lehre Ahlfelds.

Der Streit drehte sich vorzugsweise um die eine Frage: Wirkt der

1) Reinicke, Arch. f. Gynäkol. 1895. Bd. XLIX. p. 515.

2) Ahlfeld, Dtsche med. Wochenschr. 1895. No. 51.

3) v. Herff, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 24 u. 25. p. 1132.

4) Schaeffer, Therap. Monatshefte. Bd. XVIII. 1904. p. 556.

5) Paul u. Sarwey, Münch. med. Wochenschr. 1899. p. 1634; 1900. p. 968.

6) Fueth-Mohaupt, Monatsschr. f. Geb. u. Gyn. Bd. XVIII. 1903. p. 831.

7) Engels, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. 1903. p. 786.

Alkohol genügend schnell und stark genug bakterizid, und zweitens darum, vermag er allein die Hände zu geburtshilflichen und chirurgischen Eingriffen genügend zu desinfizieren.

Die erste Frage halten wir auf Grund der oben angegebenen Versuche sowie der Versuche älterer Autoren für gelöst, auf die zweite Frage gehen wir nach anderer Richtung, als sonst üblich, ein. Die Aufmerksamkeit soll hier nicht auf die Desinfektion der normalen Tageshand des Operateurs gerichtet werden, sondern auf die Hände des Arztes in der Praxis, des Krankenpersonals, der Patienten, wenn sie mit infektiösem Material zu tun hatten.

Ein etwaiger Ersatz der gewöhnlich angewendeten Desinfizientien, die durch ihre Giftigkeit, teilweise durch ihren Geruch oder ihren Einfluß auf die Haut eher von der Desinfektion abhalten als zu ihr anregen, wäre sicherlich in vielen Fällen von großem Vorteil.

In der Versuchsanordnung mußte Wert gelegt werden auf eine kurze Desinfektion, ferner darauf, daß nach stattgehabter Infektion der Alkoholwaschung keine Desinfektion mit Wasser und Seife vorausging.

Die Hände und Unternagelräume wurden nach gründlicher Reinigung mit Wasser und Seife der Methode von Seitz¹⁾ gemäß mit Faeces infiziert, denen vorher 48-stündige Coli-Bouillonkultur zugemengt war. Nach $\frac{1}{4}$ -stündiger Antrocknung wurde von der einen Hand und einigen Unternagelräumen mittelst steriler Schwämmchen, später Wolläppchen auf Bouillon abgeimpft und ein Teil der Bouillon zum Agarplattengießen verwendet. Sodann erfolgte sofort die eigentliche Waschung mit Alkohol (3 Minuten bürsten) und zur Aufweichung wurden die Hände noch mindestens 5 Minuten in recht warmes Wasser gehalten; darauf erfolgte die Abimpfung wie vorher, nur von der anderen Hand und anderen Unternagelräumen.

Durch das Aufweichen der Hände sollte dem Vorwurf entgangen werden, einen Scheinerfolg erzielt zu haben. Selbstverständlich gibt unsere Art der Keimabnahme nur für die Verhältnisse der mehr oberflächlichen Hautschichten einen Beleg, das genügt aber, weil die tiefen, Schichten ja doch nur in den seltensten Fällen, wenn überhaupt, keimfrei gemacht werden können.

In der folgenden Tabelle sind die Resultate der Versuchsreihe zusammengestellt:

Datum	Vor der Desinfektion		Nach der Desinfektion	
	linke Hand	rechte Nägel	rechte Hand	linke Nägel
1. August 1905	+	+	—	1 (kein Coli)
3. " 1905	+	+	—	—
3. " 1905 (nachmittags)	—	+	—	—
4. August 1905	+	+	—	—
5. " 1905	+	+	—	—
6. " 1905	+	+	—	—
8. " 1905	+	+	—	—
9. " 1905	+	+	—	—

Die sterilisierende Wirkung des Alkohols in den vorliegenden Fällen ist sehr frappant, vor allem war der Unterschied in den Unternagelräumen äußerst stark, wogegen von den Händen auch vor der Desinfektion meistens nicht sehr viele Kolonien aufgingen.

1) Seitz, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904. p. 721.

Nebenbei sei bemerkt, daß derselbe Alkohol immer zu mehreren Versuchen gebraucht wurde.

Bereits seit den Untersuchungen von Forster und Wassinck¹⁾ ist es bekanntlich möglich, die Hände für praktische Bedürfnisse mit Karbolsäure, Sublimat und Seife zu reinigen; diese stark giftigen, chemischen Agentien können jedoch in den meisten Fällen wohl nur dem Arzt überwiesen werden.

Auf Grund der eigenen Beobachtungen und der anderer Autoren nun halte ich den Alkohol als Desinficiens sowohl für Arzt als auch für Krankenpersonal und Patienten für sehr zweckmäßig.

Die hohe bakterizide Kraft des Alkohols, seine fettlösende Eigenschaft sowie sein Vermögen, tief in die Haut einzudringen, weil er die Luft der Poren besonders stark absorbiert [Braatz²⁾], prädestinieren ihn zu einem vorzüglichen Desinfektionsmittel.

Den Herren Professoren Dr. J. Forster und Dr. E. Levy bin ich für viele wertvolle Ratschläge sowie ihre tatkräftige Unterstützung zu großem Dank verpflichtet.

Nachdruck verboten.

Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik.

[Aus der I. deutschen medizinischen Klinik in Prag
(Vorstand: Hofrat Prof. Pribram).]

Von **Viktor Kafka.**

(Fortsetzung.)

Derjenige, der die Grubersche Entdeckung für praktisch diagnostische Zwecke dienstbar gemacht hat, Widal selbst, hat positive Werte in Verdünnungen 1:10—15 als beweisend für die Diagnose Abdominaltyphus angesehen. Bei den zahlreichen Nachuntersuchungen stellte sich jedoch heraus, daß in vielen Fällen Blutserum von Menschen, die zur Zeit der Untersuchung völlig gesund waren und auch nie zuvor einen Abdominaltyphus durchgemacht hatten, in denselben Verdünnungen, besonders bei der zu jener Zeit ausschließlich geübten mikroskopischen Beobachtungsweise eine deutliche positive Agglutination bewirkt. Diese Befunde haben bald eine Anzahl von Autoren — Gruber und Durham³⁾, Achard und Bensaude⁴⁾ veranlaßt, der Reaktion als solcher überhaupt keine Spezifität zuzusprechen. Demgegenüber wurde man sich bald — einmal durch Anwendung stärkerer Verdünnungen, dann durch die Ermittlung der Tatsache, daß manche chemisch definierbaren, körperfremden Substanzen ebenfalls Agglutination bewirken — darüber klar, daß man hier zwischen zwei Dingen unterscheiden müsse, zwischen einer nicht spezifischen Häufchenbildung, erzeugt durch bakterienschädliche Substanzen bekannter und unbekannter Natur — zu

1) Forster u. Wassinck, Klin. Centralbl. 1885. No. 18.

2) Braatz, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 29 u. 49.

3) Gruber und Durham, Münch. med. Wochenschr. 1896. No. 13.

4) Achard et Bensaude, Le phénomène de l'agglut. des microbes. [Thèse de Paris 1897.]

den letzteren sind agglutinierende Stoffe des normalen menschlichen und tierischen Serums zu rechnen — und einer spezifischen Agglutination, die sich von der vorerwähnten durch bedeutend höhere quantitative Werte auszeichnet. Während dieser Bemühungen, welche die Auffindung der quantitativen Grenze für diese beiden, ihrem Wesen nach verschiedenen Agglutinationen erstrebten, mußten in langsam aufsteigender Linie immer größere quantitative Forderungen als Grundbedingung für die Spezifitätsannahme der Agglutination gestellt werden. So wurde die ursprüngliche Widalsche Angabe auf 1:20, dann 1:25, später 1:32, schließlich 1:40 bei makroskopischer und 1:50 bei mikroskopischer Beobachtung korrigiert. Auf Grund von äußerst zahlreichen Einzeluntersuchungen verschiedener Forscher wurde eine positive Agglutination in dieser letzteren Verdünnung ganz allgemein als beweisend für Typhus angesehen. Bis in die allerjüngste Zeit wurde und wird zum Teile heute noch in der wissenschaftlichen Welt an diesem Grundsatz festgehalten. Diese Ansicht war auch bis zur Bekanntgabe der sofort zu besprechenden Untersuchungen aufs beste begründet.

Zuvor wollen wir das bis dahin von verschiedenen Autoren geübte technische Verfahren zum Zwecke der Herstellung der nötigen Verdünnungen anführen.

Widal¹⁾ zählte die nötige Menge von Kulturtröpfen ab und setzte denselben einen Tropfen Serum zu. Grünbaum²⁾ benutzte eine Kapillare, bis zu deren erster Marke das Serum, bis zur zweiten (die das 16-fache anzeigt) die Kulturemulsion aufgesaugt, dann das Ganze in ein Gläschen entleert und durch öfteres Wiederaufsaugen gemischt wurde. Bensaude³⁾ gab drei Methoden an: er setzte mit einer Pipette zu 10 Tropfen Bouillonkultur 1 Tropfen Serum (procédé extemporané), oder impfte die Bouillon erst zur Zeit des Serumzusatzes (à l'état naissant), oder er füllte (nach Widal) mehrere Gläschen mit 1, 2, 3, 4, 5 ccm Bouillon, setzte 1 Tropfen Serum zu jedem und impfte die zu prüfenden Bakterien. Ähnlich setzte Breuer⁴⁾ 8 Tropfen des Serums zu 4 bis 5 ccm Typhusbouillonkultur und ebensoviel zu steriler Bouillon, die erst nach dem Serumzusatz mit Typhusbacillen beschickt wurde; C. Fraenkel⁵⁾ bediente sich einer in 50 Teile geteilten 1 ccm-Pipette, mit deren Hilfe er zu 1 ccm Typhusbouillonkultur $\frac{1}{50}$ ccm Serum = 1 Tropfen Serum (Verdünnung 1:50) zusetzte; im Falle eines negativen Resultates fügte er noch einen Tropfen Serum hinzu (Verdünnung 1:25): bei nochmals negativem Ausfalle gab er noch drei Tropfen Serum, so daß die Verdünnung nun 1:10 betrug; diese letzte Probe wurde im Brutschrank zur makroskopischen Beobachtung aufgestellt (die ersten Verdünnungen waren mikroskopisch untersucht worden); Stern⁶⁾ verwendet das Gowersche Hämoglobinometer mit $\frac{1}{50}$ ccm Inhalt zum Aufnehmen des Blutes, welches er direkt zu abgemessenen Mengen der Typhuskultur gab, wobei er annahm, daß einer 40-fachen Verdünnung des Blutes eine 32-fache des Plasmas entspricht. Fischer⁷⁾ gab zu 0,1 ccm Serum 2,5 ccm Bouillonaufschwemmung (Verdünnung 1:25).

- 1) Widal, l. c.
- 2) Grünbaum, l. c.
- 3) Bensaude, l. c.
- 4) Breuer, l. c.
- 5) Fraenkel, C., l. c.
- 6) Stern, l. c.
- 7) Fischer, l. c.

Pfaundler¹⁾ benutzte den Melangeur Thoma-Zeiss zur Verdünnung; von demselben Autor wurde in der jüngsten Zeit ein Apparat konstruiert, von dem weiter unten die Rede sein wird. Lewy²⁾ und Epiphadow³⁾ modifizierten den Melangeur. Koehler⁴⁾ eichte eine Pipette auf 160 Tropfen und setzte zu je 160 Tropfen Typhusbouillonkultur 1—5 Tropfen Serum (Verdünnungen 1:160—1:32). Rolly⁵⁾ empfahl Arznetropfgläschen, mit welchen die Verdünnungen hergestellt wurden.

Während die erwähnten Autoren Blut oder Serum und die Kultur direkt zusammentreten lassen und durch Verminderung der Serummengen oder Vergrößerung der Kulturmengen die Verdünnungen herstellen, schließt sich Pröscher⁶⁾ denen an, die eine andere Flüssigkeit zur Verdünnung benutzen. Er bedient sich einer 100-teiligen Mischpipette, läßt zu 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung die abgelesene Menge des Serums saugen und dann noch so viel der Kochsalzlösung, daß die Verdünnung von 1:10 erreicht ist; nun werden kleine Röhrchen aufgestellt, das erste leer gelassen, in die anderen kommt je $\frac{1}{2}$ ccm physiologischer Kochsalzlösung; von der Serumverdünnung wird nun je $\frac{1}{2}$ ccm in die beiden ersten Röhrchen gegeben; vom zweiten Röhrchen ins dritte, vom dritten ins vierte u. s. f. kommt je $\frac{1}{2}$ ccm der neuen Verdünnung; wir haben dann im ersten Röhrchen die Verdünnung 1:10, im zweiten 1:20, im dritten 1:40 u. s. f. Zu jeder Verdünnung wird dann $\frac{1}{2}$ ccm der abgetöteten Typhusbouillonkultur gegeben. Also steigende Verdünnungen des Serums, gleiche Mengen der Kultur. Kollé⁷⁾ schreibt vor, daß das Serum in aufsteigendem Grade mit 0,8-proz. physiologischer Kochsalzlösung verdünnt werde; von jeder Verdünnung kommt 1 ccm in Reagenzröhrchen, in jedes derselben wird eine Normalöse = 0,002 g frischer Kultur am Rande verrieben. Diesem Autor schließt sich Hetsch⁸⁾ an, der bei geringen Serummengen sich einer $\frac{1}{100}$ ccm-Pipette bedient oder in einer Glasröhre, die fein kapillar endet, das Serum aufsaugt, mit Fettstift markiert und aus einem Blockschälchen 9mal dieselbe Menge Kochsalzlösung nachsaugt und jedesmal ein Luftbläschen als Grenzmarke dazwischentreten läßt. Ficker⁹⁾ setzt zu 1 ccm seines flüssigen Präparates je 1 ccm steigender Serumverdünnungen. Rostoski¹⁰⁾ bedient sich des Melangeur Thoma-Zeiss. Er saugt Blut bis zur Marke 0,5, destilliertes Wasser bis zur Marke 11 (Verdünnung 1:20). Ist die Reaktion nicht ausgesprochen, dann werden weitere Verdünnungen mit 0,85-proz. Kochsalzlösung hergestellt, indem die Blutlösung bis zu einer bestimmten Marke, die Verdünnungsflüssigkeit bis zu einer anderen

1) Pfaundler, Wiener klin. Wochenschr. 1898. No. 21.

2) Lewy, *ibid.* 1897. No. 32.

3) Epiphadow, zit. Baumgartens Jahresb. 1897. Bd. XIII. p. 271.

4) Koehler, Das Agglutinationsphänomen. (Klin. Jahrb. Bd. VIII. p. 39.)

5) Rolly, Zur Diagnose des Typhus abdominalis. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 24.)

6) Pröscher, l. c.

7) Kollé, Serodiagnose des Typhus abdominalis. (Dtsch. med. Wochenschr. 1897. No. 9. p. 132.) — Ueber den jetzigen Stand der Choleradiagnose. (Klin. Jahrb. Bd. XI. Heft 3. p. 394.) — Cholera asiatica. (Hdbch. der pathog. Mikroorganismen. Bd. III. 1903.)

8) Hetsch, Die Grundlagen der Serumdiagnostik und deren Bedeutung für den Praktiker. (Mod. ärztl. Biblioth. 1904. Heft 12.)

9) Ficker, Ueber ein Typhusdiagnostikum. (Berlin. klin. Wochenschr. 1903. No. 45.)

10) Rostoski, Die Serumdiagnostik. (Würzburg. Abhandl. Bd. IV. 1902. Heft 2.)

gesogen wird. Walter⁶⁾ bedient sich zu der Reaktion mit dem Fickerschen Diagnosticum einer Pipette mit langem Gummischlauch und Glasmundstück. Stäubli⁷⁾ hat vor nicht langer Zeit folgendes Verfahren angegeben. Er konstruierte eine zu diesem Zwecke modifizierte Pipette mit den Teilstrichen 1, 3, $12\frac{1}{2}$, saugte Blut bis 1, physiologische Kochsalzlösung bis $12\frac{1}{2}$, zentrifugierte in eigens konstruierten Gläschen; zur Herstellung der Verdünnungen bediente er sich eines Glasblocks, der mit 8 Vertiefungen versehen war; in die erste und zweite kam ein Teilstrich des verdünnten Serums; in die zweite bis siebente je ein Teilstrich physiologischer Kochsalzlösung; die in der zweiten Vertiefung befindliche Flüssigkeit wurde gemischt, davon ein Teilstrich in das dritte Grübchen gegeben, aus dem dritten in das vierte u. s. f. In der letzten Vertiefung befand sich die Kontrollprobe. Wir haben also die Verdünnungen 1 : $12\frac{1}{2}$, 1 : 25 u. s. f. Von diesen Verdünnungen kam je ein Tropfen, versetzt mit einer Oese Bakterienaufschwemmung, in die Vertiefungen eines Objektträgers, der ähnlich wie der Mischblock konstruiert war. So waren jetzt die Verdünnungen 1 : 25, 1 : 50 u. s. f. erreicht. Pfaundler⁸⁾ hat einen automatischen Serienmischer konstruiert, dessen Prinzip darin besteht, daß 4 kleine Glasgefäße mit dem Napfe eines drehbaren Hahnes abwechselnd in Verbindung gesetzt werden können. Drei der Gefäße, von denen das eine 0,9-proz. Kochsalzlösung, das zweite die Bakterien, das dritte das Serum enthält, lassen sich mit Gummistopfen verschließen, das vierte, das Mischgefäß, steht mit einem abgequetschten Schlauch in Verbindung; indem also der Napf Flüssigkeit aus einem der Gefäße aufnehmen und in ein anderes entleeren kann, geschieht so die Mischung. Nachdem durch Vermittelung des Napfes Serum mit Kochsalzlösung vermengt und ins Mischgefäß gebracht sind, werden durch eine weitere Drehung die Bakterien in den Napf und dann in das Mischgefäß gebracht.

Bevor wir nun auf die in unserem Laboratorium geübte Technik eingehen, erscheint es uns zweckmäßig, mit einigen Worten auf die Entwicklung der an dieser Klinik geführten Agglutinationsuntersuchungen einzugehen, dies nicht allein deshalb, weil sie auf dem Gebiete der Agglutinationsdiagnostik eine Reihe wesentlicher Aenderungen herbeigeführt haben, sondern vorzüglich aus dem Grunde, weil an dieser Klinik diese Reaktion vom Momente ihres Bekanntwerdens — bei einem bedeutenden jährlichen Krankheitsstand — bis auf den heutigen Tag in systematischer Weise geübt wurde und so ein getreues Spiegelbild des Entwicklungsganges der uns beschäftigenden Frage mit allen ihren Wandlungen darbietet.

Noch im Jahre 1898 wurden an dieser Klinik dem damaligen Stande unseres Wissens konform die Agglutinationsuntersuchungen in der Weise ausgeführt, daß die nötige Anzahl von Oesen — damals zumeist 20 — einer jungen Bouillonkultur mit einer Oese des zu untersuchenden Blutserums gemischt und davon ein hängender Tropfen durch einen Zeitraum von $\frac{1}{2}$ —1 Stunde der mikroskopischen Beobachtung unterzogen wurde. Bald hatte sich diese Dosierung als unzureichend herausgestellt und an ihre Stelle trat die Tropfenverdünnung. Es wurden Standgläs-

6) Walter, Zur Typhusdiagnose. (Dtsch. med. Wochenschr. 1904. p. 1193.)

7) Stäubli, Zur Technik der Gruber-Widalschen Reaktion. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 48. p. 2127.)

8) Pfaundler, Ein automatischer Mischer zur Anstellung von Serumproben. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 7. p. 299.)

chen angeschafft, in dieselben mittels einer fein auslaufenden Pipette die nötige Anzahl von Tropfen abgezählt und dann mit Rücksicht auf die ganz verschiedene Größe der Tropfen bei verschiedenem Ausflußlumen, mit derselben Pipette ein Tropfen Serum zugesetzt. Nach Mischung wurde eine Oese mikroskopisch untersucht. Hierbei haben sich bald die mit Hilfe der genannten Verdünnungen erhaltenen Resultate als nicht völlig verlässlich herausgestellt; darum wurden im Laufe der Zeit auch Verdünnungen von 1 : 30 und 1 : 40 aufgestellt; kompensatorisch wurde die Beobachtungszeit immer mehr verlängert und schließlich nach einer Reihe von Untersuchungen bei zahlreichen Typhus- und anderen Kranken auf 8 Stunden festgesetzt. Das Streben nach einer genauen quantitativen Dosierung, dem durch Abfüllen in Standgläsern Rechnung getragen worden war, brachte es mit sich, daß später in jedem einzelnen Falle die Reaktion sowohl makro- wie mikroskopisch beobachtet wurde. So konnte auch über die Verlässlichkeit beider Beobachtungsweisen ein Urteil gewonnen werden. In den Untersuchungsprotokollen jener Jahre findet sich nun so mancher Fall, dessen Befund bei der mikroskopischen Beobachtungsweise als „zweifelhaft“ oder „schwach positiv“ bezeichnet worden war, und der sich im Laufe der weiteren klinischen Beobachtung oder bei der Obduktion als Nichttyphus herausstellte. Die parallelen makroskopischen Proben waren hierbei auch nach 8 Stunden negativ. So haben wir denn nach langer vergleichender Arbeit die mikroskopische Beobachtungsweise als unzuverlässig verlassen. Die später an einem reichen Krankennmaterial bei makroskopischer Beobachtungsweise und einer Verdünnung von 1 : 40 gesammelten Erfahrungen haben in glänzender Weise die absolute Verlässlichkeit dieses letzteren Verfahrens über allen Zweifel erhoben.

Als dann im Jahre 1903 gelegentlich einer anderen Publikation¹⁾ gegenüber den noch immer auftretenden Behauptungen über die Unverlässlichkeit und Nichtspezifität der Gruber-Widalschen Reaktion die an dieser Klinik gemachten Erfahrungen präzisiert wurden, so hieß es da wörtlich: „Wir verfügen heute über mehr als 500 sorgfältig beobachtete und genau protokollierte Krankheitsfälle, unter denen sich, rund genommen, 350 Typhuserkrankungen befinden. Bei der Bewertung der Gruber-Widalschen Reaktion kommt diesem Material eine um so größere Bedeutung zu, als die, nach Abzug der Typhen restierenden Krankheitsfälle nicht der Reihe nach auf Agglutination untersucht worden sind, sondern alle insgesamt entweder in den ersten Tagen der klinischen Beobachtung oder bis zum erfolgten letalen Ausgang typhusverdächtig waren. Es befanden sich unter letzteren — um nur jene Erkrankungen hervorzuheben, bei denen von anderer Seite eine positive Gruber-Widalsche Reaktion beobachtet wurde — zahlreiche Fälle von Sepsis verschiedener Aetiologie, Fälle von Sinusthrombose, Perityphlitis und sonstigen Abscessen und schließlich von miliarer Tuberkulose.“

„Einen Prüfstein für die Verlässlichkeit der Reaktion bei diesen 500 Fällen gab außer der klinischen Beobachtung die pathologische Untersuchung der Leichen ab; es wurden an 80 dieser verschiedenen Fälle obduziert. — Was das Resultat anbelangt, so wollen wir von allen Einzelheiten absehen und bloß betonen, daß sich in jedem dieser Fälle

1) Zupnik u. Posner, Typhus und Paratyphus. (Prager med. Wochenschr. No. 18.)

sowohl die Klinik wie pathologische Anatomie in bester Uebereinstimmung mit dem Ausfalle der Gruber-Widalschen Reaktion befand. Das Ergebnis dieser jahrelangen und umfangreichen Beobachtungen stellt sich dermaßen günstig, daß wir der Anschauung Ausdruck geben dürfen: in jenen Fällen, bei denen ein vorausgegangener Abdominaltyphus sicher auszuschließen ist und die pathologische Untersuchung für diese Erkrankung keinen Anhaltspunkt ergibt, sei diese Untersuchung mangelhaft ausgeführt worden¹⁾."

In bester Uebereinstimmung mit der damals allgemein gültigen Ansicht wurde somit an dieser Klinik bis zum Jahre 1902 inkl. an der absoluten Spezifität der Gruber-Widalschen Reaktion für Abdominaltyphus festgehalten. Wie aus obigem Zitate ersichtlich, wurde eine positive Agglutination nicht, wie es vielfach von anderer Seite geschah, in eine Reihe mit den sonstigen wandelbaren „Symptomen“ dieser Krankheit gestellt, sondern zur Höhe einer eindeutigen chemischen Reaktion erhoben.

Trotzdem blieb es uns nicht verschlossen, daß die bei manchen andersartigen Krankheiten auftretenden positiven Befunde mit obigem Gesetze in Widerspruch stehen. Dank dem Umstande, daß die an dieser Klinik im Laufe von vielen Jahren gesammelten Erfahrungen in einer und derselben Hand vereinigt waren, gelang es jedoch, für diese auf den ersten Blick rätselhaften, widersprechenden Beobachtungen die Ursache zu finden.

Nur nebenbei sei hier die später vielfach bestätigte Feststellung erwähnt, wonach ikterische Sera verschiedenartiger Aetiologie (Carcinom. Morbus Weili, Cholelithiasis, Sepsis) an und für sich, also ohne vorausgegangenen oder bestehenden Abdominaltyphus, positive Agglutinationen bis in hohen Verdünnungen bewirken²⁾.

Viel wichtiger, weil für das diagnostisch unerläßliche Mindestmaß der positiven Agglutination bestimmend, waren die bei überstandenen Typhen gemachten Erfahrungen. Es konnte Zupnik feststellen, daß bei solchen Kranken, ohne daß zur Zeit der Untersuchung ein Abdominaltyphus vorlag, positive Werte bis zu 1 : 80 auch nach Decennien vorhanden sein können. So wurde denn an Stelle des früher als beweisend angesehenen Wertes 1 : 40 als notwendiges Mindestmaß für die Diagnose eines bestehenden Abdominaltyphus 1 : 200, die an dieser Klinik übliche nächst höhere Verdünnung, festgesetzt³⁾. Die Besorgnis, es könnte diese hohe Forderung die Zahl der verwertbaren Befunde bedeutend herabmindern, ist, wie wir auf Grund reicher Erfahrungen mitteilen können, dank der 8 Stunden langen Beobachtungszeit grundlos. Dieses Postulat enthält demnach nicht nur keinen diagnostischen Nachteil, sondern bringt bei demselben perzentuellen Verhältnis positiver Reaktionen den Vorteil einer unbedingten Zuverlässigkeit und Sicherheit mit sich.

Wenn schon die bisher mitgeteilten Untersuchungsergebnisse nicht unwesentliche Aenderungen der Agglutinationstechnik herbeiführen mußten, so gilt das in noch viel höherem Grade von den letzten aus dieser Klinik mitgeteilten Tatsachen, denjenigen nämlich, welche die Gattungsspezifität der Agglutination beweisen.

1) l. c. p. 205, 206.

2) Zupnik, Erfahrungen über die Gruber-Widalsche Reaktion und Autoagglutination bei Typhus abdominalis. (Zeitschr. f. Heilk. 1901.)

3) Nähere Begründung bei Güttler l. c.

Die praktisch-technischen Konsequenzen all dieser Untersuchungsergebnisse, deren genauerer Auseinandersetzung wir uns jetzt zuwenden, betreffen zunächst die für Agglutinationszwecke nötigen Serum-mengen.

So lange man noch berechtigt war, an der Artspezifität der Agglutination festzuhalten, und die Tatsache, daß die meisten „typhoiden“ Erkrankungen dieselben „typischen“ oder, wie es richtiger zu nennen wäre, dieselben gattungsspezifischen Symptome darbieten, noch unbekannt war, konnte man sein Auskommen für die eine nötige Verdünnung mit einem einzigen Tropfen von Serum finden. Der als diagnostisches Mindestmaß erklärte positive Befund bei einer Verdünnung von 1 : 200 erhöht — bei Aufstellung aller drei in jedem Falle zweckmäßigen Verdünnungen von 1 : 40, 1 : 80 und 1 : 200¹⁾ — den Serumbedarf bei Prüfung einer einzigen Bakterienart auf drei Tropfen. Die Gattungsspezifität der Agglutination und die sich aus derselben ergebende Notwendigkeit, in jedem Falle einer typhoiden Erkrankung des Menschen wenigstens die drei häufigsten Erreger derselben von vornherein zu Agglutinationszwecken heranzuziehen, steigert den Serumbedarf, will man die erste orientierende Titrierung mit konzentriertem Serum vornehmen, auf neun Tropfen. In jenen Fällen, in welchen zwei oder gar, was allerdings sehr selten stattfindet, alle drei der herangezogenen Arten resp. Diagnostica bis zur obersten aufgestellten Verdünnung agglutiniert wurden, muß, wie oben des genaueren angeführt, zur Erlangung einer ätiologischen Diagnose die Ermittlung des obersten Titers vorgenommen werden. Hierdurch wird der Serumbedarf abermals gesteigert.

Hier könnte man den Eindruck gewinnen, daß die in Rede stehende Agglutinationsdiagnostik in Bezug auf den Serumbedarf Forderungen stellt, denen unter den gewöhnlichen Verhältnissen des ärztlichen Berufes nicht entsprochen werden kann. Dem ist jedoch nicht so: wie bereits erwähnt, erlangt man an dieser Klinik seit Jahren durch Einstich in die Fingerbeere in jedem einzelnen Falle die für die differentialdiagnostischen Untersuchungen nötige Blutmenge. Sie beträgt ca. 2 ccm und genügt auch bei positivem Ausfalle aller 9 Proben der ersten Titrierung vollständig.

Die in letzterem Falle nötig werdende Ermittlung des obersten Titre kann nämlich mit wenigen, ja im Notfalle mit einem einzigen Tropfen Serum vorgenommen werden.

Hiermit gelangen wir zur Angabe des Vorgehens, das den obersten Agglutinationstitre ermitteln soll, bzw. zur Besprechung des Verdünnungsmodus.

1) Da die diagnostisch sicher verwendbare positive Agglutination erst bei einer Verdünnung von 1 : 200 anfängt, könnte es als zweckmäßig erscheinen, auf die Aufstellung der konzentrierteren Verdünnungen zu verzichten und die Erstaufstellung bei allen drei Arten bzw. Diagnostica mit 1 : 200 vorzunehmen; dann käme man bei Heranziehung der drei häufigsten Erreger der menschlichen typhoiden Erkrankungen mit drei Tropfen Serum aus. Dieses Verfahren ist jedoch nicht zu empfehlen, einmal, weil in all jenen Fällen, in denen man einen überstandenen Abdominaltyphus bestimmt ausschließen kann, auch niedrigere Werte diagnostisch verwertbar sind und zweitens, weil dort, wo man einen überstandenen Typhus nicht auszuschließen vermag, der bei der zweiten Untersuchung eventuell zu Tage tretende sichere (und nicht zu geringe) Anstieg des Agglutinationstitre einen nicht zu unterschätzenden Anhaltspunkt für die in Gang befindliche Entwicklung einer typhoiden Erkrankung geben kann, und schließlich auch aus dem Grunde, weil wir über Agglutinationsbefunde bei überstandenen Paratyphen und Fleischvergiftungen noch überhaupt keine Erfahrungen besitzen und die Kenntnis derselben doch von hoher Bedeutung wäre.

Die nach der ersten Titrierung eventuell nötig werdenden weiteren Bestimmungen können auf zweierlei Weise vorgenommen werden: erstens indem man zu immer größeren Mengen von Kultur bzw. Diagnosticum, also zu 400, 600, 800 u. s. w. Tropfen je einen Tropfen Serum zusetzt, und zweitens, indem man das Serum verdünnt. — Das erstere Verfahren ist nicht ratsam, weil größere Mengen von Flüssigkeit in entsprechend breitere Gefäße abgefüllt werden müssen; die Dicke der Schicht wird hierbei gesteigert und ihre Durchsichtigkeit vermindert; feine Flocken, also eine schwach positive Reaktion, können dadurch der Wahrnehmung mit bloßem Auge entzogen werden. Dies gilt für lebende Kulturen; die Diagnostica sind noch in dicken Schichten durchsichtig. Die Vornahme weiterer Titrationen mit größeren Flüssigkeitsmengen ist aber auch hier unzweckmäßig, allerdings aus einem anderen Grunde: sie ist zu kostspielig.

So empfiehlt es sich denn, die weiteren Titrationen sowohl bei lebenden Kulturen wie Diagnosticis mit verdünntem Serum vorzunehmen. Im allgemeinen soll zunächst betont werden, daß man hier ohne jegliche besondere Apparate in einer, je nach den vorhandenen bzw. erreichbaren Behelfen zwar verschiedenen, aber immer sehr einfachen Weise vorgehen kann.

Im speziellen sei darauf hingewiesen, daß die Ermittlung des obersten Titers mit Hilfe des verdünnten Serums auf zweierlei Art erfolgen kann: indem man das Serum immer stärker verdünnt und mit der gleichen Menge Kultur resp. Diagnosticum versetzt oder aber, indem man verschiedene Mengen derselben Serumverdünnung mit steigenden Mengen von Kultur bzw. Diagnosticum zusammenbringt.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Zubereitung haltbarer Kulturen für den serodiagnostischen Versuch.

[Aus dem hygienischen Institut der Königl. Universität zu Pisa, von Professor A. di Veste geleitet.]

Von Dr. **Gino de' Rossi**, Assistent und Privatdozent.

Die Benutzung durch Zusatz von Formol getöteter Kulturen bei der Serodiagnostik des Typhus, welche von Widal und Sicard zuerst versucht und von anderen Verff. anempfohlen (Pröschner, Descos und Bancel, Lion, Borden), sowie die verschiedenen, durch andere Verff. für das Zerstören der Mikroorganismen vorgeschlagenen chemischen Mittel sind nicht sehr viel angewendet worden (z. B. Toluene [Rolly]). Dagegen ist es wohlbekannt, daß Fickers Typhusdiagnostikum, ein neues vor 2 Jahren in den Handel gesetztes Präparat (obgleich der Verf. über diese Zubereitung ein absolutes Geheimnis bewahrt, handelt es sich wahrscheinlich um eine getötete Typhuskultur), mit Vorliebe angewendet und damit experimentiert wurde. Zahlreiche Verff. (Meyer, Radzkowski, Ehrsam, Lion, Skutezky, Kurt Walter, Blum, Borelli, Eichler, Flatau und Wilke, Aaser etc.) empfehlen es warm, indem sie versichern, sein Gebrauch sei ohne Gefahr und

habe verschiedene Vorteile, was die Sicherheit der Reaktion anbetrifft, vor der Anwendung der lebenden Kulturen. Schon aber fängt man an, hier und da anderer Meinung zu sein. Selter behauptet, daß die Reaktion mit Typhusdiagnostikum in jenen Fällen fehlen kann (Rekonvaleszenten von typhösem Fieber), wo sehr kleine Quantitäten von Agglutinin vorhanden sind, die aber positives Resultat liefern, wenn lebende Kulturen gebraucht werden: Verwoort teilt mit, daß unter 59 Fällen, die bei Widals Reaktion, mit der üblichen Technik ausgeführt, ein positives Resultat gaben, dasselbe in 16 Fällen ein negatives war, wenn man die Reaktion mit Typhusdiagnostikum versuchte.

Auf jeden Fall, wie auch eine weitere Praktik hierfür entscheiden wird, darf man nicht vergessen, daß der hohe Preis dieses Präparates ein ernstes Hindernis seiner weiteren Diffusion darstellt.

Im Laufe meiner verschiedenen Untersuchungen über die Phänomene der Agglutination der Bakterien (welche ich bald veröffentlichen werde) habe ich den Einfluß des Erwärmsens der Kulturen auf die Produktion der Agglutinine bei den Versuchstieren, eben sowie auf den Verlauf der Agglutination untersucht. Auf diese Weise konnte ich die Beobachtungen anderer Verff. (Kirstein, Weil) bestätigen und erweitern und mit Sicherheit festsetzen, daß das vorhergegangene Erwärmen der Bouillonkulturen bis auf die Temperatur von $58-60^{\circ}$ (nicht über 60°) das Phänomen der Agglutination durch die den Kulturen nach und nach hinzugefügten spezifischen Sera bedeutend beschleunigt und erleichtert. Die mit verschiedenen Mikroorganismen und mit Sera dazu zubereiteter Tiere angestellten Versuche (für Typhus wurden auch Sera von Typhuskranken benutzt) beweisen, daß bei den 1 Stunde lang im Wasserbade auf der Temperatur von $58-60^{\circ}$ erwärmten Kulturen die Agglutination durch einen bedeutend geringeren Serumzusatz hervorgerufen wird (oft um die Hälfte kleiner), als es bei nicht erwärmten Kulturen der Fall ist¹⁾. Da es sich erwiesen hatte, daß diese Behandlung die sporenfreien Formen der meisten Mikroorganismen mit jeder Bestimmtheit zerstören kann, so kam ich auf den Gedanken, ob es nicht möglich wäre, durch dieselbe haltbare Kulturen zu serodiagnostischen Zwecken leicht zu erhalten, mit dem doppelten Vorteile 1) den Gebrauch chemischer Substanzen zu vermeiden, die oft Irrtümer hervorrufen, indem sie allein die Agglutination erzeugen können (Malvoz), und 2) die größte Empfindlichkeit der erwärmten Mikroben der Agglutinine gegenüber zu benutzen.

Hier teile ich die von mir angewendete Technik, sowie meine Resultate mit.

Für meine Versuche habe ich 4 Sorten Mikroorganismen benutzt: 3 bewegliche und 1 unbewegliche, und zwar: Typhusbacillus, *B. pyocyaneus*, *B. subtilis*, *Staphylococcus albus*. 4 große, mit gewöhnlicher Bouillon gefüllte Ballons wurden am 8. März jeder mit einer der 4 Kulturen infiziert. Nach 24-stündigem Aufenthalte im Thermostaten bei 37° wurden die auffallend trüben Kulturen in verschiedene Eprouvetten verteilt (je 10 ccm für jede), die bei der Lampe

1) Das gilt selbstverständlich für die makroskopische Untersuchung, da für die mikroskopische Untersuchung der Mangel an Beweglichkeit der erwärmten Kulturen eine sehr ungünstige Bedingung bietet.

geschlossen und 1 Stunde im Wasserbade bei der genauen Temperatur von 58—59° gehalten wurden. Was dieses Erwärmen anbetrifft, will ich auf zwei sehr wichtige Fragen aufmerksam machen. Zuerst muß man dafür sorgen, daß die Temperatur nicht über den schon erwähnten Grad steigt (höchstens bis 60°), sonst geht der Vorteil des Erhitzens absolut verloren, und außerdem würden die Mikroorganismen ihre Empfindlichkeit dem Agglutinin gegenüber ganz oder teilweise einbüßen (wie es meine schon erwähnten Versuche vollkommen beweisen). Und zweitens, um die vollkommene Sterilisation der Kultur zu erreichen, müssen die Röhren während des Erwärmens ganz in Wasser eingetaucht sein. Diesen beiden Vorschriften entspricht ohne große Mühe noch Schwierigkeit die von mir benutzte Methode des Wasserbades; der Prozeß kann bedeutend vereinfacht werden, wenn man die Eprouvetten in einen mit einem Thermoregulator versehenen Thermostaten hineinbringt: da hier die trockene Wärme ein geringeres Penetrationsvermögen besitzt, müssen die Kulturen länger im Thermostaten bleiben.

Von den so behandelten Kulturen wurden einige in den Thermostaten auf 37° hingestellt, andere blieben bei Zimmertemperatur (die während des Versuches zwischen 3 und 25° variierte); noch andere wurden im Zimmer behalten, aber alle 10—12 Tage mittels einer halb Eis und halb Salz zusammengestellten Mischung zum Frieren gebracht. Das Eintauchen ins Eis dauerte gewöhnlich 7—8 Stunden und wurde im Laufe des Experimentes 7mal wiederholt.

Ca. 3 Monate später, und zwar am 12. Juni, fing ich an, das Verhalten dieser Kulturen den spezifischen agglutinierenden Sera gegenüber zu untersuchen, und zur selben Zeit experimentierte ich auch mit anderen frischen (24 Stunden alten) Kulturen und mit denselben 1 Stunde bis auf 58—60° erwärmt. Zu diesen Experimenten benutzte ich Sera von Kaninchen, die mit denselben Mikroorganismen wiederholt inokuliert worden waren; nur für die Typhuskultur benutzte ich das Serum eines mit dem Eberth'schen Bacillus inokulierten Tieres, dessen Ursprung eine andere war als die der Kulturen, und das Serum eines an typhösem Fieber leidenden Mannes. Für die makroskopische Untersuchung verteilte ich in dazu bestimmten Eprouvetten bestimmte Volumen der vergleichenden Kulturen, dazu kam in bestimmten Proportionen das spezifische Serum. Die Eprouvetten wurden sorgfältig geschüttelt und in Ruhe gelassen, entweder bei Zimmertemperatur oder im Thermostaten auf 37 oder 50°¹⁾. Selbstverständlich macht man immer Kontrollversuche mit Kulturen ohne Serum.

Indem ich die Wirkung der verschiedenen Serumverdünnungen untersuchte, wurde es mir möglich, den höchsten Verdünnungsgrad zu bestimmen, der für jede Kultur eine vollkommene Agglutination verursachte; das wurde durch die Flockulation und den Niederschlag des bakteriellen Materials, sowie durch die Bouillonklarheit nachgewiesen, die nach 1-stündigem Aufenthalte bei 50° oder nach 8—10-stündigem Aufenthalte bei Zimmertemperatur eintraten.

So erhielt ich folgende Resultate:

A. Die vollkommene Agglutination der Typhuskulturen durch Serum eines Kranken geschah:

1) Die Temperatur hat keinen Einfluß auf das endgültige Resultat der Reaktion, da es sich um schon erwärmte Kulturen handelt: die Agglutination tritt aber um so schneller ein und vervollkommnet sich desto rascher, je höher die Temperatur ist.

bei einer 24 Std. alten, lebenden Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 300
" " 24 " " 1 Std. bei 60° gehalt. Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 1000
" " alten, zerstr. bei 37° aufbewahrten Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 1200
" " " " 5—25° " " " "	1: 1000
" " " " wiederholt zum Frieren gebrachten Kultur mit einer Serumverd.	1: 550

B. Die vollkommene Agglutination der Typhuskulturen durch künstlich zubereitetes Kaninchenserum geschah:

bei einer 24 Std. alten, lebenden Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 4 000
" " 24 " " 1 Std. bei 60° gehalt. Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 10 000
" " alten, zerstr. bei 37° aufbewahrten Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 10 000
" " " " 5—25° " " " "	1: 7 000
" " " " wiederholt zum Frieren gebrachten Kultur mit einer Serumverd.	1: 4 000

C. Die vollkommene Agglutination des Bac. subtilis durch das künstlich zubereitete Kaninchenserum geschah:

bei einer 24 Std. alten, lebenden Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 4000
" " 24 " " 1 Std. bei 60° gehalt. Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 6000
" " alten, zerstr. bei 37° aufbewahrten Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 7500
" " " " 5—25° " " " "	1: 4000
" " " " wiederholt zum Frieren gebrachten Kultur mit einer Serumverd.	1: 3500

D. Die vollkommene Agglutination des B. pyocyaneus durch das künstlich zubereitete Kaninchenserum geschah:

bei einer 24 Std. alten, lebenden Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 1000
" " 24 " " 1 Std. bei 60° gehalt. Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 1000
" " alten, zerstr. bei 37° aufbewahrten Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 1500
" " " " 5—25° " " " "	1: 1500
" " " " wiederholt zum Frieren gebrachten Kultur mit einer Serumverd.	1: 900

E. Die vollkommene Agglutination des Staphylococcus albus durch das künstlich zubereitete Kaninchenserum geschah:

bei einer 24 Std. alten, lebenden Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 150
" " 24 " " 1 Std. bei 60° gehalt. Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 200
" " alten, zerstr. bei 37° aufbewahrten Kultur mit einer Serumverdünnung	1: 300
" " " " 5—25° " " " "	1: 150
" " " " wiederholt zum Frieren gebrachten Kultur mit einer Serumverd.	1: 150

Das Resultat dieser Versuche ist klar und übereinstimmend; vorläufig kann man behaupten, daß die durch 1-stündiges Erwärmen zerstörten Kulturen, 3 Monate lang bei einer Temperatur zwischen 3 und 37° gehalten, der Wirkung der Agglutinine gegenüber dieselbe Empfindlichkeit zeigen wie die neuen, der Erwärnung unterworfenen Kulturen: ebenso wie die alten, wiederholt zum Frieren gebrachten Kulturen, wenn auch etwas weniger empfindlich als die anderen, zeigen keine geringere Empfindlichkeit als die lebenden, 24 Stunden alten Kulturen, wie man sie in der gewöhnlichen, serodiagnostischen Technik benutzt.

Ogleich diese Resultate sehr befriedigend erscheinen, glaube ich, daß eine Substitution der lebenden Kulturen durch die getöteten in der gewöhnlichen Praxis der bakteriologischen Institute nicht zu empfehlen wäre, und das insbesondere, weil, wenn es sich um bewegliche Arten handelt (d. h. in den meisten Fällen, wo die Serodiagnose ihre praktischste und sicherste Anwendung finden kann), es nicht richtig wäre, auf die mikroskopische Untersuchung und das interessante Kriterium der eingetretenen Unbeweglichkeit der Bakterien zu verzichten. Unter gewissen Umständen aber kann die Anwendung zerstörter Kulturen von großem Nutzen sein: in den Laboratorien selbst zum Beispiel, wenn man Vergleichsuntersuchungen auf einer einzigen Art beim selben Entwicklungsstadium und in verschiedenen Zeiten anstellen will, aber insbe-

sondere, wenn diese vortreffliche diagnostische Hilfe durch den praktischen Arzt werden soll, der über die nötigen Materialien, wie man sie in einem bakteriologischen Laboratorium hat, nicht verfügen kann.

So denke ich mir, werden die nach meiner Methode zubereiteten Kulturen eine nützliche Anwendung finden, da sie 3 Monate nach ihrer Herstellung und trotz den verschiedensten thermischen Einflüssen (zwischen mehrere Grade unter Null bis 37°) den spezifischen agglutinierenden Sera gegenüber dieselbe, wenn nicht eine größere Empfindlichkeit zeigten als die lebenden und neuen Kulturen.

Anmerkung. Als ich die Korrektur vorliegender Mitteilung erhielt (Dezember 1905), war mein vor ca. 10 Monaten hergestelltes Typhusdiagnosticum noch vollkommen wirksam.

Literatur.

- Aaser, Berliner klin. Wochenschr. 1905.
 Blum, Münch. med. Wochenschr. 1904.
 Borden, Proceed. of the N. Y. pathol. soc. 1904.
 Borelli, Riforma med. 1904.
 Descos et Bancel, Province med. 1901.
 Ehrsam, Münch. med. Wochenschr. 1904.
 Eichler, Münch. med. Wochenschr. 1905.
 Ficker, Berliner klin. Wochenschr. 1903.
 Flatau und Wilke, Münch. med. Wochenschr. 1905.
 Kirstein, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI.
 Lion, Münch. med. Wochenschr. 1904.
 Malvoz, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1897.
 Meyer, Berliner klin. Wochenschr. 1904.
 Radzkowski, Wiener klin. Wochenschr. 1904.
 Rolly, Münch. med. Wochenschr. 1904.
 Selter, Münch. med. Wochenschr. 1905.
 Skutetzky, Zeitschr. f. Heilk. 1904.
 Verwoort, Journ. de pathol. générale et de physiol. 1905.
 Walter Kurt, Deutsche med. Wochenschr. 1904.
 Weil, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVI, XXXVII. 1904.
 Widai et Sicard, Soc. de biol. 1897.

Nachdruck verboten.

Bakterienfärbung mit eosinsaurem Methylenblau nach May-Grünwald.

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

Von Dr. Otto Spiegel.

Im Centralbl. f. innere Med. 1902 veröffentlichten R. May und Grünwald eine neue Methode der Blutfärbung. Der Farbstoff entsteht bei Mischung eines Liters 1-promill. Eosin mit einem Liter 1-promill. Methylenblau medicin.; der dabei sich bildende Niederschlag wird abfiltriert und mit destilliertem Wasser fast bis zur Farblosigkeit ausgewaschen. Der Farbstoff¹⁾ wird in einer 0,25-proz. methylalkoholischen Lösung verwendet und hält sich in Gläschen, die mit einem Deckel gut verschlossen sind, monatelang, so daß der Verbrauch sehr sparsam ist.

Wer mit den früheren, zum Teil sehr umständlichen Blutfärbe-

1) Zu beziehen von Dr. Schwalm, München, Sonnenstr. 10. In Pulverform 10 g 4,50 M., in Lösung 100 g 1,40 M.

methoden gearbeitet hat, wird erstaunt sein über die Einfachheit und Eleganz dieser Färbung. Das in gewöhnlicher Weise auf Objektträgern hergestellte Bluttrockenpräparat braucht nicht fixiert zu werden, sondern kommt sofort nach dem festen Antrocknen auf 2 Minuten in die Farblösung, dann auf 1 Minute in destilliertes Wasser und wird mit Filtrierpapier abgetrocknet. Das zur Differenzierung benutzte destillierte Wasser (nicht Brunnenwasser) muß absolut neutral sein und soll daher zuvor mit Phenolphthalein geprüft werden; bei Gegenwart von Alkali tritt rote Färbung ein. In den Blutpräparaten färben sich die roten Blutkörperchen rot, die Kerne blau, die eosinophilen Granula tief rot, die neutrophilen Granula erscheinen als feine rosa Pünktchen, die Mastzellengranula violett.

Trotzdem die Methode bereits in verschiedenen Lehrbüchern, z. B. in dem Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik von Müller-Seifert angegeben ist, ist sie in bakteriologischen Kreisen noch wenig bekannt. Auf Veranlassung von Herrn Oberstabsarzt Prof. Dr. Dieudonné untersuchte ich die zahlreichen Präparate, die das reiche klinische Material des Operationskurses für Militärärzte lieferte, außer mit den anderen gewöhnlichen Methoden auch mittels der May-Grünwaldschen Färbung. Besonders deutlich treten die Vorteile der Methode hervor bei Färbung der verschiedenen Exkrete. Trippereiter ergibt überraschend schöne Bilder; in anderen eiterigen Exsudaten, wie Empyem-eiter, läßt sich das Verhalten der Kokken zu den Leukocyten sehr gut beobachten. Die Pneumokokken im Auswurf zeigen eine deutliche Kapsel, die Bakterien färben sich dunkel-schwarzblau und heben sich von der rötlich tingierten Hülle scharf ab, weit schöner als bei den gebräuchlichen umständlichen Doppelfärbungen; ebenso ist es bei dem *Microc. tetragenus*, den wir mit dieser Färbung auffallend häufig im Auswurf Tuberkulöser und Verdächtiger fanden.

Sehr schöne Bilder erhält man bei der Färbung von Blut- und Organusstrichen von Menschen und Tieren, die an septischen Infektionen verendet sind. Wiederholt wurden so im Blut von Kranken mit septischen Prozessen oder mit Lungenentzündung Streptokokken und Pneumokokken nachgewiesen, während die gewöhnliche Färbung mit Fuchsin oder Methyleneblau versagte; das Auffinden vereinzelter Bakterien im Blut wird sehr erleichtert. Besonders schöne Bilder erhält man bei Blut- und Organusstrichen von mit Milzbrand infizierten Tieren infolge der stark differenzierenden äußerst charakteristischen Plasmafärbung; die Bakterien färben sich dunkel-schwarzblau und heben sich von dem mehr rötlichen Plasma und den hellen, blau tingierten Kernen gut ab. Bei der Färbung von *Spirillum undula* (aus Schweinejauche) läßt sich der doppelt konturierte Zelleib und innerhalb desselben die hellen Vakuolen sehr schön beobachten. Die May-Grünwaldsche Färbemethode empfiehlt sich daher zur Einführung in die bakteriologischen Laboratorien, namentlich auch zu Kurszwecken.

Berichtigung

zum Artikel Ernst, Ueber Pyelonephritis diphtherica bovis etc.
Bd. XXXIX.

S. 550 Zeile 19 von unten ist „Nierenepithelien“ statt „Nieren, Epithelien“,
 „ 551 „ 15 „ oben „gelbweiße“ statt „gelbweisse“,
 „ 557 „ 24 „ „ nach „(Fall II)“ „Komma“ zu setzen,
 „ 661 „ 22 „ „ unten „ihrer“ statt „in er“,
 „ 662 „ 14 „ oben „dunkelbordeauxrot“ statt „dunkelbordeaurot“,
 „ 665 letzte Zeile „Neumann“ statt „Naumann“,
 „ 670 Zeile 7 von unten „mitfolgender“ statt in „folgender“ Tabelle und
 Zeile 4 von unten „aut“ statt „ant“ zu lesen.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Ein-sendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

- Bail, Oskar und Weil, Edmund**, Unterschiede zwischen aggressiven Exsudaten und Bakterienextrakten; p. 371.
- Cohn, Ludwig**, Zur Anatomie zweier Cestoden, p. 362.
- Friedberger, E.**, Die spezifischen Serumveränderungen bei Cholera-bacillenzwischen-trägern, p. 405.
- Galli-Valerio, Bruno**, Recherches expérimentales sur la rage des rats avec observations sur la rage du surmulot, de la souris et du mulot. (Schluß.), p. 318.
- Igersheimer, J.**, Ueber die bakterizide Kraft des 50-proz. Aethylalkohols. p. 414.
- Kafka, Viktor**, Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik. (Forts.), p. 419.
- Kayser, Heinrich**, Bakteriologischer Befund bei einem weiteren Fall von Paratyphus des Brion-Kayserschen Typus A, p. 285.
- Laengner, Hans**, Ueber Pentastomum denticulatum beim Menschen, p. 368.
- Lambotte, U. et Stiennon, T.**, Alexine et Leucocytes. (Forts.), p. 393.
- van Loghem, J. J.**, Zur Kasuistik der Streptothrixpyämie, p. 298.
- Lüdtke, H.**, Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie. III., p. 290.
- Madsen, Th. et Walbum, L.**, La tétanoly-sine et la peptone de Witte, p. 409.
- Manwaring, Wilfred H.**, The absorption of hemolytic amboceptor, p. 382.
 — —, Qualitative changes in hemolytic amboceptor, p. 386.
 — —, Hemolytic curves, p. 400.
- Pane, Nicola**, Zur Biologie eines pathogenen Bacterium viscosum, p. 279.
- Pezopoulo, N. und Cardamati, Jean P.**, Die Malaria in Athen. Eine biologische und histologische Studie über die Malaria-plasmodien, p. 344.
- Pröscher, Fr.**, Ueber die künstliche Züchtung eines „unsichtbaren“ Mikroorganismus aus der Vaccine, p. 337.
- Reischauer**, Ueber die Pocken der Vögel ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erreger, p. 356.
- de' Rossi, Gino**, Ueber die Zubereitung haltbarer Kulturen für den serodiagnostischen Versuch, p. 426.
- Sachs, Hans**, Ueber die Komplement ablenkende Funktion des normalen Serums, p. 388.
- Sartirana, Silvio und Paccanaro, Attilio**, Der Streptococcus bombycis in Bezug auf die Aetiologie der Auszehrung und Schlafsucht der Seidenraupe. (Schluß.), p. 331.
- Schwarz, F. A.**, Ueber ein hitzebeständiges Bakteriengift, p. 273.
- Spiegel, Otto**, Bakterienfärbung mit eosinsaurem Methyleneblau nach May-Grünwald, p. 430.
- Tabusso, M. E.**, Beobachtungen über das Blut des tetanuskranken Pferdes. Hämolyse — Agglutination — Kryoskopie, p. 311.
- Tarozzi, Giulio**, Ueber das Latenteleben der Tetanus-sporen im tierischen Organismus und über die Möglichkeit, daß sie einen tetanischen Prozeß unter dem Einfluß traumatischer und nekrotisierender Ursachen hervorrufen, p. 305.
- Thesing, Curt**, Spirochaete, Spironema oder Spirillum?, p. 351.
- Wolf-Eisner, Alfred**, Ueber Eiweißimmunität und ihre Beziehungen zur Serumkrankheit, p. 378.

Corrigendum, p. 432.

Bacillus peptonificans als Erreger einer Gastroenteritis-Epidemie.

[Aus dem Sanatorium der Landesversicherungsanstalt Berlin in Beelitz (Chefarzt: Dr. Pielicke).]

Von Dr. Lubenau, Assistenzarzt.

Im Juli dieses Jahres erkrankten nach einem Gericht von Königsberger Klopsen etwa $\frac{3}{4}$ der 400 Insassen der Anstalt auf Männer- Frauenabteilung sowie ein großer Teil des Personals an einem heftigen Magendarmkatarrh, der ohne Vorboten nach Art einer Intoxikation plötzlich bei dem einzelnen Kranken zum Ausbruch kam.

Das verdächtige Gericht war zu Mittag eingenommen worden, und schon in derselben Nacht etwa gegen 11 Uhr traten die heftigsten Krankheitserscheinungen auf: Bei sehr schlechtem Allgemeinbefinden, allgemeine Schwäche, heftigen Kopfschmerzen (es war sogar bei einzelnen Kranken eine deutliche Benommenheit des Sensoriums zu bemerken), quälte die Kranken ein unstillbares Erbrechen und profuse Durchfälle, die sich bis zu 20 und mehr in 24 Stunden steigerten. Von allen wurden sehr heftige Leibschmerzen angegeben.

Während sich der Allgemeinzustand bald besserte, bestanden das Erbrechen und besonders zahlreiche Durchfälle 2—3 Tage lang. Letztere nahmen alsbald eine wässerige Beschaffenheit an und enthielten reichlich Schleimflocken.

Zu Temperatursteigerungen kam es nur in ganz vereinzelt Fällen am 2. oder 3. Krankheitstage und mehr wie 38° C wurden nicht gemessen.

Am 3. oder wenigstens am 4. Tage wurde bei den meisten Kranken ein normaler Zustand der Verdauungswege bei entsprechender Kost erreicht; jedoch bestand bei einzelnen auch noch für spätere Zeit die Neigung, auf Unregelmäßigkeiten in der Nahrungsaufnahme mit heftigen Durchfällen zu reagieren. Aber auch dieser Zustand war nach 2—3 Wochen überall behoben.

Daß die Ursache der Epidemie nicht im Wasser zu suchen war, bewies der Umstand, daß in der Lungenheilstätte, welche von der nämlichen Zentralwasserversorgungsanstalt gespeist wird, keinerlei Erkrankungen an Magendarmkatarrh auftraten, ohne weiteres. Auch bewies eine Untersuchung des Wassers (Beelitz wird mit Grundwasser versorgt) seine tadellose Beschaffenheit: In einem Kubikcentimeter fanden sich ad maximum 20 Keime, darunter keine Coli-Arten.

Auch die Milch, sonst eine häufige Trägerin von Erregern für Magendarmkatarrhe, konnte nicht in Betracht kommen, da ein großer Teil der Erkrankten selbige nicht genossen hatte. Es mußte vielmehr nach den Ermittlungen in der für die Männer- und Frauenabteilung des Sanatoriums gemeinsam arbeitenden Zentralküche oben benanntes Gericht von Königsberger Klopsen, das alle von den Erkrankten genossen hatten, als Ursache der Epidemie angesehen werden.

Eine sofortige Untersuchung von solchen am nächsten Tage des Ausbruches der Epidemie zeigte, daß dieselben im Innern auf das

lebhafteste durchwachsen waren mit einem kurzen, plumpen Stäbchen, das nach Gram sich nicht entfärbte und morphologisch gewisse Aehnlichkeit mit dem „Heubacillus“ aufwies.

Verschieden von letzterem ist das charakteristische Wachstum auf Gelatine; dieselbe wird stark verflüssigt, aber schon makroskopisch sieht man, daß sich dabei nicht die umschriebene Delle wie bei den Kolonien der Heubacillen bildet, welchem Umstande auch entspricht, daß die größeren Kolonien, bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop betrachtet, die in der Mitte ein ausgesprochenes lockiges Aussehen haben, keine umschriebene Kontur mit dem für die Heubacillenkolonien typischen Strahlenkranz aufweisen, sondern von ihrem Rande ganz unregelmäßige und weit in die Peripherie sich erstreckende Ausläufer senden, teils in Gestalt eines feinen, dichten Geästes, teils in Gestalt von gelockten Büscheln.

Die Kolonien entwickeln sich auf Gelatine bei einer Temperatur von 23° C innerhalb von 24 Stunden; im Gelatinestich tritt keine Verflüssigung längs des Stichkanals auf, sondern dieselbe schreitet von der Oberfläche der Gelatine gleichmäßig in die Tiefe fort.

Auf Agar bei einer Temperatur von 37° C ist das Wachstum ein sehr lebhaftes; die einzelnen grauen Kolonien sind mit einem breiten irisierenden Rande umgeben und überziehen zusammenfließend alsbald die ganze Oberfläche des schräg erstarrten Agarröhrchens mit einer feuchten, weißgrauen, dichten Haut.

Nährbouillon ist am ersten Tage des Wachstums diffus getrübt, klärt sich aber alsbald am zweiten Tage unter Bildung einer grauen, zarten, auf der Oberfläche schwimmenden Haut.

Die Bacillen zeigen in der Bouillonkultur lebhafte Eigenbewegung.

In Traubenzuckerbouillon findet keine Gasbildung statt, das Wachstum reicht hier auch nur bis zur Umbiegungsstelle zum für die Ansammlung des Gases bestimmten Schenkel.

In Lackmusmolke wird am 2. oder 3. Tage intensiv Alkali gebildet; die Molke bleibt dabei klar und, auf der Oberfläche schwimmend, entwickelt sich desgleichen eine zarte, graue Haut.

Milch zeigt in den ersten Tagen des Wachstums keinerlei Veränderungen, jedoch nach etwa $\frac{1}{2}$ Woche, oft noch später kommt es zu Absetzung von Molke unter allmählicher Verdauung des Eiweißes, so daß nach etwa 2 Wochen klare Molke übrig bleibt, während am Boden des Röhrchens sich Niederschläge von reichlichen, in Sporenbildung begriffenen Bacillen finden. Die Bildung einer oberflächlichen Haut wird auch bei Milch beobachtet. Zu einer eigentlichen flockigen Gerinnung des Kaseins kommt es bei der Verdauung nicht, jedoch läßt sich eine gleichmäßige Zusammenziehung des Eiweißes unterhalb der sich absetzenden Molke beobachten. Durch energisches Schütteln läßt sich das zusammengeballte Eiweiß wieder verflüssigen. In der sich absetzenden Molke läßt sich das gebildete Pepton durch die Biuretreaktion (viel Kalilauge, wenig Kupfersulfat) nachweisen. Besonders gut erhält man den Nachweis, wenn man als Nährboden Milch verwendet, die zu ein Viertel oder zur Hälfte mit Wasser verdünnt ist; am 2.—4. Tage ist in dieser das Eiweiß völlig verdaut und die Biuretreaktion zu dieser Zeit leicht darstellbar, während sie in späterer Zeit, etwa nach 8 Tagen, nicht mehr zu erhalten ist, augenscheinlich weil das Pepton auch abgebaut wird.

In Milch wird deutlich Alkali gebildet, indem die anfangs saure Reaktion der Milch in eine alkalische allmählich übergeht.

In sämtlichen Nährböden, besonders aber in der Milch, tritt alsbald schon am ersten Tage des Wachstums lebhaftige Sporenbildung auf; die Sporen sind ovoid und mittelständig und sehr resistent; noch nach 2-stündigem Kochen bleiben sie lebensfähig.

Von den Bacillen wird ein Hämolysin gebildet, welches auch in das Filtrat der Nährbouillon übergeht; in einem Röhrchen mit 10 ccm Nährbouillon wird 1 Tropfen defibriniertes Kaninchenblut innerhalb von 24 Stunden komplett gelöst.

Bemerken möchte ich an dieser Stelle, daß für das Hämolysierungsvermögen der Nährbouillon an und für sich mehr der Kochsalzgehalt als die saure oder alkalische Reaktion derselben entscheidend ist, wie Neisser und Wechsberg hervorhoben. Eine Nährbouillon, welche z. B. mit Liebigs Fleischextrakt ohne besonderen Kochsalzzusatz hergestellt wird, hämolysiert, wobei ein stärkerer Alkali- oder Säuregrad derselben als belanglos sich erwies; dagegen genügte ein Zusatz von $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz zu einer derartigen Bouillon gerade, um derselben die hämolytische Fähigkeit zu nehmen.

Der Umstand, daß die Bacillen in sämtlichen Nährmedien, besonders auch in der Milch, alsbald reichlich Sporen bildeten, erschwerte die weitere Untersuchung, die sich jetzt nach dem Vorgange von Flügge darauf richten sollte, an jungen Hunden die Wirkung von mit den Bacillen besäter Milch zu erproben.

Durch die Untersuchungen von Flügge war nämlich nachgewiesen, daß die peptonisierenden Milchbakterien, zu welcher Gruppe ich obigen Erreger rechne, bei jungen Hunden heftige Magendarmkatarrhe hervorriefen, jedoch dazu nur im stande waren, wenn sie sich im Zustande des vegetativen Wachstums und nicht im Zustande der Sporenbildung befanden.

Demgemäß fielen die ersten von mir angestellten Fütterungsversuche an jungen Hunden mit derartig infizierter Milch im wesentlichen negativ aus und jedesmal war reichliche Sporenbildung in der über Nacht im Brutschrank belassenen Milch nachweisbar.

Es gelang jedoch durch Zusatz von 2 Proz. Pepton Witte zur Milch ein reichliches und fast rein vegetatives Wachstum der Bacillen zu bewirken; diese wuchsen dabei zum Teil zu langen Fäden aus.

Schon nach dem Genusse eines Liters von einer derartig hergerichteten und infizierten Milch stellten sich heftige, zum Teil blutige Durchfälle und Erbrechen bei jungen Hunden von 4—5 Monaten ein. Im ganzen kamen bei den Versuchen 6 Hunde zur Verwendung, die ausnahmslos in der gewünschten Weise mit Durchfällen reagierten, daneben magerten dieselben stark ab; bei einem derselben bildete sich zugleich eine Schwäche der Beine aus; besonders war die Lähmung der Hinterbeine auffällig, so daß das Tier unfähig war, sich auf den Extremitäten zu halten. Dieser Zustand verlor sich jedoch im Laufe von 2 Tagen, trotzdem die infizierte Milch weiter gegeben wurde, bis auf eine während der Dauer des Versuches persistierenden Schwäche der Hinterbeine.

Die Hunde schienen sich auch insofern an das Toxin zu gewöhnen, als die Durchfälle bei längerer Darreichung der infizierten Milch etwas seltener und die Hunde wieder munter wurden.

Völlig verloren sich jedoch die Durchfälle erst bei Rückkehr zu gutem Futter innerhalb eines Tages. Die vorhin stark abgemagerten Hunde nahmen dann sehr schnell an Körpergewicht zu, erkrankten aber

gleich wieder unter starker Abmagerung an heftigen Durchfällen, sobald sie infizierte Milch als Nahrung erhielten.

Ein Uebergang des Toxins in die Nährbouillon in wirksamer Menge konnte nicht beobachtet werden. Zu solchen Versuchen wurde eine Bouillon benutzt, die nach dem Vorschlage von Herrn Dr. Pielicke durch einen größeren Zusatz von Pepton und Traubenzucker (2 Proz. Pepton und 3 Proz. Traubenzucker) zum günstigen Nährboden für die Bacillen vorbereitet war.

Dadurch wurde die Sporenbildung auch in der Bouillon hintangehalten und ein reichliches, vegetatives Wachstum der Bacillen unter diffuser Trübung des Nährmediums und Bildung eines dichten Bodensatzes erzielt. Die Bouillon wurde dann durch Pukal-Filter gelassen und das Filtrat an Hunde verfüttert, jedoch ohne irgend welchen Erfolg.

Dagegen wurde von Flügge der Uebergang des Toxins in die Milch festgestellt.

Für weiße Mäuse und Meerschweinchen war der Bacillus nicht pathogen. 1 ccm 24-stündiger Milchkultur subkutan injiziert, vertrugen weiße Mäuse ohne jede Erscheinungen.

Bei einem Meerschweinchen von 450 g Körpergewicht stellte sich nach subkutaner Injektion von 2 ccm Milchkultur vorübergehend Abnahme der Freßlust und Abmagerung ein, jedoch war sonst die Infektion für das Tier ohne weitere Folgen.

Aus den Faeces der erkrankten Hunde die Bacillen zu isolieren, gelang nicht, da hier ein Gemisch der verschiedensten nach Gram sich entfärbenden Bacillen überwog.

Auch in zahlreichen untersuchten Stuhlgängen der erkrankten Insassen der Anstalt befanden sich durchweg nur nach Gram entfärbte Bakterien nahezu in Reinkultur, die sich durch ihr Verhalten in Milch, Lackmusmolke, Traubenzuckerbouillon und Gelatine als *Bacterium coli* erwiesen.

Schwierig war die Antwort auf die Frage, in welcher Weise die Bacillen in den Kloppen zum Wachstum und zur Entwicklung ihrer Toxine gekommen sein sollten, nachdem anfangs behauptet wurde, daß nur frisches Fleisch bei der Herrichtung des Gerichtes verwendet sei.

Es stellte sich jedoch bei näherem Nachforschen heraus, daß zu dem bezeichneten Gericht ein großes Stück Fleisch verwendet worden war, das anfangs 4 Tage im Eisschrank gehalten, dann zu Schabefleisch verarbeitet werden sollte, jedoch augenscheinlich, weil es nicht mehr frisch genug dazu war, abgekocht wurde und noch für einige, wenigstens 2 Tage wieder in den Eisschrank kam.

Das Abkochen des Fleisches hatte keineswegs genügt, um die Sporen in demselben abzutöten, die sich, wie schon oben erwähnt, noch nach 2-stündigem Kochen lebensfähig halten.

Andererseits war die Temperatur des Eisschranks im Juli zum Auswachsen der Sporen durchaus günstig, als auch konnte auf diesem Wege eine intensivere Toxinbildung der Bacillen, die in dem abgekochten Fleisch einen besonders günstigen Nährboden fanden, zu stande kommen, denn bei einer niederen Temperatur von 10° C wurde sowohl auf Agar, wie in Bouillon und Milch ein gutes Wachstum der Bacillen erreicht.

Dieses Beispiel lehrt wiederum, welche Vorsicht bei der Verwendung des Eisschranks zur Aufbewahrung von Nahrungsmitteln, insbesondere von Fleisch, zu gebrauchen ist. Von Flügge sind die peptonisierenden

Bacillen als die Erreger der Magendarmkatarrhe von Säuglingen angesprochen worden, wobei die Milch jedesmal die Rolle der Ueberträgerin des Giftes spielt; daß dieselben jedoch auch eine ausgedehnte Fleischvergiftung, die unter dem Bilde eines heftigen akuten Magendarmkatarrhs verläuft, hervorrufen können, ist bisher wohl nicht beobachtet.

Herrn Dr. Pielicke bin ich für die Anregung zur Arbeit und Unterstützung bei derselben zu ergebenem Dank verpflichtet.

Literatur.

Neisser u. Wechsberg, Ueber das Staphylo toxin.
Heim, Lehrbuch der Bakteriologie.

Nachdruck verboten.

Zur Differenzierung des Typhusbacillus und Bacillus faecalis alcaligenes.

[Aus dem bakteriologischen Institut von Dr. Piorkowski.]

Von Dr. **Piorkowski.**

Der neuerdings in den Vordergrund gedrängten Frage der Wesensverschiedenheit des Typhusbacillus von dem Bacillus faecalis alcaligenes, welcher durch Altschüler¹⁾ eine besondere Bedeutung beigemessen wurde, sind verschiedene Autoren näher getreten mit experimentellen Versuchen, die von den Ergebnissen Altschülers abwichen. Nur Doebert²⁾ konnte zum Teil ähnliche Erfolge zeitigen, wie sie Altschüler publiziert hat, zum anderen Teil hatte er negative Resultate, so daß er zu der Anschauung einer Gruppe von Bacilli faecales alcaligenes neigte. Trommsdorf³⁾ wies nach, daß es bei Ausgang einer Reinkultur unmöglich ist, einen Bac. faecalis alcaligenes in einen Typhusbacillus umzuwandeln, und Conradi⁴⁾ endlich ist durch Nachprüfung der von Altschüler verwendeten, ihm überlassenen Kultur zu dem Ergebnis gekommen, daß diese Kultur 3 Bakterienvarietäten beherbergte.

Wenn ich mit wenigen Worten meinen Standpunkt in dieser Frage mir zu präzisieren erlaube, so geschieht das im Hinblick auf eine Publikation, die, weil diskussionell erörtert, vielleicht weniger beachtet worden ist.

Gelegentlich eines Vortrages: „Zur Sicherstellung der Typhusdiagnose“, den ich im Herbst 1899 im Verein für innere Medizin in Berlin (abgedruckt in der Dtsch. med. Wochenschr. 1899. No. 46.) hielt, wobei ich nähere Angaben über Herstellung und Verwertbarkeit einer 3,3-proz. Harngeatine zur Anstellung der Typhusdiagnose aus Faeces machte, wurde in der Diskussion die Frage aufgeworfen, ob die Harngeatine eine Verwechslung von Typhusbacillen mit Bac. faecalis

1) Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 21.

2) Arch. f. Hygiene. 1905. No. 52.

3) Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 35.

4) Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 38.

alcaligenes unmöglich mache. Ich hatte vorher auf Anregung von Herrn Professor Pfeiffer (Königsberg) von Herrn Petruschky eine *Bac. faecalis alcaligenes*-Kultur erbeten und konnte konstatieren, daß eine Verwechslung mit Typhusbacillen unmöglich wäre, da dieser Stamm auf Harngelatine im Gegensatz zu den Typhusbacillen schleierartig wachse.

Inzwischen hatte ich häufig Gelegenheit, namentlich wenn ich verdächtige Typhusstühle mit meiner Harngelatinemethode untersuchte, den *Bac. faecalis alcaligenes* zu isolieren, und ich konnte ihn noch regelmäßig als solchen leicht unterscheiden.

In neuerer Zeit habe ich dann zwei von mir früher isolierte Stämme und den bisher weiter fortgezüchteten Petruschkyschen Stamm in mehrfache Verdünnungsplatten mittels Harngelatine verteilt. In der I. Platte erschienen die Kolonien leicht schleierartig, kernlos (actinomycesartig) strahlenförmig ausgefasert, die Fasern selbst aber sehr zart. Bereits die zweite Verdünnung, die schon nach 24 Stunden makroskopisch sichtbare Kolonien erkennen ließ, enthielt mittelgroße, gelbliche Kolonien ohne Kern, ein dichtes Fadengewirr vorstellend, am besten zu vergleichen mit Tyrosinkristallen. Die Fasern lösen sich später los und ziehen vereinzelt in der Harngelatine nach allen Seiten hin, wobei sie mitunter auch Spirillenformen annehmen. Selten ist ein Oberflächenhäutchen zu sehen, das sich dann um das darunter liegende Faserwerk in leicht gelblichem Farbenton mit ungleichmäßigem Rande herumbildet. Besonders charakteristisch aber präsentiert sich die III. Platte, die makroskopisch nach 24 Stunden große, vereinzelt liegende, weißgraue, tiefgebuchtete Oberflächenhäutchen zeigt, mikroskopisch (schon durch die Größe von Typhus- und Coli-Bacillen unterschieden) große, wirrfadige Kolonien, deren Fasern sehr lang sich hinziehen, in die Gelatine hineinreichen und zum Teil losgelöst erscheinen.

Alle diese eben beschriebenen Gebilde sind durchaus verschieden von den von mir des öfteren beschriebenen Typhusbacillenkolonien und ebenso von den neuerdings von mir zu Vergleichszwecken herangezogenen Proteus- und *Bact. Zopfii*-Arten, über die ich in nächster Zeit eine ausführliche Publikation bringe.

Während die von der Harngelatine abgeimpften Typhusbacillen ihren hohen Agglutinationswert gegenüber einem bestimmt eingestellten Typhusimmenserum beibehielten, variierten bei den 3 *Alcaligenes*-Arten die Agglutinationsreaktionen außerordentlich. Auch konnte ich *alcaligenes*-immune Meerschweinchen gegen eine künstliche Infektion mit virulenten Typhusbakterien nicht schützen.

Auffallend war, daß der Petruschkysche Stamm, der auf den Harngelatineplatten in den ersten Tagen die oben geschilderten Ausfaserungen zeigte, verschiedene Male in der zweiten Verdünnung mehr runde, fein granuliert Formen, neben Geldrollenformen, wobei eventuelle Oberflächenkolonien leicht gebuchtete, gelblich granuliert, weinblattartige Zeichnungen zeigten, deren äußerster Rand schließlich schleierartig in die Gelatine verlief. Ebenso oft konnte ich in dritten Verdünnungen beobachten, daß die Kolonien, die sämtlich zunächst stark ausgefasert erschienen, nach 2—3 Tagen sich derart zurückbildeten, daß die Reste der Fasern sich zu runden neuen Kolonien zusammenschlossen und so den Eindruck machten, als wenn eine Mutterkolonie (das ehemalige Zentrum) eine reiche Anzahl Tochterkolonien gebildet hätte, die zwar selbständig geworden, aber doch im nahen Schutzbereich der Mutter-

kolonie geblieben waren. Die Mitte selbst bestand dann aus einer sehr reichen Anzahl kleinster, runder Gebilde, die weiterhin, etwas größer geworden, fortstrebten (entsprechend den früheren Faserformen), zunächst noch immer dicht liegen, allmählich auch Geldrollenformen bildeten, um endlich in immer wieder größere, einzeln liegende, runde oder wetzsteinförmige, scharfrandige, gelbe, fein granuliert, selbständige Kolonien übergehend, einen äußeren Wall der ganzen Ansiedelung zu bilden. Meist sah man auch einige Oberflächenhäutchen, die sich um eine oder mehrere Kolonien gelagert hatten, schwach gelblich, mit hellem, leicht gebuchtetem Saum und deutlich weinblattartigen Strichen innerhalb derselben.

Die davon hergestellten Färbepreparate zeigten wiederum die charakteristischen, ziemlich schlanken *Alcaligenes*-Stäbchen und viele längere Kettengebilde. Die Ketten waren länger und dicker und häufiger, als man sie bei den Typhusbacillen findet, und ich halte auch die Faserbildung innerhalb der Harngelatine korrespondierend mit diesen Ketten, da die Faserungen bei den Typhuskolonien nicht so reichlich und zarter sind, während die *Coli*-Kolonien fast völlig rund sind und nur selten verkümmerte Fasern entwickeln, wie man auch wiederum in tingierten Ausstrichpräparaten bei *Coli*-Bakterien niemals Kettenformen findet.

Uebertragungen der zurückgebildeten, runden Formen in neue Harngelatineplatten zeigten wieder schön ausgebildete Faserkolonien.

Die Auffaserungen und Rückbildungen innerhalb der Harngelatine lassen sich durch die Weichheit der 3,3-proz. Gelatine erklären, die, einer Temperatur von 22° C ausgesetzt, bekanntlich für schneller bewegliche Bakterien Wanderungen gestattet, wie sie zuerst Hauser für *Proteus*-Arten beschrieben hat. Die Rückbildungen werden besonders begünstigt in den höheren Plattenverdünnungen, wo den Kolonien genügend Raum zur Ausdehnung zur Verfügung steht und sie in ihrer Fortentwicklung nicht behindert sind. (Die Plattengüsse wurden mit 1, 3 und 5 Oesen ausgeführt.)

Nach meinen Beobachtungen muß ich demnach annehmen, daß der Typhusbacillus dem *Bac. faecalis alcaligenes* wohl verwandt, aber doch differenziert von ihm ist, daß aber die Annahme einer Gruppe von *Bacilli faecales alcaligenes* nicht unberechtigt ist.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie.

III. Ueber Agglutination und spezifische Niederschläge bei der bacillären Dysenterie.

Von Dr. H. Lüdke,

Assistenten der medizinischen Klinik zu Würzburg. (Direktor:
Geheimrat Prof. Dr. von Leube.)

Mit 1 Kurve.

(Schluß.)

Berücksichtigen wir die Agglutinine sezernierenden Zellkomplexe, so müssen wir die Steigerung und Abnahme der Produktion auf celluläre Prozesse zurückführen. Das eingeführte agglutinauslösende Substrat bewirkt zunächst eine Steigerung der Erregbarkeit einzelner,

chemisch verwandter Zellkomplexe, die zur Auslösung eines dissimilatorischen Prozesses im Zellprotoplasma führt und die entsprechend der Eigenart des Reizes in einer bestimmten Direktion für eine bestimmte Zeit verläuft.

Je nach den beiden die Agglutininproduktion beherrschenden Komponenten, der Stärke des Reizes, i. e. der toxischen Wirkungsäußerung der Bakterien wie der Dissoziationskraft der Zellen, variiert die Funktion derselben, ist der Konzentrationsgrad der sezernierten Reaktionsstoffe größer oder kleiner, die Höhe der Ausschläge mehr oder minder hoch, die Zeit, in der die Produktion erfolgt, mehr oder weniger beschleunigt.

Wir werden in einzelnen, eingehenderen Versuchen die Ausschläge der Kurven, die einen Ausdruck der Arbeit der produzierenden Zellen darstellen, variieren können, je nachdem wir den Reiz abstufen, die Empfindlichkeit und Reaktionsfähigkeit des Tieres berücksichtigen; jedoch müssen wir im allgemeinen eine charakteristische Arbeit der agglutininproduzierenden Zellkomplexe annehmen, die sich in charakteristischen Kurven ausspricht.

Je mehr regenerationskräftiges Zellmaterial zu dieser Dissimilation zur Verfügung steht, über desto längere Zeit vermag sich die Produktion zu erstrecken.

Die allmähliche Abnahme der Produktion ist der Ausdruck einer abklingenden Erregbarkeit der gereizten Zellbezirke.

Eine dauernde Paralyse der wirkungskräftigen Zellen wird durch maximalste Reize gesetzt werden können, die mit einem destruktiven Zerfall der produktionstüchtigen Moleküle einhergehen. Erklärlicher wird auch bei dieser Betrachtungsweise das lange Verharren der Agglutinationswerte auf einer bestimmten Höhe während der zweiten Phase der Abnahme.

Durch den neuen Reiz ist ein neuer Gleichgewichtszustand der cellulären Funktion eingetreten, der auf dieser Niveauhöhe, die wenig über dem Gleichgewicht normaler Verhältnisse liegt, gewisse Zeit verharret.

Endlich verschwindet auch dieser Zustand; die Tenazität der Zellen, die latente, durch den fremdartigen Reiz dirigierte Energie ist erloschen, und die Zelle arbeitet wieder in den Bahnen des normalen, den Gesetzen des physiologischen Stoffwechsels unterworfenen Bahnen.

In zweiter Linie beschäftigten sich diese Untersuchungen über die Agglutination von Ruhrbacillen mit der Frage der Differenzierbarkeit verschiedenster Ruhrstämmen durch hochwertiges Immuneserum.

Von der überwiegenden Mehrzahl der Autoren wird die Agglutination eines Infektionserregers durch ein hochwertiges Immuneserum als die wertvollste Ergänzung zur Diagnostik des Erregers neben dem Züchtungsversuch angesehen.

Auch bei der bacillären Dysenterie läßt sich diese Prüfung zur diagnostischen Erkenntnis der aus den Stühlen Ruhrkranker gezüchteten Mikroorganismen mit großem Erfolge verwerten.

Gerade bei der bacillären Dysenterie scheint ein spezifisches Diagnostikum notwendig, da in den letzten Jahren mehrere Erreger der bacillären Ruhr gezüchtet wurden.

Der Typus, der bei der Epidemie in Nordamerika vorherrscht, scheint nach den zugänglichen Beschreibungen gewisse, deutlichere Differenzen

von dem Stamm, der auf den Philippinen (Flexner und Strong) gezüchtet wurde, zu besitzen.

Der letztere wiederum unterscheidet sich in einigen Punkten von den in Rheinland-Westfalen (Stamm Kruse) und den in Japan (Stamm Shiga) differenzierten Stämmen. Diese Unterschiede machten sich zunächst bei Züchtungsversuchen auf differenten Nährböden bemerklich. Schon in den Beschreibungen der beiden Entdecker des Ruhrbacillus, Kruse und Shiga, finden wir einige Streitpunkte, welche Differenzen im Wachstum der von den beiden Autoren gefundenen Stämme betrafen.

Die Unbeweglichkeit des Ruhrbacillus, die speziell von Kruse nachdrücklich betont wurde, mußte Shiga schließlich auch für seinen Bacillus einräumen.

Shiga fand aber die oberflächliche und tiefliegende Gelatinekolonie bei seinem Bacillus fast gleich beschaffen, während Kruse angab, daß die tiefliegende Kolonie uncharakteristisch, die oberflächliche dagegen entsprechenden Typhuskolonien typisch ähnlich sei.

Eine weitere Differenz ergab sich aus den Wachstumsverhältnissen der Flexnerschen und Kruseschen Stämme, indem der Flexnersche Stamm auf Kartoffeln infolge einer geringeren Wachstumskraft dieses Bacillus nach Kruses Ansicht nur spärliche Kolonien erzeugte, während Kruses Stamm eine deutliche, gelbe Wucherung längs des Striches bildete. Bezüglich der oberflächlichen, charakteristischen Kolonien stimmte nach der ursprünglichen Beschreibung Flexners der Shiga'sche Typus nicht mit dem Flexnerschen überein.

Diese Differenzierungen zwischen den einzelnen Stämmen, von denen hauptsächlich der Stamm Kruse, Shiga und Flexner in Frage kommen, gaben kurz nach der Entdeckung dieser Spielarten eines einheitlichen, charakteristischen Erregers Gegenstand zu ziemlich lebhaften Kontroversen.

Wie wenig charakteristisch für die Art des Erregers jedoch solche geringfügigen Differenzen im Wachstum sind, ergab bereits eine Prüfung der einzelnen Stämme durch eine staatliche Kommission in Deutschland: Während einer Dysenterieepidemie in Döberitz wurden bei zwei daselbst gezüchteten Stämmen die gleichen verschiedenen Wachstumsverhältnisse auf Gelatine konstatiert, welche Shiga und Kruse bei ihren Originalstämmen beschrieben hatten.

Solche geringfügigen Unterschiede, die sich im Wachstum eines Mikroorganismus zeigen, dürften jedoch einerseits ebensowenig zu einer strengen Spezifizierung einzelner Spielarten führen, wie zu der anderen Alternative berechtigten, die Wachstumsdifferenzen überhaupt keinerlei diagnostischen Wert zuspricht.

Die letztere Voraussetzung wurde besonders von italienischen und auch französischen Autoren gezogen, welche eine weitgehendste Variabilität der Bakterien acceptierten. Wir müssen, wenn wir auch geringe Wachstumsunterschiede und morphologische Originalitäten eines Erregers als sekundäre, durch Züchtungsversuche oder schon durch den ersten, natürlichen Nährboden bedingte Qualitäten annehmen, dennoch an der Individualität eines Mikroorganismus unbedingt festhalten. Wir finden stets durchgreifende, typische Merkmale eines Erregers vor den Gruppen nahestehender Organismen heraus, Merkmale, die so charakteristisch sind wie das Unvermögen aller echten Ruhrbacillen, in Traubenzuckeragar Gasblasen zu bilden.

Durch die Anpassungsfähigkeit an veränderte Lebensbedingungen, so im tierischen Organismus, kann die eine oder andere Qualität für eine gewisse Zeit verloren gehen, der Bacillus z. B. virulent, virulenter oder avirulent werden, um durch gewisse disponierende Momente seine früheren Eigenschaften wiederzugewinnen.

So kann auch die Agglutinationsfähigkeit eines Bacillus auf kürzere Zeit durch Gewöhnung an andere Ernährungsverhältnisse verloren gehen, um nach Angewöhnung an die neuen Wachstumsbedingungen allmählich wieder agglutinabel zu werden.

Eine konstante Erscheinung bei der Agglutination ist dagegen die Spezifität der Reaktion, durch die sich vermitteltst eines hochwertigen Immuserums differente, nahestehende Stämme und Spielarten voneinander unterscheiden lassen.

Im folgenden soll die Agglutinationsfähigkeit einiger Ruhrstämmen, die in zahlreichen Untersuchungen besonders in Frage gezogen wurden, durch zwei hochwertige Immusera tabellarisch veranschaulicht werden. Die Immusera wurden von Kaninchen, die intravenös eine minimale Dosis abgetöteter Kulturen vom Stamm Shiga und Stamm Flexner erhalten hatten, gewonnen.

I. Agglutination durch „Shiga-Immuserum“.

Serumverdünnung 1:50

Serumverdünnung 1:100

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga (Japan)	vollständig
Kruse (Bonn)	„
Frankfurt (Inst. f. exper. Ther.)	„
Döberitz	„
Morgenroth (China)	„
Flexner	—
Barmen I (1904)	vollständig
Barmen II (1904)	—

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	vollständig
Kruse	„
Frankfurt	„
Döberitz	„
Morgenroth	—
Flexner	—
Barmen I	vollständig
Barmen II	—

Serumverdünnung 1:200

Serumverdünnung 1:400

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	vollständig
Kruse	„
Frankfurt	„
Döberitz	„
Morgenroth	—
Flexner	—
Barmen I	vollständig
Barmen II	—

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	vollständig
Kruse	„
Frankfurt	„
Döberitz	„
Morgenroth	—
Flexner	—
Barmen I	—
Barmen II	—

Serumverdünnung 1:660

Serumverdünnung 1:1000

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	vollständig
Kruse	„
Frankfurt	„
Döberitz	„
Morgenroth	—
Flexner	—
Barmen I	—
Barmen II	—

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	vollständig
Kruse	„
Frankfurt	„
Döberitz	„
Morgenroth	—
Flexner	—
Barmen I	—
Barmen II	—

Serumverdünnung 1:2000

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	fast vollständig
Kruse	Spur
Frankfurt	fast vollständig
Döberitz	—
Morgenroth	—
Flexner	—
Barmen I	—
Barmen II	—

Serumverdünnung 1:3000

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	—
Kruse	—
Frankfurt	—
Döberitz	—
Morgenroth	—
Flexner	—
Barmen I	—
Barmen II	—

II. Agglutination durch „Flexner-Immunserum“.

Serumverdünnung 1:50

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	stärker
Kruse	„
Frankfurt	vollständig
Döberitz	„
Morgenroth	„
Flexner	„
Barmen I	„
Barmen II	„

Serumverdünnung 1:100

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	stärker
Kruse	Spur
Frankfurt	stärker
Döberitz	„
Morgenroth	vollständig
Flexner	„
Barmen I	stärker
Barmen II	vollständig

Serumverdünnung 1:200

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	—
Kruse	—
Frankfurt	—
Döberitz	—
Morgenroth	stärker
Flexner	vollständig
Barmen I	—
Barmen II	vollständig

Serumverdünnung 1:400

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	—
Kruse	—
Frankfurt	—
Döberitz	—
Morgenroth	—
Flexner	vollständig
Barmen I	—
Barmen II	vollständig

Serumverdünnung 1:660

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	—
Kruse	—
Frankfurt	—
Döberitz	—
Morgenroth	—
Flexner	vollständig
Barmen I	—
Barmen II	Spur

Serumverdünnung 1:1000

Stamm	Agglutination in 2 Stunden
Shiga	—
Kruse	—
Frankfurt	—
Döberitz	—
Morgenroth	—
Flexner	Spur
Barmen I	—
Barmen II	—

Die Agglutination trat hier, entsprechend den Angaben früherer Autoren, etwas langsamer ein als bei der Agglutination von Typhus- oder Cholerabacillen durch die korrespondierenden Immunsere; wahrscheinlich ist diese trägere Agglutinationsreaktion auf den Mangel der Beweglichkeit der Ruhrbacillen zurückzuführen.

Die Maximalwerte, die mit dem Immunserum der beiden Kaninchen erhalten wurden, waren bei dem mit Stamm Shiga immunisierten Tier 1:2000, bei dem mit Stamm Flexner immunisierten Kaninchen 1:660 resp. 1:1000.

In anderen Immunisierungsversuchen gelang es jedoch durchaus nicht immer, gleich hohe Agglutinationswerte für Shiga- oder Kruse-

Stämme zu erreichen; bis jetzt war nach meinen Beobachtungen die Verdünnung 1:2000 der Maximalwert, der bei Kaninchen durch Immunisierung mit den Stämmen der Gruppe Shiga-Kruse erreicht wurde. Auffälliger möchte vielleicht erscheinen, daß das mit dem Stamm Flexner immunisierte Tier nur einen relativ niederen Agglutinationstitre erhielt (bei 1:1000 Spur von Häufchenbildung); andere Autoren, so Lentz, versichern, mit Flexner-Stämmen bei Kaninchen Werte von 1:3000 bis 1:15 000 erreicht zu haben; nach eigenen Beobachtungen fand ich bei anderen mit Flexner geimpften Kaninchen ebenfalls Agglutinationswerte von 1:2000 bis 1:5000.

Nach den Untersuchungen von Martini und Lentz, die eine größere Anzahl differenter Ruhrstämmen mittels eines Ziegenimmunserums (durch Impfung mit Stamm Shiga gewonnen), agglutinierten, ergab sich, daß die Stämme Shiga, Kruse, sowie mehrere Stämme aus der Döberitzer Epidemie, der Stamm Müller-Steiermark und Stamm Flexner-New Haven sämtlich bis zu einer Verdünnung von 1:400 agglutiniert wurden, während die Stämme Flexner-Strong (Philippinen), Pseudodysenterie-Stämme, Stamm Deycke-Konstantinopel höchstens bis zur Verdünnung 1:25 durch das Shiga-Immunsrum zur Agglutination gebracht wurden.

Uebereinstimmend mit diesem Verhalten der Agglutinationsreaktion waren auch die morphologischen und kulturellen Befunde, die mit diesen beiden Gruppen von verschiedenen Stämmen erhalten wurden, so daß also die Stämme Kruse, Shiga, Müller, Flexner-New Haven Döberitz als identisch erklärt werden mußten im Gegensatz zu den übrigen ruhrähnlichen Stämmen.

Dörr fand in einer jüngst in dieser Zeitschrift publizierten Arbeit über die bacilläre Dysenterie, daß ein von Kaninchen mit Flexnerschen Stämmen erhaltenes Immunserum in den höchsten Verdünnungen nur auf Flexnersche Stämme wirkte, zu denen auch einige Stämme, die Dörr aus einer Wiener Ruhrepidemie züchtete, gehörten; dagegen war das Flexner-Immunsrum auf Krusesche Stämme wirkungslos, ebenso wie Kruse-Immunsrum sämtliche Flexnersche Stämme nicht agglutinierte.

Dörrens Beobachtungen ergaben so stets eine Identität der von ihm gefundenen Wiener Stämme wie der von Jürgens (in Gruppe) gezüchteten Stämme mit dem Originalstamm Flexners.

Für meine Agglutinationsversuche standen die Stämme Shiga und Kruse zur Verfügung, die ich der Liebenswürdigkeit Herrn Prof. Dr. W. Kruse verdankte, ferner die mir von Herrn Prof. Dr. W. Kolle vom kgl. preußischen Institute für Infektionskrankheiten gütigst überlassenen Stämme Döberitz, Morgenroth, Flexner und ein Stamm vom Frankfurter Institut für experimentelle Therapie (vermutlich ein Shigascher Stamm), dazu kamen noch zwei von mir aus den Entleerungen Ruhrkranker in Barmen gezüchtete Stämme.

Durch das Serum des mit Stamm Shiga immunisierten Kaninchens wurden die Stämme Shiga, Kruse, Frankfurt, Döberitz noch in einer Verdünnung von 1:1000 vollständig agglutiniert, während der Stamm Flexner in einer Verdünnung von 1:50 unbeeinflusst blieb.

Durch das Serum des mit Stamm Flexner immunisierten Kaninchens erfolgte eine prompte Agglutination der Stämme Flexner, Barmen II und Morgenroth noch in einer Verdünnung von 1:200, bei 1:600 wurde nur der Originalstamm Flexner vollständig agglutiniert.

Eine Mittelstellung nehmen hiernach die von mir gezüchteten beiden Barmer Stämme wie der Stamm Morgenroth ein, dessen Agglutinationsverhältnisse für ein entscheidendes Urteil jedoch zu uncharakteristisch waren.

Bezüglich seiner Agglutinationsfähigkeit gehörte der Stamm Barmer I, der noch bei 1:200 durch das Shiga-Immuneserum agglutiniert wurde, eher der Kruseschen Gruppe an, während Stamm Barmer II, der durch Flexner-Immuneserum noch bei 1:400 vollständig agglutiniert wurde, vielleicht eher der Gruppe Flexner zuzurechnen wäre. In ihrem morphologischen und kulturellen Verhalten unterschieden sich beide Stämme jedoch nicht im mindesten von Kruseschen Kulturen; ob es sich in der Tat um zwei differente Spielarten in diesem Falle handelte, soll weiteren Untersuchungen über die Ruhrbacillen der den Spätsommer und Herbst in Barmen herrschenden Dysenterie überlassen werden. Andere in Barmen gezüchtete Stämme gehörten dagegen bezüglich ihrer Agglutinationsverhältnisse stets der Kruse-Shigaschen Gruppe zu.

Die Agglutinationsbefunde erwiesen also im wesentlichen wiederum, daß wir die Gruppe Shiga-Kruse von der Gruppe Flexner zu differenzieren haben und so sehr wahrscheinlich, speziell auch nach den Untersuchungen von Jürgens und Dörr, den Stamm Flexner neben den Kruse-Shigaschen Stämmen als eine besondere, in einzelnen Epidemien auftretende Spielart des Ruhrbacillus anerkennen müssen.

Zu fast allen Agglutinationsversuchen wurden Kaninchen verwandt, da normalerweise Kaninchenserum in sehr seltenen Fällen Kruse-Bacillen in höheren Verdünnungen zur Agglutination bringt. Zur Herstellung geeigneter hochwertiger Immunsera zu Agglutinationszwecken eignen sich nach Angabe anderer Autoren nur solche Tiere, deren Normalserum von vornherein keine erhebliche Agglutinationsfähigkeit aufweist, so daß störende Beeinflussungen durch Mitagglutinine mit größerer Sicherheit ausgeschaltet werden können.

Bei anderen normalen Tierseris konnte häufiger ausgesprochene Agglutination von Ruhrbacillen beobachtet werden; Pferdeserum agglutinierte Shiga- und Kruse-Stämme noch in Verdünnungen von 1:50, seltener bei 1:100, Flexner-Stämme wurden hingegen oft bis zur Verdünnung 1:200 agglutiniert; Hammelsera wirkte Flexner-Stämmen gegenüber meist etwas schwächer; normales Ziegenserum agglutinierte Kruse-Stämme in Verdünnung von 1:20 bis 1:40; Ochsen血清 verhielt sich gewöhnlich analog wie Pferdeserum.

Ein Vorherrschen einer Bakterienart im Agglutinationscharakter eines Normalserums konnte dabei nicht konstatiert werden; nur schien in der Mehrzahl der Fälle der Stamm Flexner von den einzelnen Normalseris bei weitem stärker und häufiger agglutiniert zu werden.

Auf das Vorkommen von Nebenagglutininen bei Immunisierungen von Tieren mit einem bestimmten Ruhrstamm wurde schon vorhin hingewiesen; die Tabellen zeigten deutlich eine geringgradige Mitbeeinflussung der nahestehenden Stämme; auch Eisenberg¹⁾ konnte ähnliche Verhältnisse konstatieren. In zahlreichen Versuchsreihen wurde nun

1) Eisenberg, Ueber die Verwandtschaft der verschiedenen Dysenteriestämme. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 43.)

versucht, durch Absorption eines Stammes die Agglutinationsfähigkeit des Immuserums für diesen Stamm auszuschneiden. In Uebereinstimmung mit den Versuchen von Hetsch und Lentz (29) über die vollständige Ausfällung der spezifischen Agglutinine aus einem Choleraimmunserum ergaben jedoch diese Absorptionsversuche das Resultat, daß die Ausfällungsmethode zum Zweck einer Identifizierung eines Bakterienstammes nicht verwendbar ist, da eine sehr starke Mitbeeinflussung der Teilagglutinine stets konstatiert wurde.

Zum Schluß wären noch einige Untersuchungen über den Uebergang der Agglutinine von der Mutter auf den Fötus zu erwähnen; in 2 Fällen, in denen trüchtige Kaninchen im Verlaufe der Gravidität mit Kruse-Stämmen injiziert waren und das Serum mittelhohe Agglutinationswerte [Fall 1) in Verdünnung von 1 : 330, Fall 2) in Verdünnung von 1 : 500 wirksam] erreicht hatte, war ein Uebergang von Agglutininen auf die jungen Tiere zu konstatieren; im ersteren Falle agglutinierte das 24 Stunden nach der Geburt dem jungen Tiere entnommene Serum Stamm Kruse noch bei 1 : 100, im zweiten Falle noch in einer Verdünnung von 1 : 66. 3—4 Wochen nach der Geburt ergab jedoch eine erneute Prüfung des Serums der jungen Tiere einen stärkeren Rückgang der Agglutinationskraft auf 1 : 30 im ersten, auf 1 : 10 im zweiten Falle.

Ueber spezifische Niederschläge bei der bacillären Dysenterie.

Die Untersuchungen über Bakterienpräzipitine richteten sich bisher im wesentlichen darauf, Beziehungen und Analogieen zwischen dem Phänomen der Agglutination und Präzipitatbildung zu suchen, andererseits das Phänomen der spezifischen Niederschläge durch Studium der bei der Präzipitation beteiligten Komponenten analytisch zu zerlegen und die Bindungsverhältnisse zwischen präzipitinogener Substanz und Präzipitin eingehender zu berücksichtigen.

Während die Forschungen über Agglutination einen breiten Raum in den Arbeiten über die Immunitätsfrage einnehmen, ist das Studium der Bakterienpräzipitation seit der Entdeckung der spezifischen Niederschläge durch R. Kraus nicht wesentlich vorgeschritten und fast sämtliche Arbeiten über die spezifische Niederschlagsbildung in keimfreien Bakterienfiltraten erschienen in Anlehnung an die Agglutination und suchten mit mehr oder weniger Erfolg die Identität beider Phänomene klarzulegen.

Zunächst war es bisher nicht möglich, die Präzipitationsreaktion zu diagnostischen Zwecken zu verwenden, während die Bakterienagglutination ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel zur Erkenntnis des die Infektionskrankheit verursachenden Mikroorganismus wurde.

Die Bemühungen, die Präzipitation diagnostisch zu verwerten, scheiterten vornehmlich daran, daß, während bei einem Immuserum das Agglutinin noch in den höchsten Verdünnungen seine Wirksamkeit bewahrt, das Präzipitin im allgemeinen nur in Verdünnungen von 1 : 20, höchstens 1 : 50 wirksam bleibt.

Es wurden daher Versuche angestellt, in einer Reihe von Bouillonkulturfiltraten resp. Agarkochsalzextrakten, aus denen die wirksame präzipitinogene Substanz in verschiedener Weise gewonnen wurde, eine eventuelle Steigerung der Präzipitinwirkung in höheren Verdünnungen wie durch Abkürzung des zeitlichen Verlaufes des Reaktionsprozesses zu erhalten.

Verwandt wurde ein Dysenteriestamm, der ein Kaninchenimmunserum

erzeugte, das noch in einer Verdünnung von 1 : 1000 deutliche Häufchenbildung hervorbrachte. Die Bouillonkulturen und Kochsalzagarextrakte wurden stets durch ungebrauchte Pukall-Zellen oder Silberschmidt'sche Tonzellen filtriert; bei Verwendung älterer, bereits häufig benutzter Tonfilter blieb oft die Präzipitation selbst bei Einwirkung von hohen Dosen des Immunserums aus, womit auch die Beobachtungen anderer Autoren übereinstimmen. Die präzipitinogenhaltigen Lösungen wurden, nachdem das Filtrat auf Sterilität geprüft war, in sterilen Gläsern aufbewahrt. Die Ausbeute an präzipitinogener Substanz in 8, 14 und 30 Tagen alten Bouillonkulturen war in den allermeisten Untersuchungsreihen die gleiche; gewöhnlich ergaben Verdünnungen des Immunserums von 1 : 20 und 1 : 40 nach 2-stündigem Verweilen im Brutschrank Trübungen und leichte Flockenbildung, nach spätestens 16—24 Stunden war entsprechend den einzelnen Verdünnungen ein mehr oder weniger massiger Niederschlag aufgetreten. Ältere, 12—18 Wochen alte Bouillonkulturen ergaben seltener Abweichungen, indem nur Verdünnungen des Immunserums von 1 : 10 oder 1 : 20 Niederschläge hervorbrachten. Wahrscheinlich war in diesen älteren Kulturen bereits ein Abbau der präzipitinogenen Substanz eingeleitet. Ähnliche Resultate wie die Bouillonkulturfiltrate ließen Agarkochsalzextrakte erkennen; höhere Verdünnungsgrade als 1 : 50 erwiesen sich jedoch auch hier als unwirksam; der zeitliche Ablauf der Reaktion bot keine Abweichung von mit Bouillonkulturfiltraten erhaltenen Ergebnissen. Von anderen als den gebräuchlichen Bouillon- oder Agarnährböden wurden in einigen Fällen Bouillonkulturen benutzt, die einen Zusatz von Leucin und Glykokoll erhalten hatten; weiter kamen Gehirnnährböden zur Verwendung; in keinem Falle wurden jedoch erheblichere Modifikationen in der Präzipitatabildung erzielt.

Auf eiweißfreien Nährböden dagegen (Asparagin 4,0, Kochsalz 5,0, neutrales Natriumphosphat 2,0, milchsaures Ammoniak 6,0) wurde entsprechend den Angaben von Glaessner (30) über die Beeinflussung des Agglutinogens durch eiweißhaltige und eiweißfreie Nährböden eine nur sehr geringfügige Ausbeute an präzipitinogener Substanz erzielt.

Abgesehen davon, daß die mikroskopische Beobachtung bei dem Phänomen der Agglutination dem Experimentator den Ablauf dieser Reaktion leichter und schneller zu Gesicht bringt als die Präzipitation, die als makroskopische Reaktion zur sichtbar werdenden Ausflockung größere Quantitäten präzipitinhaltigen Serums erfordert, liegt die Schwierigkeit, eine zu diagnostischen Zwecken gut verwertbare Präzipitinreaktion zu bekommen, vor allem darin, daß die Menge und Konzentration der präzipitinogenen Substanz, die in das Nährsubstrat übergeht, nur sehr geringfügig ist und öfter variable Eigenschaften im Aufbau ihres Moleküls zeigt.

Wir wissen nach den Versuchen von Kraus und Joachim (31), daß je nach der Art der Kulturen, von denen die präzipitinogene Substanz stammt, sich das Vermögen, durch ein entsprechendes Immunserum Niederschläge auszulösen, variiert.

Bouillonkulturfiltrate und Agarkochsalzauszüge erwiesen sich nach den Experimenten von E. P. Pick (32) verschieden; die erhitzten Bouillonkulturfiltrate zeigten sich thermostabiler als die Kochsalzagarextrakte. Ähnliche Verhältnisse fielen uns bei der Verwendung von Bouillonkulturfiltraten und Agarkochsalzauszügen bei Gelegenheit anderweitiger Untersuchungen des *Bac. dysenteriae* (Stamm Kruse) auf:

Wurden Agarkochsalzextrakte auf ca. 62° C erwärmt, so trat bei Zusatz von 1 ccm Dysenterieserum zu 1 ccm Filtrat kein Niederschlag mehr auf, während sich Bouillonkulturfiltrate wärmebeständig erwiesen. Ebenso wie bei Kraus und Joachim konnte jedoch in eigens hierzu unternommenen weiteren Versuchen diese Differenz zwischen Kochsalzagarfiltraten und Bouillonkulturfiltraten nicht stets konstatiert werden; es handelte sich jedenfalls nicht um eine durchgehend konstante Eigenschaft der beiden auf verschiedene Weise gewonnenen präzipitino-genen Substanzen; sehr selten nur erwies sich das Filtrat von Bouillonkulturen thermolabil, während Kochsalzagarfiltrate sich thermostabil zeigten. Solche Variationen in den Versuchsergebnissen beruhen auf Modifikationen der präzipitino-genen Substanz, indem mit der Zeit auftretende Abbauprodukte die Fällung verdecken und hemmen können.

Wir müssen außerdem annehmen, daß die Art der Immunisierung einen Einfluß auf die Komposition des Agglutinins ausüben kann; so erzeugen im allgemeinen Immunsera, die mit erwärmten Bacillen gewonnen sind, bessere Agglutininproduktion als die mit lebenden, unerwärmten Bakterien erhaltenen Sera; ähnliche Differenzen wurden bei verschiedenster Behandlung der Bakterien vor der Injektion je nach dem Abbau der agglutinin- (resp. präzipitin-) auslösenden Substanz und dem Intaktbleiben der wirkungsfähigen Komponenten gefunden.

Es ergeben also sowohl die Veränderungen in der Konstruktion der bakteriellen Substanz, mit dem ein Immunserum erzeugt wird, wie die durch verschiedenartige Prozesse gewonnenen Filtrate verschiedene Reaktionsstufen, die entsprechend dem Abbau der verwendeten Substanzen, der Modifikation der wirksamen Komponenten, variiert werden können, die jedoch auch von der Empfindlichkeit und Reaktionsfähigkeit der spezifischen Zellen des tierischen Organismus abhängen.

Schon von E. P. Pick war der Nachweis erbracht, daß auf 60° C erhitzte Immunsera die Eigenschaft, Präzipitate in entsprechenden Filtraten zu bilden, verlieren. Bei der Einwirkung höherer Temperaturen erfährt nach den Versuchen von Kraus und v. Pirquet (33) lediglich die fällende Gruppe des Präzipitins eine Modifikation; das Präzipitinmolekül wird zum Präzipitoid, das seine bindende Eigenschaft bewahrt hat. Zugleich wurde bei der Verwendung präzipitoidhaltigen Immunserums eine Hemmung der Niederschlagsbildung nach Zusatz aktiven präzipitierenden Serums konstatiert.

Die Versuche, welche mit Dysenteriefiltraten (Stamm Shiga) von 4-wöchentlichen Bouillonkulturen und spezifischem Kaninchenimmunserum (mit einem Agglutinationstitrewert von 1:800) erhalten wurden, ergaben ähnliche Resultate. Wurde so zu 2,0 ccm Dysenteriefiltrat 0,2 und 0,5 ccm inaktiviertes Immunserum zugesetzt, so trat keine Niederschlagsbildung ein; ebensowenig traten nach neuem Zusatz von 0,2 resp. 0,5 ccm aktivem Immunserum zu der gleichen Menge Filtrat Präzipitate auf. Erst bei Zusatz größerer Filtratmenge fielen typische Niederschläge aus: die Hemmung der Präzipitatbildung hing demnach auch hier von der Menge des zugesetzten Filtrats ab. Daß auch längeres Aufbewahren eines Immunserums den Verlust der fällenden Gruppe des Präzipitinmoleküls mit sich bringen kann, bewies die Untersuchung eines Dysenterieimmunserums (mit Stamm Shiga erzeugt), das 5½ Monate lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen war; bei einer Verdünnung von 1:5 und 1:10 trat hier kein Niederschlag ein.

Wir bestätigten also in diesen Versuchen, daß auch das durch In-

jektion von Dysenteriebacillen erhaltene Immunserum über ein Präzipitin verfügt, das eine stabile, resistente, bindende Gruppe und eine gegen äußere Einflüsse relativ widerstandslose, fällende Gruppe besitzt und können das Dysenteriepräzipitin daher unter die bisher untersuchten Bakterienpräzipitine infolge seines analogen Baues und seiner analogen Wirkungsweise einordnen.

Unsere bisherigen Beobachtungen über den Präzipitationsvorgang wie die bei der Niederschlagsbildung beteiligten Komponenten führten zu der Annahme einer Identität dieser Erscheinungen mit dem Phänomen der Agglutination. Sehen wir von der variablen Qualität ab, die das präzipitinogene Molekül durch thermische und chemische Prozeduren erhalten kann, so finden wir einen Unterschied darin ausgeprägt, daß bei der Agglutination ein Körper mit präziser Struktur zur Reaktion verwandt wird, während bei der Präzipitation in liquidis gelöste, kolloidartige Substanzen miteinander reagieren. Die immunisatorisch erhaltenen Produkte im Serum, Agglutinin und Präzipitin, sowohl wie die agglutinogene und präzipitinogene Substanz der Bakterien scheinen in biologischer Hinsicht einen durchaus ähnlichen Bau zu besitzen; nach Palt auf sprechen wir von Teilerscheinungen einer identischen biologischen Reaktion. Je nach der Zustandsänderung der bakteriellen Substanz, die mehr präzipitinogene resp. agglutinogene Substanz entstehen läßt, variiert die nachweisliche Menge der Reaktionskörper im Immunserum. Beide Reaktionsprodukte im Serum, Agglutinin und Präzipitin, besitzen nach der Ehrlichschen Ansicht eine fällende, leicht veränderliche Gruppe und ein stabileres, bindendes Element, mit dem die Spezifität der Wirkung verknüpft ist.

Der Abbau des Präzipitins wie Agglutinins bewirkt einen höheren Bindungsreiz zum Rezeptor des Antigenmoleküls; durch thermische Einflüsse entstehen Präzipitoide, Agglutinoide mit nur erhaltener bindender Gruppe.

Die größte Reaktionsbreite, d. h. eine maximale Produktion von Präzipitin resp. Agglutinin, wird nach Obermayer und Pick (34) in der Zustandsphase der die Reaktionskörper auslösenden Substanzen erhalten, die zwischen der Phase des unveränderten, nativen Bakterienprotoplasmas und der des völligen Abbaues in der Mitte liegt; je nach der Modifikation der molekularen Komposition der präzipitinogenen resp. agglutinogenen Substanz variiert die Möglichkeit und die Intensität der Sekretion entsprechender Reaktionsprodukte.

Während die Prüfung des Spezifitätscharakters der agglutinierenden Immunsera eine präzisere Trennung einzelner, differenter Ruhrstämme ergab, war bei der Prüfung der Präzipitine der gleichen Immunsera weniger der prägnante Ausdruck der Spezifität zu erhalten. Allerdings vermochten größere Serumquantitäten in Kulturfiltraten grundverschiedener Bakterienstämme (Typhus, Coli, Cholera) keine Niederschläge hervorzubringen; Versuche mit einzelnen differenteren Ruhrstämmen fielen jedoch häufiger zu Ungunsten einer ausgesprochenen Spezifität der Präzipitine aus; bei den quantitativen Differenzen, in denen Bakterienpräzipitine und -agglutinine ihre Wirksamkeit entfalten, erscheint dies abweichende Verhalten bei den Präzipitinen erklärlich. Immerhin war jedoch der Spezifitätscharakter deutlicher angezeigt, wenn große Serumquantitäten zur Ausfällung benutzt wurden.

Ebenso wie bei den einzelnen Dysenterieagglutininen Partialagglu-

tinine nachgewiesen werden können, ergaben hier Partialpräzipitine Niederschlagsbildung in den einzelnen differenten Bouillonfiltraten. Das benutzte Shiga-Immunserum agglutinierte Stamm Shiga, Müller (Steiermark), Kruse, Döberitz noch in Verdünnungen von 1:1500 bis 1:800 und rief in den entsprechenden Kulturfiltraten massige Niederschläge hervor; Stamm Flexner wurde dagegen nur in einer Verdünnung des Immunserums von 1:80 agglutiniert und rief entsprechend erst bei Zusatz einer größeren Serummenge — von 1,0 ccm zu 2,0 ccm Filtrat — eine Trübung mit geringer Flockenbildung hervor.

Aus allen Versuchen ging gesetzmäßig hervor, daß nur bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse eine Spezifität der Dysenteriepräzipitine zu erkennen war.

Zum Schluß wurden einige Untersuchungen über das Vorkommen von Präzipitinen in normalen Seris und über den Uebergang von Bakterienpräzipitinen auf den fötalen Organismus angestellt.

Beobachtungen über Bakterienpräzipitine in Blutseris normaler Tiere sind, soweit mir die Literatur über diesen Gegenstand zugänglich war, bisher nicht konstatiert. Es schien mir daher von einigem Interesse, einige tierische Normalsera, die einen hohen Agglutiningehalt aufwiesen, auf Bakterienpräzipitine zu untersuchen. In den meisten tierischen Seris wurden nur relativ niedrige Agglutinationswerte für Ruhrbacillen gefunden, abgesehen von einzelnen Rinderseris, die, speziell den Stamm Flexner, öfter bis zur Verdünnung 1:400 agglutinierten. Diese Normalsera ergaben auch in einigen Fällen in Verdünnungen von 1:5, 1:10, sehr selten bei 1:20, Trübungen und Niederschläge in Flexner-Bouillonfiltraten.

Ebenso wie ein Uebergang und eine kurzwährende Persistenz von Ruhrbakterienagglutininen vom immunisierten Muttertier (Kaninchen) auf die jungen Tiere konstatiert werden konnte, gelang es, im Serum neugeborener Kaninchen, die von einem mit Stamm Flexner immunisierten Muttertier stammten, Ruhrpräzipitine in stärkeren Verdünnungen des Serums (1:5) nachzuweisen; Sera anderer neugeborener Kaninchen wie ausgewachsener normaler Tiere zeigten nach allen Untersuchungen niemals Niederschläge in den spezifischen Bouillonfiltraten.

Literatur.

- 1) Jürgens, Untersuchungen über die Ruhr. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LI. 1904.)
- 2) Dörr, Beobachtungen über bacilläre Dysenterie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 4.)
- 3) Zeitlin, Ref. im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1905. Heft 1/3.
- 4) Castellani, Ueber das Verhältnis der Agglutinine zu den Schutzkörpern. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVII. 1901.)
- 5) Sachs, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1903.
- 6) Bulloch, Transact. of the pathol. soc. of London. Vol. LII. 1901.
- 7) Lüdke, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904. Heft 2/3.
- 8) Pfeiffer u. Marx, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXVII. 1896.
- 9) Morgenroth, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. 1899.
- 10) v. Dungern, Die Antikörper. Jena (G. Fischer) 1903.
- 11) Forssmann u. Lundström, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902.
- 12) v. Embden, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXX. 1899.
- 13) Levy u. Bruns, Berl. klin. Wochenschr. 1897.
- 14) Goldberg, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901.
- 15) Jatta, Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXXIII. 1900.
- 16) Wright, The Lancet. 1901.
- 17) Levin, Ref. s. Jörgensen.
- 18) Neufeld, Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XL. 1902.

- 19) Jörgensen, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5/7.
- 20) v. d. Velde, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII.
- 21) Durham, The Lancet. 1898. 15. Jan.
- 22) Müller, P. Th., Ueber den bakteriologischen Befund bei einer Dysenterieepidemie in Südsteiermark. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902. Heft 2.)
- 23) Dombrowski, Zur Biologie der Ruhrbacillen. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVII. Heft 3.)
- 24) Martini u. Lentz, Die Differenzierung der Ruhrbacillen mittels der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XLI. 1902. Heft 2.)
- 25) Shiga, Weitere Studien über den Dysenteriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XLI. 1902. Heft 3.)
- 26) Gay, Vaccination and serum therapy against the bacillus of dysentery. (Pennsylv. med. Bull. 1902.)
- 27) Kruse, Weitere Untersuchungen über die Ruhr und die Ruhrbacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 23/24.)
- 28) Madsen s. Jörgensen, Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5/7.)
- 29) Hetsch u. Lentz, Festschr. f. Robert Koch. 1904.
- 30) Glaessner, Ueber den Einfluß der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens auf die Immunkörper. (Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. Bd. 1. 1905.)
- 31) Kraus u. Joachim, Ueber Beziehungen der präzipitogenen Substanz zum Agglutinogen der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1904.)
- 32) Pick, E. P., Zur Kenntnis der Immunkörper. (Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. I.)
- 33) Kraus u. v. Pirquet, Weitere Beiträge über spezifische Niederschläge. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1902.)
- 34) Obermayer u. Pick, Wien. klin. Wochenschr. 1904.

Nachdruck verboten.

Ueber das Latentleben der Tetanussporen im tierischen Organismus

und über die Möglichkeit, daß sie einen tetanischen Prozeß unter dem Einfluß traumatischer und nekrotisierender Ursachen hervorrufen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Kgl. Universität zu Siena, geleitet von Prof. O. Barbacci.]

Von Dr. med. **Giulio Tarozzi,**

Assistenten und Privatdozenten der pathologischen Anatomie.

(Schluß.)

Bei zwei Kaninchen von dieser Reihe wurde die Injektion unter die Haut ausgeführt, bei beiden, von denen das eine nach 11 Tagen und das andere nach 22 Tagen getötet wurde, erhielten wir positive Ergebnisse aus den inneren Organen; die positiv ausgefallenen Kulturen aus den verschiedenen Organen sind allerdings nicht so häufig gewesen, wie in den vorangehenden Untersuchungen. Die Gegenwart der Sporen konnte man immer in der Leber feststellen, obwohl neben Kulturen mit positivem Erfolg andere erhalten wurden, die, aus demselben Organe herrührend, doch steril blieben; die Nieren gaben für beide Fälle einen negativen Befund, und die Milz gab einen positiven in dem einen, und einen negativen Befund in dem anderen Fall. Dies glaube ich in Zusammenhang mit der Tatsache setzen zu müssen, daß bei subkutaner Injektion eine verhältnißmäßig geringe Sporenmenge aus der Einimpfungsstelle in den Kreislauf gelangen kann, und daß sie deshalb

leichter und in kürzerer Zeit vom Organismus vernichtet werden können. Tatsächlich finden wir in den übrigen Kaninchen, wo die Injektion direkt in die Venen geschah und infolgedessen sich eine reichlichere Sporenmenge schon vom Beginn an im ganzen Organismus ausbreitete, eine weit größere Häufigkeit in den positiven Ergebnissen nicht nur hinsichtlich der Leber, sondern auch hinsichtlich der anderen Organe, gleichwohl bei vielen Fällen die seit der Injektion verstrichene Zeit eine bedeutend längere war. Aus einem gesamten Ueberblick auf die gewonnenen Resultate ersieht man jedoch, daß die Leber das Organ darstellt, in dem sich die injizierten Sporen mit größerer Konstanz wiederfinden, und wo sie sich für längere Zeit erhalten. Für dieses Organ erhielt man überhaupt kein vollkommen negatives Resultat, aus der Niere hingegen scheinen die Sporen sehr früh zu verschwinden, da sich dort die Sporen in einem Fall nach 11 Tagen und in einem anderen nach 14 Tagen wiedergefunden hatten, während die aus diesem Organ von einem in die Venen 35 Tage zuvor inokulierten Kaninchen gemachten Kulturen steril blieben, sowie bei allen anderen Tieren, die vor einer noch längeren Zeitperiode injiziert wurden. Es würde sich also ergeben, daß die Tetanussporen im Innern der Organe zwar der ununterbrochenen Zerstörung ausgesetzt sind, zum Teil diesen Zerstörungsursachen widerstehen und für eine sehr lange Zeit (die in meinen Versuchen $3\frac{1}{2}$ Monate erreichte, deren maximalen Wert ich doch nicht bestimmt habe) noch lebensfähig darin zurückbleiben.

Nun entsteht die Frage, ob diese für eine so lange Zeit im Inneren des Organismus zurückgebliebenen Sporen noch im stande sind, unter geeigneten Bedingungen nicht nur sich zu entwickeln, sondern auch toxische Kulturen zu liefern. Auf Grund meiner Beobachtungen muß ich sagen, daß ich nie einer Tetanuskultur begegnet bin, in der der Keim gut vegetierte und Sporen bildete (wie es übrigens immer der Fall gewesen ist bei den positiv ausfallenden Kulturen von dieser ganzen Versuchsreihe, welches auch die vom Augenblick der Injektion abgelaufene Zeit war), und in der das toxische Vermögen gefehlt hätte; denn es genügte immer die Injektion einer Dosis von 1—1,5 ccm Kultur, um beim Kaninchen Tetanus zu erzeugen, während für das Meerschweinchen die geringere Gabe von 0,5 ccm als ausreichend sich erwies; ein Giftigkeitsgrad also, der beinahe gleich demjenigen der Kulturen ist, von denen wir zur Anstellung dieser Untersuchungen ausgegangen sind.

III.

Die vorhergehenden zwei Versuchsreihen, die man in Bezug auf den in den vorliegenden Untersuchungen vorgenommenen Hauptzweck einigermaßen als Vorversuche betrachten könnte, besagen also, daß die Tetanussporen von der Injektionsstelle in den Kreislauf übergehen können, in den tiefliegenden Organen sich aufhalten, und hier nicht nur für eine mitunter sehr lange Zeit lebensfähig sich erhalten, sondern auch äußerst toxische Kulturen zu geben im stande sind, wenn sie von neuem unter zu ihrer Vegetation geeigneten Bedingungen kommen. Nach Feststellung dieser Tatsache war es logisch, sich zu fragen, ob es möglich wäre, den Tetanus bei den in den inneren Organen solche Latentsporen bergenden Tieren experimentell hervorzurufen, und eben zur Lösung dieser Frage wurden die Versuche der folgenden dritten Reihe angestellt.

Dazu verwendete ich Kaninchen, denen ich seit einer verschiedenen

langen Zeit in die V. jugularis sporenreiche und atoxische Tetanuskulturen injiziert hatte: Bei ihnen suchte ich in irgend einer Stelle des Organismus eine Bedingung hervorzurufen, die als fördernd für das Wiederawachen des Keimvermögens der Sporen gehalten werden konnte. Welche Mittel zur Erreichung dieses Vorhabens ich zweckmäßig zu verwenden glaubte, wird bei den einzelnen Versuchen angegeben, im allgemeinen kann ich diesbezüglich bloß bemerken, daß ich dabei hauptsächlich beabsichtigte, durch verschiedene Mittel einen Nekroseherd der Gewebe hervorzurufen, da mich meine Studien über die Biologie der anaëroben Keime im allgemeinen und insbesondere des Tetanusbacillus zu der Ueberzeugung geführt haben, daß allein dort, wo es der Nekrose verfallenes Gewebe gibt, die Vegetation der Sporen solcher Mikroorganismen möglich ist.

Kaninchen I. 31. März 1905. Es werden 2 ccm einer sporenhaltigen, 1 Monat alten und für eine Stunde auf 75° C erwärmten Kultur in die V. jugularis injiziert.

6. Mai 1905. Durch die Bauchwand hinein wird in die Leber 1 ccm einer 5-proz. Chininsulfatlösung eingeführt. In den darauffolgenden Tagen wird keine Tetanuserscheinung beobachtet.

15. Mai 1905. Es wird in die Leber 1 ccm einer 20-proz. Milchsäurelösung injiziert. Keine Tetanuserscheinung.

25. Mai 1905. Das Tier wird geopfert. Bindegewebige Adhärenzen und fibrinöse Exsudate zwischen der Glissonschen Kapsel und dem Wandperitoneum; fibrinöse Exsudate zwischen den Leberlappen und in der Leber; jedoch Fehlen von wahren, eigentlichen Nekroseherden. Keine Bacillenform in den frischen Präparaten der Exsudate und des Lebergewebes. Die Kulturen aus der Leber, der Milz und den Lungen fallen positiv aus, diejenigen aus der Niere negativ.

Kaninchen II. 1. April 1905. Injektion in die V. jugularis von 1,5 ccm einer sporenhaltigen und für eine Stunde auf 75° C erwärmten Kultur.

6. Mai 1905. Es werden unter die Haut an der Flanke 2 ccm einer 5-proz. Chininsulfatlösung injiziert. Keine Tetanuserscheinung.

19. Mai 1905. Durch eine kleine Oeffnung in der Mittellinie des Bauches wird zu wiederholten Malen mit einer Péan'schen Pincette ein Leberlappen gezwickt und zwischen die so gequetschten Gewebe werden 2 ccm einer 10-proz. Milchsäurelösung injiziert. Keine Tetanuserscheinungen in den folgenden Tagen.

29. Mai 1905. Durch einen lateralwärts der Rumpfmuskeln ausgeführten Einschnitt wird die V. emulgens der linken Niere unterbunden.

5. Juni 1905. Da bisher keine Tetanuserscheinungen auftraten, wird das Tier geopfert. Sektionsbefund: Im Niveau der Leber findet man nur Narben- und Reaktionserscheinungen mit Bildung dicker fibrinöser Exsudate; unter der Nierenkapsel beobachtet man ebenfalls kleine Flecken, die aus fibrinösen Exsudaten bestehen. In der Niere gibt es Stauungserscheinungen, doch keine Nekroseerscheinungen. Am hängenden Tropfen aus den verschiedenen Organen wurde kein Bacillus erkannt. Die Kulturen fallen positiv aus der Leber und der Milz, negativ aus der Niere aus.

Kaninchen III. 1. April 1905. Injektion in die V. jugularis von 1,5 ccm einer sporenhaltigen und wie im vorangehenden Fall erwärmten Kultur.

12. Mai 1905. Durch einen Hammerschlag wird ein Komminutivbruch des rechten Femurs erzeugt.

15. Mai 1905. Es tritt eine tetanische Kontraktur der rechten vorderen Extremität auf.

17. Mai 1905. Die Zustände bleiben stationär; es wird am Niveau des Frakturherdes 1 ccm einer 20-proz. Milchsäurelösung injiziert. Es treten keine weiteren Tetanuserscheinungen auf.

7. Juni 1905. Der Bruch ist vernarbt; das Kaninchen ist fortschreitend abgemagert und starb heute mit Trismus, Opisthotonus und Krämpfen.

In der frakturierten Extremität gibt es zwischen den vernarbten Geweben und den Knochensplittern einen kleinen Knoten von der Größe einer Bohne und aus einer käsig aussehenden Substanz bestehend; durch die Untersuchung im hängenden Tropfen werden keine Bacillen wahrgenommen. Man erhält Entwicklung des Tetanusbacillus aus den Kulturen der Leber und der Milz; von zwei Kulturen aus dem Knochenmark des gesunden Femurs entwickeln sich Bacillen bloß in der einen; in den mit der frakturierten Extremität ausgeführten tritt spätere Entwicklung von Tetanusbacillen und von anderen gemeinen Keimen auf; die Kulturen aus der Niere bleiben steril.

Kaninchen IV. 31. März 1905. Injektion in die V. jugularis von 2 ccm einer sporenhaltigen und für eine Stunde auf 70° C erwärmten Kultur.

16. Mai 1905. Es wird eine Komminutivfraktur des Femurs erzeugt und in den Herd 1 ccm einer 20-proz. Milchsäurelösung injiziert. In den folgenden Tagen treten keine Tetanuserscheinungen auf.

21. Mai 1905. Es wird in den Bruchherd 1 ccm eines Rauschbrandtoxins injiziert.

23. Mai 1905. Es werden Branderscheinungen in der Masse des gequetschten Gewebes beobachtet; zu gleicher Zeit tritt Starrheit in der Extremität und Trismus auf.

25. Mai 1905. Tod unter tetanischen Krämpfen. In den gequetschten Geweben haben sich ausgedehnte Brandzonen gebildet; im Brandsaft sieht man bei der direkten Untersuchung viele typische Bacillen. Die Kulturen aus der Leber, der Milz und den Nieren fallen positiv aus; in jenen aus dem brandigen Gewebe entwickeln sich sowohl die Tetanusbacillen wie die Rauschbrandbacillen und gemeine, dem *Bact. coli* ähnliche Bacillen.

Kaninchen V. 17. Mai 1905. Injektion in die V. jugularis von 1 ccm einer sporenhaltigen, ca. 2 Monate alten Kultur.

24. Mai 1905. Man unterbindet die linke V. renalis und injiziert in das Nierengewebe 1 ccm destillierten Wassers.

27. Mai 1905. Die linke hintere Extremität zeigt tetanische Kontraktur, die Wirbelsäule ist nach links gebeugt und es besteht Trismus des Unterkiefers.

28. Mai 1905. Stirbt an Tetanus. In der operierten Niere sind Stauungs- und Nekroseerscheinungen zu beobachten, die letzteren besonders auf die mehr zentral liegenden Teile beschränkt. Durch direkte Untersuchung sieht man den Tetanusbacillen ähnliche Bacillen, sie enthalten jedoch keine Sporen; man setzt die Niere zur Inkubation in den Thermostaten und nach 24 Stunden sieht man im hängenden Tropfen in großer Zahl typische, trommelschlägelartige Bacillen. Die Kulturen aus der Lunge, Leber, Milz und gesunden Niere fallen sämtlich positiv aus.

Kaninchen VI. 19. April 1905. Injektion in die V. jugularis von 2 ccm einer sporenhaltigen und für eine Stunde auf 75° C erwärmten Tetanuskultur.

29. Mai 1905. Es werden die sämtlichen Gefäße des linken Nierenhilus unterbunden.

2. Juni 1905. Man bemerkt Kontraktur der linken hinteren Extremität.

6. Juni 1905. Es besteht die Kontraktur der Extremität immer noch und die Wirbelsäule zeigt sich nach links gebeugt. Diese Erscheinungen schreiten in den darauffolgenden Tagen nicht fort.

20. Juni 1905. Man injiziert in die unterbundene Niere 1 ccm einer 5-proz. Milchsäurelösung.

21. Juni 1905. Tod an Bauchfellentzündung. Die operierte Niere ist stark asamisch, doch nicht nekrotisch; bei der Untersuchung des hängenden Tropfens sind Tetanusbacillen leicht zu sehen. Aus den Kulturen entwickeln sich Tetanusbacillen zusammen mit *Bact. coli*. Weitere Kulturen aus den übrigen Organen wurden nicht gemacht.

Kaninchen VII. 31. Mai 1905. Injektion in die V. jugularis von 1,5 ccm einer sehr alten Kultur.

13. Juni 1905. Man unterbindet die linke V. renalis. Es treten keine Tetanuserscheinungen in den folgenden Tagen auf.

17. Juni 1905. Man injiziert durch die Bauchwandhinein in dieselbe Niere 1 ccm einer 20-proz. Milchsäurelösung.

20. Juni 1905. Man findet das Tier im Käfig tot vor, ohne daß man feststellen konnte, ob Tetanussymptome auftraten. Die operierte Niere zeigt ein gelbliches, schmieriges Aussehen. Die Untersuchung im hängenden Tropfen läßt die Gegenwart von Bacillenformen nicht erkennen; die Kulturen weisen jedoch üppige Entwicklung der Tetanusbacillen auf.

Kaninchen VIII. 31. Mai 1905. Injektion in die V. jugularis von 1,5 ccm einer sporenhaltigen, sehr alten Tetanuskultur.

13. Juni 1905. Komminutivbruch des Femurs. In den folgenden Tagen treten keine Tetanuszeichen auf.

23. Juni 1905. Das Tier wird getötet. An der Bruchstelle bestehen regelmäßige Reparations- und Vernarbungsvorgänge, doch gibt es keinen Nekroseherd. Positiv fallen die Kulturen von dem frakturierten Femur, der Niere und der Milz aus.

Kaninchen IX. 2. Juni 1905. Injektion in die V. jugularis von 1,5 ccm einer sporenhaltigen, für eine Stunde auf 75° C erhitzten Kultur.

15. Juni 1905. Man unterbindet die linke V. emulgens und injiziert in die Niere 0,5 ccm mikroorganismenfreier Flüssigkeit von einer Rauschbrandkultur.

18. Juni 1905. Tetanuserscheinungen traten noch nicht auf. Man injiziert in dieselbe Niere 0,5 ccm einer 30-proz. Milchsäurelösung.

21. Juli 1905. Das Kaninchen stirbt unter tetanischen Erscheinungen.

In der operierten Niere findet man nach der zentral gelegenen Zone zu einer erweiterten Nekroseherd; durch direkte Untersuchung erkennt man darin den Tetanusbacillen ähnliche sporenfreie Mikroorganismen. In einer kleinen Zone neben der operierten Niere gibt es Zeichen einer umschriebenen Bauchfellentzündung. Die Kulturen aus der nekrotischen Niere weisen üppige Entwicklung von Tetanusbacillen und *Bact. coli* auf. Aus der gesunden Niere entwickelt sich bloß der Tetanusbacillus; aus den übrigen Organen wurden keine Kulturen angelegt.

Kaninchen X. 2. Juni 1905. Injektion in die V. jugularis von 1,5 ccm einer sporenhaltigen, für eine Stunde auf 75° C erhitzten Tetanuskultur.

21. Juni 1905. Man injiziert in das Gewebe der linken Niere 1 ccm einer 30-proz. Milchsäurelösung.

24. Juni 1905. Tetanus Symptome treten nicht auf und die nämlichen Zustände bleiben in den folgenden Tagen unverändert.

28. Juni 1905. Das Tier wird getötet. Am Niveau des Nierenhilus findet sich ein subperitoneales Hämatom, da bei der Injektion ein Hauptzweig der Art. renalis lädiert wurde. Die Niere sieht blaß und wegen Fettentartung gelblich aus; im Gewebe erkennt man bei der direkten Untersuchung im hängenden Tropfen keine Bacillen. Die Kulturen aus der operierten, sowie aus der gesunden Niere zeigen Entwicklung von Tetanusbacillen. Leber und Milz geben ebenfalls einen positiven Erfolg.

Unter 10 Kaninchen, die in ihren Organen Tetanus sporen im latenten Zustande bargen, gelang es also, bei 5 entweder Manifestationen von Tetanus Symptomen oder einen rasch zum Tode führenden Tetanus hervorzurufen (Versuche III, IV, V, VI, IX). In einem Fall (Versuch VII) wurde das Kaninchen am dritten Tage nach der Injektion von Milchsäure in die Niere im Käfig tot vorgefunden, ohne daß man ermitteln konnte, ob der Tod wirklich durch Tetanus eintrat; die Tatsache aber, daß man in der Niere keine Vegetationsformen des Bacillus feststellte, macht diese Vermutung von Tetanustod sehr zweifelhaft.

Die Tiere, bei denen man die Tetanusentwicklung erzeugen konnte, waren vor einer nicht allzu langen Zeit injiziert, und zwar in einem Minimum, nämlich von 7 Tagen (Kaninchen V), zu einem Maximum von 52 Tagen (Kaninchen II); ich hielt mich zwischen diesen Zeitgrenzen wegen der Ergebnisse der vorangehenden Versuchsreihe, welche zeigen, daß es nach mehr als 2 Monaten schwer ist, außerhalb des Leberparenchyms in einer gewissen Menge lebensfähige Sporen zu finden. Nun haben ja die vorliegenden Versuche (Versuche I u. II) die äußerste Schwierigkeit gezeigt, in diesem Organe dem Gedeihen der Tetanus sporen geeignete Bedingungen hervorzurufen, weshalb man sich zu einem anderen Organ, und zwar wesentlich der Niere, wenden mußte, für die andererseits dieselben Versuche der vorangehenden Reihe zeigen, wie kurz im allgemeinen der Aufenthalt der in den Kreislauf eingeführten Sporen ist. Uebrigens ist wohl mit Recht anzunehmen, daß, wie die erst seit wenig mehr oder minder als einen Monat in den Geweben befindlichen Latentsporen sich entwickeln und den Tetanus erzeugen konnten, in derselben Weise sich die seit einer noch längeren Zeit latenten Sporen verhalten könnten, da sie, wie ich zu wiederholten Malen feststellen konnte, äußerst toxische Kulturen zu geben vermögen. Bei den Versuchen IV und IX gab es ferner einige Umstände, auf Grund deren man sich mit Recht fragen konnte, ob, bei der großen Ausbreitung des Tetanus bacillus in der Natur, der entstandene Tetanus eventuell vielmehr die Folge einer sekundären Infektion darstellt, als der im geschädigten Organ vorher existierenden Sporen. Tatsächlich gab es am Kaninchen IV brandige Läsionen in einem Schenkel, die an einigen Stellen auch die Hautdecke der Extremität betrafen, und im Kaninchen IX fand man bei der Sektion Erscheinungen einer umschriebenen Peritonitis, bei denen man glauben konnte, daß, wie das *Bact. coli*, so auch der Tetanus bacillus zu den Nieren gelangt

war. Aehnliche Möglichkeiten sind gewiß gar nicht unwahrscheinlich, doch muß man zugeben, daß in unserem Fall derartige nicht als sehr wahrscheinlich, sowohl für das eine wie für das andere Kaninchen, anzunehmen ist. Denn hinsichtlich des Kaninchens IX ist es keine häufige Erscheinung, soweit ich weiß, daß in einer Peritonitis von Darmherkunft sich unter den Keimen der Tetanusbacillus findet, der sich außerdem gerade in der geschädigten Niere ansiedeln mußte. Das Kaninchen IV wurde immer im Käfig von dem Boden entfernt gehalten, von welchem nur eine sekundäre Infektion des mit außen kommunizierenden Brandherdes hätte entstehen können. Es scheint mir also, daß man ohne Zweifel für alle positiv ausgefallenen Fälle im allgemeinen annehmen darf, daß der Tetanus infolge von vegetativem Wiederaufwachen innerhalb des geschädigten und nekrotisch gemachten Organs seitens der in ihm präexistierenden und vor einiger Zeit in den Kreislauf eingeführten Sporen bedingt wurde.

Gehen wir nun zur Erwägung der Bedingungen über, unter denen die Gewebe der geschädigten Organe bei den Versuchen mit positivem, sowie mit negativem Ausfall vorgefunden wurden, so scheint mir deutlich sich daraus zu ergeben, daß das einfache Trauma an sich selbst, sowohl wie die direkte Einwirkung von chemischen Substanzen (Chinin, Milchsäure) auf die gesunden Gewebe im allgemeinen keinen hinlänglichen Faktor darstellen (unter Berücksichtigung aber der hier verwendeten Tierespecies, die gewiß nicht zu den bezüglich des Tetanus empfänglichsten gehört), um die geeigneten Bedingungen herbeizuführen, damit die Sporen gedeihen und zur Tetanusinfektion führen können. Ebenfalls haben sich für diesen Zweck nicht als ausreichend erwiesen Zustände auch enormer Stauung, sowie das (häufige) Zusammenwirken von schweren Traumaschädigungen mit der Wirkung von chemischen irritativen Substanzen. Die Analyse der positiv ausgefallenen Experimente zeigt hingegen, daß das Zustandekommen der Infektion infolge von Entwicklung der latenten Sporen nur dann möglich ist, wenn infolge der traumatischen oder irgend einer Ursache in den die Sporen beherbergenden Organen Nekroseerscheinungen auftreten. Alles das steht in vollkommenem Einklang mit dem, was eine eingehende Untersuchung der biologischen Eigenschaften des Tetanusbacillus uns gezeigt hat; diese Bacillen unterscheiden sich in nichts von allen anderen anaëroben Arten im allgemeinen, soweit es auf den Nährboden ankommt. Es ist ein wesentlich saprophytischer Keim, welcher tote Gewebe zu seinem Leben braucht, und dort, wo wahre eigentliche Nekrose der organischen Gewebe fehlt, da gibt es auch keine ausreichenden Bedingungen, damit seine Sporen sich entwickeln, seine Vegetationsformen leben und Toxin verarbeiten können, damit, mit anderen Worten, die Infektion entstehen kann. Dies erklärt sehr wohl, ohne die Hypothesen von eventuellen Abschwächungen des toxischen Vermögens zu Hilfe zu rufen, was übrigens meine Untersuchungen selbst unter den ungeeignetsten Lebensbedingungen, unter die man gelegentlich diese Keime versetzen kann, als eine wirklich kaum stattfindende Tatsache eindeutig zeigen, den Umstand, daß der Tetanus, trotz der großen Verbreitung seines Keimes in der Natur, doch eine verhältnismäßig seltene Erkrankung darstellt, da es wohl selten ist, daß die zu seiner Entwicklung geeigneten Bedingungen im Organismus auftreten können.

IV.

Es bleibt nun noch übrig, die Frage zu behandeln, bis zu welchem Punkt die Ergebnisse dieser Versuche zur Deutung der Erscheinungen dienen können, die die menschliche Pathologie in Bezug auf die Tetanusinfektion darbietet.

Zunächst scheint mir, daß sie uns gestatten, in einer deutlicheren und allgemeineren Weise und auf Grund von gut gesicherten biologischen Eigenschaften zu erklären, wie jene so oft ins Feld gebrachte und so verschiedenartig gedeutete begünstigende Wirkung aufzufassen ist; sie liegt im wesentlichen in dem Bestehen von nekrotischen Zuständen der Gewebe, die sich zur Keimvegetation eignen, welches auch die Ursache zu deren Zustandekommen sei.

Aus diesen Untersuchungen scheint mir ferner eine logische Erklärungsweise zu entspringen für jene nicht häufigen Tetanusfälle mit dunkler Pathogenese, bei denen die sorgfältigste Untersuchung nicht nur nicht den Inkubationsherd (welcher, wie gesagt, sehr wahrscheinlich in allen Fällen existiert, wenn er auch ganz klein sein kann), sondern nicht einmal die eventuelle Eingangspforte des Tetanusbacillus festzustellen vermag, die sogenannten Fälle von rheumatischem oder spontanem Tetanus nämlich. Denn die von mir nachgewiesene Erscheinung, daß Tetanussporen, die auf irgend einem Wege in den tierischen Organismus eindringen konnten, im Innern der tiefen Organe sich aufhalten und hier lange Zeit unter dem Zustande des latenten Lebens weiter leben können, um dann wieder aufwachend zu gedeihen und auf diese Weise zu einer Tetanusinfektion zu führen, wenn günstige Außenbedingungen hinzutreten, diese Erscheinung scheint mir eine vollkommen berechnete Erklärungsweise für solche Tetanusfälle zu bieten, in dem Sinne, daß es sich unter diesen Umständen eben um ein gelegentliches Wiederaufwachen (infolge des Eingreifens von geeigneten Ursachen) von Tetanussporen, die in der Tiefe der Organe und des Körpergewebes latent lebten, handelt.

Aus der Gesamtheit all meiner Untersuchungen scheinen wir also folgende Schlüsse logischerweise ziehen zu dürfen:

1) In den mit sporenhaltigen Tetanuskulturen subkutan infizierten Tieren können die Sporen sehr häufig in den Kreislauf übergehen und sich in vom Infektionsherd entfernten Organen lagern. Ihre Gegenwart in diesen Organen ist dann mittelst der Kulturen festzustellen, indem man Stücke der betreffenden Organe in agar- oder bouillonhaltigen Röhren zur Inkubation direkt in den Thermostaten setzt.

2) Diese einmal in den Organismus eingedrungenen und sich in den tiefen Organen aufhaltenden Sporen werden dann langsam entweder ausgeschieden oder vernichtet; doch vermögen sie (besonders in einigen Organen, wie der Leber) für eine sehr lange und unbestimmte Zeit — die in meinen Untersuchungen bis zu $3\frac{1}{2}$ Monaten nach der Injektion betrug — latent zu leben.

3) Treten geeignete Bedingungen hinzu, die wesentlich in Nekroseerscheinungen der sie beherbergenden Gewebe bestehen, dann können diese latenten Sporen wieder zum Vegetationsleben aufwachen und die Tetanusinfektion erzeugen.

4) Infolge dieser experimentellen Feststellungen scheint es mir logisch, anzunehmen, daß jene Tetanusfälle mit einer dunklen so vielfach erörterten Pathogenese, die manchmal beim Menschen auftreten und die unter dem

Namen von rheumatischem oder spontanem Tetanus bekannt sind, bei denen man weder den Inkubationsherd noch den unmittelbaren Eintrittsweg des Keimes finden kann, der Entwicklung von schon lange an einer verborgenen Stelle des Organismus latent lebenden Sporen, infolge von Hinzutritt der zu dieser Entwicklung geeigneten Bedingungen, zugeschrieben werden müssen.

Siena, Juni 1905.

Literatur.

- Vaillard et Vincent, Contrib. à l'étude du tetanus. (Ann. Inst. Pasteur. 1891.)
 Vaillard et Rouget, Contrib. à l'étude du tetanus. (Ann. Inst. Pasteur. 1892.)
 Sanchez-Toledo, Soc. de Biologie. 20. juin 1891. Semaine médic. 1891.
 Klipstein, Hygien. Rundschau. 1893.
 Roncali, Contrib. allo studio dell'infez. tetanica negli animali. (Rif. med. 1893.)
 Beck, Experim. Untersuchungen über den Tetanus. (Zeitschr. f. Hygiene. 1895.)
 Stern, Ueber zwei Fälle von Tetanus. (Deutsche med. Wochenschr. 1892.)
 Carbone e Perrero, R. Acc. Medica di Torino. 17. Maggio 1895.
 Steiner, Zur Frage des rheumatischen Tetanus etc. (Wien. klin. Wochenschr. 1897.)
 Thalmann, Zur Aetiologie des Tetanus. (Zeitschr. f. Hygiene. 1900.)
 Racine und Bruns, Zur Aetiologie des sog. rheumatisch. Tetanus. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 43.)
 Nicolayer, Ueber infektiösen Tetanus. (Deutsche med. Wochenschr. 1884. No. 52.)
 Schnitzler, Zur Kenntnis des Tetanus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIII. 1893.)
 Haegler, Ein Tetanusfall. (Beitr. z. klin. Chirurgie. Bd. V. 1889. No. 1.)
 Dor, Soc. de Biologie de Paris. 17. Mai 1890.
 Belfanti e Pescarolo, Centralbl. f. Bakt. Bd VI. 1889.
 Vanni e Giarrè, Riforma medica. 1887.
 Hochsinger, Centralbl. f. Bakt. Bd. II. No. 6—7.
 Hohlbeck, Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 10.
 Creite, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. 1904.
 Sanchez-Toledo et Vélion, Arch. de Med. experim. 1890.
 Vincent, Contrib. à l'étude du tétanus dit médical ou spontané. Influence de la chaleur. (Ann. Inst. Pasteur. 1904. No. 7.)
 — Tetanus et Quinine. (Ann. Inst. Pasteur. 1904. No. 12.)
 Sacaryan, St. Petersburger Dissertation. Wratsch. 1898. No. 30.
 Oettinger u. Zumpfen, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1899. p. 478.
 Tarozzi, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVIII. No. 5. Riforma medica. 1905. No. 6, 7, &
 Accademia dei Fisiocritici di Siena. Sedute del 28 Dicembre 1904; 25 marzo e 25 maggio 1905.

Nachdruck verboten.

Ueber einen pathogenen Keim der Iguana und interessante von ihm erzeugte Verletzungen (*Diplococcus iguanae* n. sp.).

[Hygienisches Institut der kgl. Universität Turin (Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

Von Privatdozent Dr. E. Bertarelli.

Mit 1 Tafel und 1 Figur.

Bei Fortsetzung einiger Studien über die Tuberkulose der Reptilien, deren einige bereits veröffentlicht worden sind ¹⁾, hatte ich Gelegenheit, bei den Reptilien der warmen Länder verschiedene interessante Krankheitserscheinungen wahrzunehmen.

Vor allem möchte ich da von einer besonderen, in einer *Iguana* vorgefundenen Krankheitsform sprechen, die von einem bis heute noch

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVII.

nicht beschriebenen Keime hervorgerufen worden ist, der aber infolge seiner morphologischen und kulturellen Eigenschaften und durch die von ihm erzeugten anatomisch-pathologischen Verletzungen ganz besonders ins Auge fällt.

Das Tier, bei dem ich erwähnte Verletzung vorfand, war eine *Iguana tuberculata*. Seit 2 Monaten wurde sie immer magerer, lag in ihrem Käfig zusammengekauert und verriet deutlich ihr Unwohlsein.

In den ersten Februartagen 1905 verendete das Tier. Laut Sektionsbefund waren die Lungen normal; die Leber dagegen war derart von weißlichen Knötchen bedeckt, daß diese manchmal eine Zone mehr oder weniger deutlich abgegrenzten pathologischen Gewebes inmitten des normalen Gewebes bildeten. Ueberdies bestanden nicht sehr dichte, fibröse Adhärenzen zwischen der Leber und dem parietalen Bauchfell. In den Bauchorganen beobachtete ich keine andere Verletzung, nur einige Ganglien waren bedeutend angeschwollen und weißlich.

Kulturen wurden auf allen Nährböden angefertigt, besonders aber auf den zur Züchtung der Tuberkelbacillen besser geeigneten, wobei die Kulturen bei 27, 30 und 37° verblieben. Dann wurden Ausstriche angefertigt, Stücke in Alkohol, Sublimat und Schaudinnischer Flüssigkeit erhärtet und einige Fragmente der verletzten Leber Meerschweinchen und Kaninchen inokuliert. Da es mir jedoch an gesunden Reptilien fehlte, mußte ich für den Augenblick auf die Inokulation auch dieser Tiere verzichten.

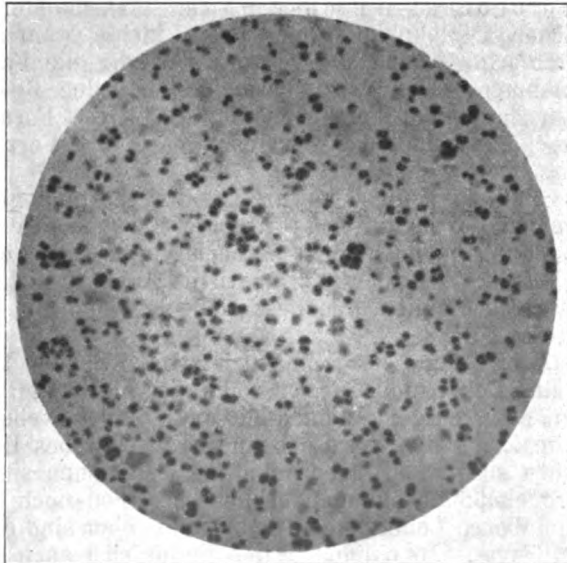
Das Züchtungsergebnis war äußerst interessant: Es wurde ein typischer Keim isoliert, der sich in den Verletzungen der Leber und der Ganglien in überaus großen Mengen vorfand, im Blut und in der Milz jedoch fehlte.

Bei den ersten Uebertragungen blieben die in Gelatine vorgenommenen Einsäungen steril, ebenfalls solche in Blutagar und Pfeifferschem Agar. Doch

bestand diese hämophile Eigenschaft bei den späteren Uebertragungen nicht fort.

Der isolierte Keim wuchs bei 30° gut, ziemlich gut, aber doch nicht so lebhaft, bei 27° und bei 37°. Man vergesse dabei nicht, daß die gewöhnliche Temperatur, in der die *Iguanæ* gehalten sind, 22–25° beträgt.

Die Kulturen boten nachstehende Charakteristik: In Blutagar bemerkt man schon nach 24 Stunden bei 37° und nach 40 Stunden bei 30° runde, hervorragende, durchsichtige Kolo-



Diplococcus Iguanæ (aus 7-tägiger Bouillonkultur: Involutionenformen). Vergrößerung ungefähr 2000 Diam.

nieren, die einen Durchmesser von 2—0,4 mm besitzen. Bei den ersten Uebertragungen zeigen sie wenig Neigung zum Zusammenfließen, nach weiteren Durchgängen erzeugen sie ziemlich glänzende, schleimige, zusammenhängende Patinen.

In Agar wächst der Keim nur mit Mühe und nur nach Isolierung auf Blutagar. Die Kolonien zeigen die Neigung, separat zu bleiben. Selten nur hat man eine durchsichtige, helle Patina, die, was eben diese Durchsichtigkeit anbetrifft, etwas an die Choleravibrionen erinnert, aber schleimiger ist.

In der Fleischbrühe wächst der Keim gut, weshalb auch kleine Krümeln entstehen, die sich auf den Wänden und am Boden des Röhrchens ansammeln und so die Fleischbrühe klar lassen.

Dieser Keim koaguliert ferner die Milch nicht und gibt auch kein Indol. Die Kulturen haben geringe Lebensfähigkeit, denn nach 5 bis 6 Stunden vermißt man auch in den Fleischbrüh- und Blutagarkulturen jedes Leben. Nach 6-monatiger Züchtung ist jedes Leben des Keimes vollständig erloschen.

Die morphologische Prüfung der isolierten Kulturen und nachfolgenden Uebertragungen tut dar, daß der in Frage stehende Keim ein Coccus ist, der sich nicht nach Gram färbt, leicht färbbar, aber nicht säureresistent ist, und eine typische Form besitzt. In den ersten Kulturen erscheint er in Form eines Diplococcus, und erinnert ziemlich stark an den Gonococcus, nur mit dem kleinen Unterschiede, daß die einzelnen Kokken des in Untersuchung stehenden Keims etwas weniger länglich sind, als beim Gonococcus.

Bei den nachfolgenden Uebertragungen nimmt der Keim zuweilen an Umfang zu, und man beobachtet da leicht Tetralformen, einige sehr klein, dagegen andere wieder sehr groß. Ferner ist es auch nicht schwierig, zuweilen leichter färbare und größere Formen zu beobachten, so daß man auf einigen Feldern Bilder wahrnimmt, die denen des Diplococcus Weichselbaum stark ähneln, wo man neben umfangreichen Diplokokkenformen auch kleine wahrnimmt und neben stark durchfärbten auch andere vorfindet, die die Farbe viel weniger leicht annehmen. Dies wird besonders bei den 6—7 Tage alten Kulturen wahrgenommen, bei denen die involutiven Formen so zahlreich und so verschieden sind, daß der Gedanke an eine Verunreinigung der Kulturen näher tritt.

Faßt man diese kulturellen und morphologischen Eigenschaften zusammen, so kommt man unschwer zu der Ueberzeugung, daß es sich hier um eine noch nicht beschriebene Diplococcus-Form handelt.

Es sei hier daran erinnert, daß die Ausstriche der verletzten Leber und der Ganglien den beschriebenen Keim in außergewöhnlicher Fülle aufweisen.

Der Befund der Schnitte ist von höchstem Interesse. Die Kolonien in der Leber und in der Nähe der Verletzungen sind stark infiltriert von kleinzelligen Elementen und Bindegewebsbüscheln, hinter denen weite Zonen in Nekrose befindlichen Gewebes liegen, die mit den Kernfarben schwer zu färben sind. Diese Zonen sind, wie gesagt, weit und unregelmäßig, und man erblickt in ihnen noch die zwar schlecht unterscheidbaren Leberelemente; zuweilen aber sind die Zonen in vollständiger Auflösung. In einigen Teilen findet sich auch eine Bindegewebswucherung vor, die sich büschelweise in die noch unverletzte Leberzone hineinschiebt und so das Aussehen des betreffenden Leberstücks vollauf ändert.

An der Peripherie der in Nekrose befindlichen Zonen erkennt man zahlreiche Riesenzellen, die an ihrer Peripherie eine große Anzahl Kerne führen und bald länglich, bald unregelmäßig geformt sind. Einige derselben sind von außergewöhnlicher Größe, andere erreichen kaum 30μ . Auch die Anzahl der Kerne ist sehr verschieden und schwankt zwischen 40 und 50. Die Zellen erinnern lebhaft an die tuberkulösen Riesenzellen der Reptilien, und viele gleichen auch den Riesenzellen, die bei der Tuberkulose der Säugetiere angetroffen werden.

In den mit Methylenblaucosin gefärbten Schnitten kann man inmitten der in Nekrose befindlichen Zellen und zuweilen auch in dem peripherischen Teile von Methylenblau und Thionin stark durchfärbte Anhäufungen wahrnehmen. In sehr dünnen Schnitten ($3-4 \mu$) gelingt es auch, deutlich zu beobachten, daß diese Anhäufungen aus zooglybischen Kokkengruppen bestehen, die eine Form besitzen, die der eigentümlichen Form der in Reinkultur isolierten Kokken entspricht.

Diese Mikrokokken finden sich nun nicht nur in zooglybischen Anhäufungen an der Peripherie und im Zentrum der in Nekrose befindlichen Strecken, sondern auch in kleineren Gruppen in der Nähe der Riesenzellen, bei den Leukocyten, die hier und da das Gewebe durchsetzen, und ziemlich häufig auch im Inneren desselben.

Es bleibt nun noch die Frage zu erledigen, ob die angetroffenen Verletzungen (hyperplastische Cirrhose, Nekrose des Lebergewebes mit solcher Beschränkung der Riesenzellen, daß dadurch eine tuberkulöse Verletzung vorgetäuscht wurde) von dem beobachteten Coccus hervorgerufen worden sind, oder ob seine Gegenwart nur einen sekundären Vorgang bei einem vorher schon vorhandenen tuberkulösen Prozeß darstellt.

Ein tuberkulöser Prozeß kann nun aber mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, und zwar nicht nur, weil die in verschiedenen Temperaturen gehaltenen und teilweise auch wochenlang im Brütöfen belassenen Kulturen keine Kolonien entwickelten, die irgendwie an die Tuberkelkolonien erinnerten, sondern auch, weil weder die mit dem Gewebe inokulierten Tiere Anzeichen von Tuberkulose darboten, noch in den Schnitten und den Ausstrichen säureresistente Keime nachzuweisen waren. Wir befanden uns also pseudotuberkulösen Verletzungen gegenüber, die wahrscheinlich von einem ganz typische Züchtungsmerkmale und morphologische Kennzeichen aufweisenden *Diplococcus* herrührten.

Trotz alledem konnte aber nicht ohne weiteres ausgeschlossen werden, daß die Verletzung primitiv tuberkulös war, und daß die spezifischen Keime vollständig verschwunden waren, während die typischen, bereits beschriebenen Kokken in dem verletzten Gewebe an Anzahl zugenommen hatten. Der morphologische Befund ergab nun tatsächlich, daß sich die Kokken nach der Peripherie der nekrobiotischen Herde zu vermehrten; es ließ sich also wohl denken, daß der Krankheitsprozeß in Tätigkeit war. Dabei konnte aber dann die vorstehende Annahme immer noch nicht ausgeschlossen werden.

Die auch mit den Kulturen des isolierten Keims an Laboratoriumstieren angestellten Proben blieben ergebnislos, ebenso die Inneste in die Lymphsäcke der Frösche.

Ich inokulierte außerdem auch einige ins Peritoneum, jedoch ohne Erfolg. Nur 2 der so inokulierten Tiere erlagen, wahrscheinlich infolge Vergiftung. Der mikroskopische Befund sprach jedoch nicht zu Gunsten spezifischer Verletzungen der Unterleibsorgane.

Im April 1905 konnte ich, dank dem freundlichen Entgegenkommen des Herrn Grafen Prof. Peracca, einer tuberkulösen *Iguana* subkutan 0,1 ccm einer aus frischer Blutagar-Kulturpatine hergestellten Kokkenemulsion inokulieren. Das Tier wies dabei während der zwei auf die Inokulation folgenden Wochen keine bemerkenswerten Symptome auf. Später aber begann es abzumagern, wies die Nahrung zurück und verendete in den letzten Tagen des Mai.

Bei der Autopsie ergaben sich folgende Verletzungen: Nekrose der Leber in schlecht abgegrenzten Herden, Verdickung der Ganglien der Bauchhöhle, Gegenwart deutlich sichtbarer Knötchen, die sich auf eine Entfernung von 4 cm rings um den Impfungspunkt herum vorfanden. Die Milz und die anderen Organe waren normal. Die Kulturen aus allen Organen und dem Blute waren negativ. Nur aus den Ganglien, aus den subkutanen Knötchen und der Leber ließ sich der schon beschriebene Coccus in Reinkultur isolieren.

Die mikroskopische Prüfung ergab das Vorhandensein nekrotischer Herde in der Leber mit leichter kleinzelliger Infiltration und spärlichen Keimen. Das Unterhautgewebe war dagegen außerordentlich infiltriert, während das Bindegewebe hier und da nekrotische Zonen aufwies. Die mit Thionin oder Methylenblau gefärbten Präparate zeigten eine ungeheure Kokkeninvasion im Gewebe.

Diese Kokken bildeten wahre Inseln um die infiltrierten Zonen herum und füllten die Leukocyten, die das Bindegewebe infiltrierten, buchstäblich aus. Auch zwischen Elementen und Elementen traten die kaffeebohnenförmigen Diplokokken, die dem Präparate ein typisches Aussehen verliehen, deutlich zu Tage. In den Ganglien dagegen fanden sich diese Diplokokken nur sehr spärlich vor.

Nirgends konnte ich Riesenzellen beobachten, wie ich denn überhaupt in den verletzten Geweben keine andere Keimart vorgefunden habe.

Wenngleich sich nun auch bei dieser *Iguana* die typische nekrotische Läsion der Leber mit durch Riesenzellen abgegrenzten Herden nicht dargetan hat, so steht doch außer Zweifel, daß der aus diesem Tiere abgesonderte Keim auf dasselbe stark pathogen einwirkte und sich in dem Körper dieses Reptils außergewöhnlich vermehrte. Ueberdies ist es mehr als wahrscheinlich, daß angesichts der Abwesenheit jedes anderen Keims, der Lokalisation sowie der großen Anzahl der in den spontan infizierten *Iguanæ* vorhandenen Keime dieser *Diplococcus* für den Urheber der Verletzungen gehalten werden muß.

Betrachtet man ihn unter dem Gesichtspunkte der Systematik, so nähert er sich seinen morphologischen Merkmalen zufolge in Anbetracht seiner involutiven Formen und seines Verhaltens gegenüber den verschiedenen Farben dem *Meningococcus Weichselbaum*, und kann so seinen Platz zwischen diesem Keim und dem *Gonococcus Neisser* nehmen und also als *Diplococcus Iguanæ* in das System eintreten.

Seine spezifischen Kennzeichen wären somit: Unmöglichkeit, nach Gram gefärbt zu werden, die Häufigkeit involutiver Formen, die Zuchtschwierigkeit, ziemlich stark hervortretende, aber nicht absolute Hämophilie, die geringe Lebensfähigkeit der Kulturen, sowie die anderen bereits erwähnten, nur weniger wichtigen Kulturmerkmale. Typisch erscheinen: Die pathogene Kraft des Keims besagtem Reptil gegenüber, der marantische Verlauf der in diesem Tiere erzeugten Krankheit, die

Fig. 1.

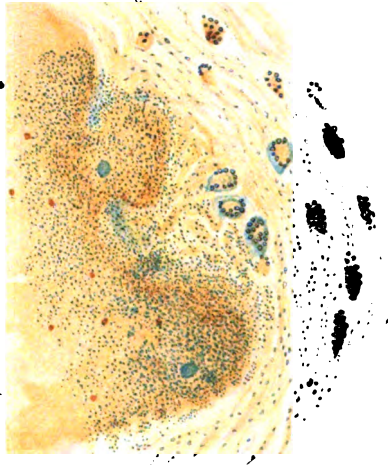


Fig. 2.

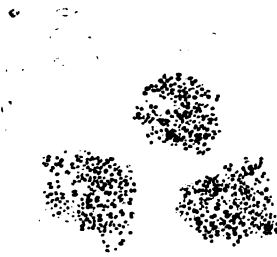
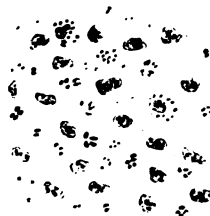
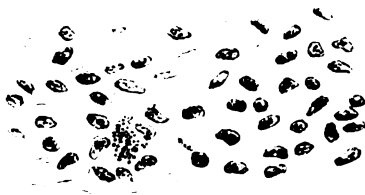


Fig. 3.



von dem Keime bewirkten Verletzungen, die auf den ersten Blick an einen Tuberkuloseprozeß denken lassen.

Die Existenz dieses Keims und vielleicht anderer Keime darf nicht außer Acht gelassen werden, sobald knötchenartige Verletzungen angetroffen werden, die den gewöhnlichen tuberkulösen Verletzungen der Reptilien ähnlich sind.

Eine Prüfung der Kulturen sowie eine aufmerksame morphologische Untersuchung, die das Studium und die Erkennung der in den verletzten Geweben vorhandenen Keime ins Auge faßt, wird auf jeden Fall einen Irrtum bei Abgabe der ätiologischen Diagnose auszuschließen vermögen.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Nekroseherd in der Leber. Um die Nekrosegegend herum sieht man kleinzellige Infiltration und einige Riesenzellen. In der nekrotischen Zone bemerkt man 2 schwach violett gefärbte Häufchen, die Kokken entsprechen. Hämatoxylin-Orange. Koristka, Obj. 3, Ok. 4.

Fig. 2. Kokkenanhäufungen an der Peripherie der Nekrosezonen. Methyleneblau-Orange. Koristka $\frac{1}{15}$ semiapochrom., Obj. 8 comp.

Fig. 3. Im Unterhautgewebe entwickelte Kokken einer künstlich inokulierten *Iguana*. Koristka $\frac{1}{16}$, Ok. 8 comp.

Nachdruck verboten.

Ueber die Entwicklungsweise der Parasiten beim Krebs und Sarkom des Menschen, sowie bei Syphilis, und über ihre verschiedene Einwirkung auf die Zellen.

Kurze Notiz.

Von Prof. Dr. Max Schüller, Berlin.

Da bis zur Abschließung und Fertigstellung meiner Untersuchungen immerhin noch einige Zeit vergehen wird, so möchte ich einstweilen, vorbehaltlich genauerer Angaben, nur ganz kurz über weitere wichtige Ergebnisse derselben berichten. Nach meinen Studien an meinen Kulturen, wie an den gefärbten Schnittpräparaten von Organen der mit den Kulturen infizierten Tiere, sowie auch zum Teil an Präparaten vom Menschen ist mir es fraglos geworden, daß bei den von mir gefundenen protozoischen Parasiten sowohl beim Krebs und Sarkom des Menschen, wie bei Syphilis neben der Teilungsvermehrung eine geschlechtliche Fortpflanzung statthat. Daß diese Parasiten zu den Protozoen gehören, hat sich schon aus den Einzelheiten meiner bisherigen Mitteilungen ergeben, auf welche ich in dem literarischen Verzeichnisse am Schlusse dieser Arbeit verweise. Daß sie unter den Protozoen zu der Klasse der Sporozoen gehören müssen, dürfte ebenfalls schon aus meinen seit 6 Jahren in vielfältigster Weise erbrachten Beobachtungen geschlossen werden können. Nicht nur aus dem histologischen Nachweise gefüllter Sporen und leerer Sporenhüllen besonders in den Oberflächenpartieen mancher Carcinome, sowie in der Haut und Schleimhaut über darunter liegenden Sarkomen, welche, nachdem sie vorübergehend zu Irrtümern und Zweifeln veranlassen konnten, doch schon längst auch von anderen bestätigt worden sind. Auch bei Syphilis mußte der von mir 1900 zuerst gelieferte Nachweis von mit Sporen

gefüllten Gängen in primären Schankern, ebenso wie der von mir oft wiederholte Befund von Sporen und leeren Sporenhüllen im steril punktierten Inhalte notoriously syphilitisch erkrankter Gelenke (!), sowie in tertiären Gummiknoten und in zahlreichen Herdaffektionen hereditär-syphilitischer Kinder während des Verlaufs der letzten 6 Jahre, zur Ueberzeugung führen, daß die Parasiten zu den Sporozoen gehören¹⁾. Ferner haben aber besonders die Kulturen gewissermaßen anschaulich gelehrt, daß diese Sporenformen einen wesentlichen integrierenden Teil in der Entwicklung der Parasiten darstellen. Ich konnte durch sterile Autolyse von lebenswarm eingeschlossenen carcinomatösen und sarkomatösen Gewebstücken wie von primären Schankern und Gummiknoten diese Sporen als sich bewegende, Kontraktionen, Gestalt- und Ortveränderungen zeigende Gebilde beobachten, konnte aus ihnen andere Entwicklungsformen entstehen sehen, während die zelligen Elemente des Gewebes längst zu Grunde gegangen waren. Diese Tatsachen habe ich im Verlaufe der Jahre so oft feststellen können, daß ich jeden Einwand etwaiger Täuschung als absolut ausgeschlossen ansehen muß. Gelegentlich ausgesprochene Vermutungen, daß dieselben „Zelldegenerationen oder Artefakte“ seien, gründen sich nicht auf tatsächliche Beobachtungen, sind unbewiesen geblieben und durch meine und Anderer vielfältige Prüfungen widerlegt. Auf die Auffassungen Anderer in Betreff speziell der Syphilis werde ich unten zurückkommen. Hier genügt es hervorzuheben, daß sowohl bei Carcinom und Sarkom wie bei Syphilis die wirksamen Parasiten zu den Sporozoen gehören.

Die Schizogonie und Sporogonie ähnelt bei beiden in mancher Hinsicht der Aufeinanderfolge der Entwicklungsformen (ja auch zum Teil diesen selber) der Malariaplasmodien, nur mit den wichtigen Unterschieden, daß nicht wie bei den letzteren mit dem Generationswechsel auch ein Wirtswechsel verbunden ist, daß bei beiden große und kleine Sporen mit deutlich nachweisbaren, zum Teil mit ziemlich derben, Hüllen regelmäßig vorkommen, und daß die Entwicklung der Parasiten beim Menschen nicht wie beim Malariaplasmodium im Blutkörperchen erfolgt, sondern, wie es scheint, ausschließlich in den Geweben, wesentlich im Zellprotoplasma und in den Kernen der Zellen statthat. Ich habe für die Bezeichnung der einzelnen Phasen der Entwicklung die von F. Schaudinn in seinen bekannten „Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien“ (Zoolog. Jahrb. Bd. XIII. Heft 2 p. 197—292) eingeführte Nomenklatur adoptiert.

Beginnen wir mit den Parasiten bei Krebs und Sarkom des Menschen, welche mit geringen Ausnahmen im wesentlichen wohl als gleich angesehen werden können. Der Sporozoit hat etwa die Form eines Lanzenendes, oder einer Lancette, mit bauchigen Seitenteilen, mit einem mehr spitz ausgezogenen Ende und mit einem gegenüberliegenden weniger spitzen, mehr breiten Teile. Diese Lancettform kann in eine mehr länglich viereckige Form mit abgerundeten Ecken, oder unter Verbreiterung in eine eiähnliche Form übergehen. Ein Kern im eigentlichen Sinne fehlt. Dagegen ist als Ersatz in den mehr zugespitzten Partien oder Polen je eine stark gefärbte Chromatinanschwellung (Polar-korn) zu bemerken. Außerdem findet sich auch zuweilen an den bogigen

1) Bekanntlich fanden auch Jesionek und Kiolemenoglou 1904 große Sporenformen in den Organen eines hereditär-luetischen Fötus.

resp. seitlichen Linien eine flache Anschwellung. In Kulturen befindet sich an dem einen Ende ein mehr durchsichtiges Anhängsel, welches sich bei älteren Kulturen auf etwa $1,75 \mu$ verkürzt. Lebend sind diese Körperchen, welche ich erst spät als Sporoziten erkannte, lebhaft beweglich. Nach gefärbten Präparaten von Kulturen gemessen, ist der Längsdurchmesser der Sporoziten $1,5-2 \mu$, die Breite kann bis zu 1μ gehen. Die Chromatinzeichnung tritt stets mit Kernfärbungen in Erscheinung, während das Innere hell oder in Protoplasmafärbung erscheint. Der Sporozit dringt in die Zelle resp. in den Kern einer Gewebszelle ein, erfährt hier zunächst eine Abrundung der Form und auch eine Vergrößerung. Durch Auftreten neuer Fäden von den ursprünglichen Chromatinanschwellungen aus (mehrfache Teilung?) entsteht ein Schizont mit Protoplasma und mit einem mehr oder weniger starken, von einem Fadennetz mit Chromatinanschwellungen durchsetzten Kern. Kern und Protoplasma der Parasiten können nun weiterhin mehrfache, stets auf vielfältige Teilung hinzielende Umwandlungen erfahren. Entweder er zerfällt nach morulaartiger Umschnürung in anfänglich dicht beieinander liegende, dann etwas voneinander gerückte Sprößlinge, an deren jedem Protoplasma und als Chromatinzeichnung ein feiner Ring mit 2 oder 3 Chromatinanschwellungen an Stelle des Kerns zu unterscheiden ist. Oder es kommt gleichfalls nach Morulabildung zu rosettenförmig angeordneten birn- oder keulenförmigen Körperchen, welche in dem breiten Teile bei entsprechenden Färbungen wieder einen Ring mit 2 oder 3 Chromatinanschwellungen zeigen. Sie können in der Zahl von wenigen kräftigen Exemplaren von der ursprünglichen Parasitenzelle aufstreiben, aber auch häufig in kaum zählbarer Menge förmliche Bündel dünner keulenförmiger Gebilde darstellen. Davon sich ablösend, werden sie stärker, frei und dringen als Merozoiten ihrerseits in die Zellen ein. Oder es entstehen dieselben nach vorheriger Kernumwandlung der Parasitenzelle in sehr verschiedenartige regelmäßige und höchst unregelmäßige Mitosenformen, von welchen aus anscheinend ebenfalls die kleinen Chromosome sich als Einzelelemente resp. junge Parasiten (Merozoiten) freimachen können; daneben läuft die aus der Mitose hervorgehende Zwei- und Mehrteilung des Kernes und der ganzen Parasitenzelle. Hier können nun augenscheinlich auch Dauercysten, welche ich früher große Kapseln (Körnchen-, Brutkapseln etc.) nannte, entstehen, indem sich die äußere Hülle um die bei der direkten Teilung gebildeten rundlichen oder ovalen Sprößlinge oder um kleinere, Sprößlinge enthaltende Sporenformen (früher von mir als „junge Organismen“ bezeichnet), verdickt. Diese Dauercysten finden sich in verschiedener Größe und Entwicklung, sowie auch leer, besonders vielfach an den „Eingangspforten“ der Carcinome und Sarkome, aber auch im Inneren der Gewebe beider Geschwulstarten. Ich habe sie auch später noch eingehend nach ihren Formen, verschiedenen Lebensäußerungen und verschiedenen Entwicklungsstadien etc. in Kulturen studiert, wie das von mir schon in meinem 1901 erschienenen Buche „Die Parasiten im Krebs und Sarkom des Menschen“ (mit 3 Tafeln und 64 Abbildungen im Texte, Jena, G. Fischer) geschildert worden ist. Ich habe das Austreten der Sprößlinge aus kleinen Sporenformen, sowie auch einzelne weitere Phasen der Entwicklung mancher der im folgenden zu schildernden Erscheinungen direkt beobachten können. In Epithelperlen bergen die Zellen oft Cystenformen der Parasiten.

Von den Merozoiten aus kommt es nun auch zu Makrogametoblasten und zu Mikrogametoblasten. Die Formen derselben kann ich freilich momentan noch nicht scharf von anderen charakterisieren. Ich muß sie aber voraussetzen, da ich weitere Stadien der geschlechtlichen Entwicklung der Parasiten vorgefunden habe. Als Makrogameten glaube ich große rundliche feinkörnige Massen mit anfänglich diffus verstreuten Chromatinkörnchen, später mit kleinen gefärbten kugeligen Körperchen in einer zarten Hülle ansprechen zu sollen. Als Mikrogametocyten runde Parasitenformen mit einzelnen kleinen Gruppen streifig angeordneten Chromatins (gelockerter Fädchen) in einer feinkörnigen Masse. Weiterhin kommen Mikrogametocyten mit ausgebildeten Mikrogameten oder Geißelkörperchen. Solche Mikrogametocyten mit innen liegenden und austretenden Geißelkörperchen (Mikrogameten) habe ich sehr häufig, sowohl in Kulturen von Carcinom und Sarkom, wie in meinen Tierpräparaten, wie auch in Schnittpräparaten verschiedener Carcinome und Sarkome vom Menschen gesehen und abgebildet. Bei Färbungen, über welche, wie über die Details der Parasitenentwicklung, ich in einer größeren Publikation genauer berichten werde, erscheinen die Mikrogametocyten immer etwas anders gefärbt als die anderen gleich großen Parasitenformen, meist heller. Während z. B. bei Kulturpräparaten mit Indogokarmin die Sporenformen dunkelblau erscheinen, sind die Mikrogametocyten hellblau violett und haben die darin liegenden und austretenden Mikrogametocyten einen dunkelblauen feinen knopf- oder birnenförmigen Kopfteil und einen hellblaugrau gefärbten Geißelfaden. Während mit Thionin die Sporenformen rötlichviolett bis fast schwarzviolett gefärbt sind, erscheinen die Mikrogametoblasten hell grauviolett mit innen liegenden schwarzvioletten Chromatinstreifen, die Mikrogametocyten blaßrötlich oder grauviolett, die Mikrogameten mit dunkelblauem oder dunkelviolettem fast schwarzem Kopfteile. Nach J. H. Wrights Modifikation der Romanowsky-Färbung sind die Mikrogametocyten blaßrosa, der Kopf der Mikrogameten dunkelblau, sogar bei der einfachen Hämatoxylinfärbung erscheinen die Mikrogametocyten meist rötlich, die Köpfchen der innenliegenden und austretenden Geißelkörperchen oder Mikrogameten dunkelblau bis schwarz, während der Inhalt der vollen Sporen (der Teilungsform) gewöhnlich dunkelblauschwarz gefärbt erscheint.

In den meist mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitten meiner Tierpräparate stellen sich die Mikrogametocyten als meist scharf begrenzte runde hellrötliche oder rote oder rötlichgraue Kugeln dar, in welchen die Mikrogameten teils sich durchkreuzend, teils in Bogenformen oder fast konzentrisch geordnet gefunden werden. Die Köpfchen derselben sind entweder diffus dunkelblau oder rötlichblau gefärbt, oder sie lassen deutlich die Chromatinzeichnung in Blau erkennen, die ich gleich näher nach den freien Geißelkörperchen in Kulturen schildern werde. Die Geißeln sind viel blässer, oft rötlich. Die Größe der Mikrogametocyten habe ich noch nicht gemessen. Ich werde die genauen Maße aber später mitteilen und bemerke nur, daß sie bei tausendfacher Vergrößerung (mit Zeisschen Instrumenten) etwa um die Hälfte größer erscheinen, als die auf Tafel III, Figur 94 des Handb. d. Pathog. Mikroorganismen von Kollé und Wassermann abgebildeten Mikrogametocyten des Tropenfielerparasiten, aber auch ebenso groß. Die Mikrogameten in den Mikrogametocyten sind regelmäßig zierlicher als die frei in den Kulturen beobachteten.

Letztere sind mir sehr früh schon vor Jahren, aufgefallen. Ich habe ihrer auch schon gelegentlich in meinen letzten Publikationen Erwähnung getan. Ich nannte sie Geißelkörperchen nach ihrer Form und ihrer außerordentlich lebhaften und höchst charakteristischen Beweglichkeit. Ich war mir aber anfänglich ebensowenig wie die verschiedenen Forscher, denen ich sie zu zeigen Gelegenheit hatte, über ihre eigentliche Bedeutung klar, wenn ich auch von vornherein vermutete, daß sie als kleinste spermatozoenähnliche Körperchen möglicherweise die das männliche Geschlechtsprodukt dieser Parasiten darstellenden Mikrogameten sein könnten. Die Geißelkörperchen traten regelmäßig sozusagen als Schlußakt meiner Kulturen ein, nachdem monatelang die größeren Cystenformen und die kleineren Sporenformen mit zahlreichen beweglichen und kontraktiven Sprößlingen und Merozoiten vorausgegangen waren. Sie traten nach der angegebenen Periode zu verschiedener Zeit besonders massenhaft bei sämtlichen Sarkomkulturen (ebenso bei solchen der Haut, der Zunge, des Zahnfleisches, wie bei denen der Muskeln, der Knochen etc.), aber auch bei den Carcinomkulturen (Portio-, Mamma-, Drüsen- und anderen Krebsen) auf; niemals habe ich sie gleich beim ersten Beginn der Kulturen zwischen den Cysten- und Sporenformen bemerkt. Ich glaube nicht, daß sie, wenn sie da einmal wirklich schon vorhanden waren, mir entgangen wären, da ihre Formen wie ihre Bewegungen und Lebensäußerungen höchst auffällig sind und nicht gut übersehen werden können. An den Geißelkörperchen kann unterschieden werden ein rundes oder länglich-ovales oder schmal birnförmiges Köpfchen und ein längerer, am Lebenden wellen- und peitschenschnurartig lebhaft beweglicher Geißelfaden. In gefärbten Deckglaspräparaten tritt die Form des Köpfchens sehr scharf hervor, indem der Rand mit feiner oder dicker Linie gezeichnet ist, während das Innere hell ist. Bei den ovalen oder birnförmigen Köpfchen beträgt die Länge bis zu $1,25 \mu$, die Breite bis zu etwa $0,75 \mu$. Doch gehen bei beiden und noch mehr bei dem runden Köpfchen die Größenverhältnisse wesentlich weiter nach abwärts, bis unter $0,5 \mu$. Die Länge der Geißel kann $8-10-14 \mu$ betragen. In länger aufgehobenen alten Kulturen ist sie vielfach kürzer. Je nach der angewandten Färbung erscheint die Geißel fadenförmig dünn, nur am Kopfansatz etwas breiter, oft auch mit kleinen intermediären Anschwellungen, oder (wie z. B. bei Hämatoxylinfärbung) breiter mit deutlich doppeltem Kontur, stets aber ganz licht, blaß, noch heller als der hellen Mitte des Köpfchens gefärbt. In dem Kopfteil der größeren Geißelkörperchen kann man bei bestimmten Färbungen am Randsaume oft auch flachere gefärbte Verdickungen, zumal oben oder seitlich, oft auch eine etwas kompaktere Chromatinanhäufung an der Stelle bemerken, an welcher sich die Geißel ansetzt. Bei manchen Färbungen, wie z. B. mit Fuchsin, ist aber das Köpfchen, zumal die kleineren, sowie meist die der Geißelkörperchen innerhalb der Mikrogametocyten, regelmäßig diffus gefärbt. Bei einigen Färbungen differiert die Färbung der Geißelkörperchen in Kulturen von Carcinomen und Sarkomen ein wenig in der Nuancierung. Ich verweise betreffs der Färbungen auf meine in Bearbeitung befindliche Schrift über den Nachweis der Parasiten, wo Genaueres mitgeteilt werden wird. Dort finden sich auch zusammengestellt die Gründe für die notwendige Vorbehandlung der Präparate, besonders die Härtung in Alkohol (nicht in Formalin), der Einbettung in Celloidin (nicht in Paraffin) und andere Angaben über Nachweis, mikrochemische Reaktion und Färbung der Parasiten in Kul-

turen, Schnitten, Deckglaspräparaten etc. Deren Beachtung ist um so mehr zu wünschen, als vielfach die wunderbarsten resp. durchaus irrigen Vorstellungen über das Aussehen, die Formen und die Darstellung der Parasiten verbreitet sind, und weil häufig von solchen Untersuchern Urteile abgegeben werden über vorgebliche Parasiten und über fälschliche Auffassungen normaler Gewebselemente als Parasiten etc., welche schon wegen der unzweckmäßigen Behandlungsweise ihrer Präparate ganz außer stande sind, über das Vorhandensein und Aussehen der Parasiten zu urteilen. Die mikroskopische Untersuchung gut vorbereiteter Präparate muß in der Regel mit Immersion bis zu 1000-facher Vergrößerung und darüber bei bester Beleuchtung erfolgen.

Während die Mikrogametocyten in meinen Tierpräparaten teils in vorhandenen Räumen, wie z. B. in den Harnkanälchen, teils innerhalb der aus körnigen Zerfallsmassen und Parasiten in verschiedenen Entwicklungsstadien bestehenden „Parasitengänge“ und Räume mitten im Gewebe, in den Geschwülsten vom Menschen aber, soviel ich bis jetzt sehen konnte, teils ebenso in solchen Stellen, teils mitten in Kernen (!) resp. an Stelle derselben gefunden werden, habe ich die Mikrogameten resp. die Geißelkörperchen innerhalb der Gewebe auch vielfach frei beobachtet. Und zwar kommen sie bei Tierpräparaten in herdweisen Anhäufungen in der Lunge, in der Leber, im Darm, in der Niere etc. vor. Sie liegen oft in Räumen, welche erweiterte Lymphgefäße zu sein scheinen, so besonders in den Lungen, aber auch in den Blutgefäßquerschnitten (!), so besonders in der Niere eines von der Niere aus infizierten Tieres. Im Carcinom- und Sarkomgewebe traf ich sie teils einzeln innerhalb der Zellen und Kerne, bei einem Hautsarkom und einem Zungencarcinom auch dicht unterhalb der Invasionsstelle in Gewebsräumen, aber auch bei anderen Carcinomen und Sarkomen mitten im Gewebe. Die Stellen fallen oft schon bei schwacher Vergrößerung durch ihre Helligkeit und kleine Streifen innerhalb derselben auf, natürlich nur bei entsprechender Vorbehandlung der Präparate. Aber ich fand sie auch hier nicht selten in kleinen Gefäßquerschnitten. Ich bemerke noch, daß ich Geißelkörperchen wiederholt neben Sporenformen verschiedener Größe und Entwicklung in der zentrifugierten Spülflüssigkeit bei Magencarcinom fand, zuweilen auch noch färben konnte. Ich besitze noch ein derartiges Präparat von einem Oesophaguscarcinom. Nach meinen hier nur kurz und vorläufig mitgeteilten Fundorten der Geißelkörperchen resp. Mikrogameten vermute ich, daß dieselben auch der Befruchtung der Makrogameten, des weiblichen Elements der Parasiten, in entfernteren Organen dienen werden, somit nicht nur von wesentlicher Bedeutung für die metastatische Ausbreitung von Carcinomen und Sarkomen in anderen Organen sein können, sondern daß es wahrscheinlich auch am lebenden Krebs- oder Sarkomkranken möglich sein wird, diese Geißelkörperchen (die Mikrogameten) zeitweilig im (regionären?) Blute nachzuweisen. Am sichersten würde es sein, sie im unveränderten oder in dem unter Erwärmung zentrifugierten Blute im „hängenden Tropfen“ aufzusuchen. Sie lassen sich hier, wie ich von anderen Fällen weiß, sehr gut auffinden, oft leichter, wie an gefärbten Blutpräparaten, und lebend beobachten!

Den Akt der Befruchtung der Makrogameten durch die Mikrogameten, das Eindringen der letzteren in jene habe ich am lebenden Präparate im hängenden Tropfen gesehen und studiert, aber leider nicht fixiert.

Ebenso fehlen mir noch genaue Bilder von den Zwischenstadien bis zur Sporoblastenbildung in den Sporocysten. In größeren Sporencysten liegen kleinere meist kugelförmige sekundäre Cystchen und in jedem dieser kleine Sporozoiten, welche sich im weiteren vergrößern und nach Platzen der Hüllen frei heraustreten. Die freien Sporozoiten habe ich oben geschildert. Sie sind lebhaft beweglich, und kommen in den Kulturen häufig zugleich neben den Geißelkörperchen vor. In den Geweben können die Sporocysten augenscheinlich auch, von stärkerer Hülle umgeben, als Dauercysten an den Invasionsstellen vorkommen; kleinere trifft man teils in den Zellen und speziell in den Kernen, wie auch kleinere und größere zwischen den Zellen und in den Herden körnigen Zerfalls an. Die freien Sporozoiten selber ebenso wie die Merozoiten kann man vielfach in den Teilungszellen und Kernen wie auch innerhalb der Gewebe erkennen und bei guter Färbung von den Kernelementen der Gewebszellen genau unterscheiden.

Bei der Syphilis kann ich mich kürzer fassen. Hier findet ein analoges Verhalten der Parasitenentwicklung statt. Am ersten Infektionsherde werden gewöhnlich einzelne größere Dauercysten und zahlreiche kleinere Sporen abgesetzt, neben mehr oder weniger Massen von freien Sporozoiten und Merozoiten. Unter den abgesetzten Cysten sind wohl ebenso Formen aus der Reihe der Schizogonie, wie Sporocysten. Die Sporozoiten haben eine ähnliche Form wie beim Carcinom und Sarkom, lassen aber bei der Färbung stets von den Chromatinschwellungen aus nach einer mittleren (nur keineswegs regelmäßig genau in der Mitte liegenden) kleinen Chromatinschwellung drei feinere Fäden erkennen. Die gleiche Zeichnung bemerkt man an den Teilungssproßlingen und Merozoiten. Ungeschlechtliche und geschlechtliche Vermehrung der Parasiten verlaufen in ähnlicher Weise wie es von den Carcinom- und Sarkomparasiten angegeben ist. Die Sporozoiten erfahren beim Eindringen in das Gewebe zwischen diesen unter entsprechenden Veränderungen eine Umwandlung in Schizonten und in kleine durch einfache Vier- oder Fünf- oder Mehrteilung vergrößerte Parasiten, oder nach Morula- und verschiedenartiger Rosetten, Trauben- und Mitosenbildung der Kerne massenhafte Vermehrung (traubenartige Anordnung ist bei Syphilis besonders häufig) zu Merozoiten. Diese letzteren dringen in die Zellen und können teils im Protoplasma, teils im Kern der Zellen neue Entwicklungsphasen im gleichen Sinne der Schizogonie durchmachen. Bei Syphilis kommt es aber auch schon in der primären Induration anscheinend häufig zur geschlechtlichen Vermehrung der Parasiten, zur Sporogonie. Ich fand wenigstens öfters im Gewebe zahlreiche Sporoblasten und unterhalb der Invasionsstelle mit den von mir zuerst entdeckten sporengefüllten Gängen kleine helle Herde mit Geißelkörperchen, welche, von etwa ähnlicher Form oft noch kleiner wie bei Carcinomen und Sarkomen, ich als Mikrogameten auffasse; ich traf auch öfter Geißelkörperchen in den Blutgefäßquerschnitten, sowie in den perivaskulären Lymphräumen. Wo ich sie überhaupt fand, erscheinen sie stets gut definiert, der Kopfteil intensiv diffus oder nur mit feiner Konturlinie und mit den Chromatinschwellungen in der Kernfarbe, die Geißel ganz hell, ebenfalls je nach den Färbungen feinfädig oder ein wenig breiter, äußerst zart, aber immer deutlich als solche erkennbar. Auf der Oberfläche der Indurationen habe ich sie jedoch nur ein einziges Mal (1902) unter den von zahlreichen Fällen angefertigten Strichpräparaten auf dem Deckglas beob-

achtet; meistens wurden dabei Sporenformen angetroffen. Dagegen habe ich sie sehr vielfach in Kulturen sich entwickeln gesehen nämlich regelmäßig nach Abschluß der vorausgehenden schizontischen Teilungsvorgänge der großen Sporencysten und zwar ebenso bei solchen von primären Sklerosen, von tertiären Gummi-knoten, wie von hereditär-syphilitischen Herden. Die Mikrogameten scheinen bei Syphilis sich aus Cysten mit eigentümlich geformten Elementen zu entwickeln, die von mir noch genauer studiert werden müssen. Ich traf Cysten, in welchen Gebilde etwa wie Zigarrenbündel in verschiedener Richtung eingepackt sind. Durch Platzen der Cyste (Spore) lockern sich die Bündel und die Zigarren- oder einem losen Zopf ähnlichen Gebilde. Aus letzteren isolieren sich einzelne Fäden, welche Geißelkörperchen ähnlich werden. Andererseits sah ich aus solchen wellenförmige Gebilde entstehen, etwa wie in den Windungen gelockerte Spirochäten. Letztere habe ich, gut ausgebildet, eben neben solchen gelockerten Bündeln in Kulturen meiner Parasiten von hereditärer und primärer Syphilis gesehen. In solchem Zusammenhange sah ich Spirochäten auch vereinzelt in Schnitten. Uebrigens finden sich auch in den Präparaten der Autoren häufig Spirochäten neben deutlich als solche erkennbaren Geißelkörperchen (so z. B. auch in der Tafel 2 Abbildung 4 zu Bertarelli und Volpino, dieses Centralbl. Bd. XL. Heft 1. p. 56; ebenso bei Babes, Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 38).

Die Mikrogametocyten sind bei Färbungen gleichfalls von den anderen Parasitenformen, aber auch etwas von den Mikrogametocyten der Sarkom- und Carcinomparasiten, auffällig verschieden. So sind z. B. die Mikrogametocyten der Syphilisparasiten mit Indigokarmin violettgrau, die Mikrogameten mit feiner bläulicher Chromatinzeichnung des Kopf- teiles, mit rötlicher Geißel; mit Thionin die Mikrogametocyten aus einer Kultur der Parasiten bei hereditärer Syphilis matt hellblau, die Köp- fchen der innen liegenden Geißelkörperchen intensiv dunkelviolet; auch mit Hämatoxylin zeigen die Syphilispräparate kleine Differenzen der Färbung. Im übrigen tritt natürlich nur an hinlänglich vorbereiteten und gut gefärbten Schnittpräparaten die Chromatinzeichnung mit Hämatoxylin oder mit Hämatoxylin-Eosin wundervoll scharf hervor. Die Vereinigung von Mikrogameten und Makrogameten sowie die Oocyste habe ich bei den Syphilisparasiten bislang ebensowenig, wie die folgenden Formen ganz klar verfolgen können. Ich kann nur sagen, daß aus der Copula Cysten entstehen mit kleineren Kugeln, in deren jeder etwa vier oder mehr kleinere sich dunkelfärbende Kugeln (Sporoblasten) befinden, aus denen die Sporozoiten entstehen, welche ich oben schon genauer beschrieben habe.

Das Eindringen derselben in die zelligen Gewebsteile selber scheint mir häufiger bei den tertiären und hereditären Erkrankungen vorzukommen als bei primären. Besonders typisch scheint mir z. B. das Eindringen von Sporozoiten in das Protoplasma der Leber- und Nierenepithelien bei tertiärer Syphilis und die innerhalb derselben stattfindende Schizogonie, welche zu kleinen mehrteiligen mit zarter Hülle umschlossenen Parasiten führt, aus welchen oft nach vorgängiger Trauben- oder Rosettenbildung außerordentlich zierliche, winzige Merozoiten zur weiteren Infektion der Umgebung austreten. Aehnliches findet bei den gewöhnlich entzündlich zerfallenden gummösen Granulationsherden der hereditären Syphilis statt. Aber auch bei Syphilis dürfte wahrscheinlich die

rasche Ausbreitung der Krankheit im primären und sekundären Stadium durch die mit dem Blute und der Lymphe fortgeführten Mikrogameten begünstigt resp. wesentlich vermittelt werden. Dementsprechend wird man zumal in diesen Stadien Mikrogameten resp. Geißelkörperchen auch im Blute finden können.

Wie man aus dem Angegebenen schon bemerkt hat, fasse ich die Geißelkörperchen nicht als die eigentlichen Syphilisparasiten, sondern auf Grund meiner eingehenden zahlreichen und langjährigen Beobachtungen, als die eine geschlechtliche Form, die Mikrogameten der Syphilisparasiten auf, welche mir als solche ebenso wie die des Carcinoms und Sarkoms zu den Sporozoen zu gehören scheinen. Die bisherigen Siegelschen Untersuchungen welche sich übrigens meist auf die Beobachtungen dieser von E. Schulze als „Flagellaten“ angesprochenen Gebilde im Blute von mit Syphilisprodukten geimpften Tieren (!) stützen, berechtigen nach keiner Richtung zur Aufstellung derselben als besondere Parasiten, geschweige denn als solche der Syphilis¹⁾.

Wie sich die *Spirochaete pallida* Schaudinns zu meinen hier geschilderten, den Sporozoen zugehörigen Parasiten verhält, kann ich genauer noch nicht angeben, als eben angedeutet. Ich will nur noch hervorheben, daß ich gut entwickelte Exemplare der *Spirochaete* mit feinen Windungen bei primärer und hereditärer Lues konstatiert habe, so auch in Kulturen, aber hier doch stets nur in wenigen Exemplaren neben Geißelkörperchen, Sporen und anderen Elementen der Entwicklung. Wiederholt sah ich Doppelbildungen, aus Kügelchen oder wie aus einzelnen Geißelkörperchen zusammengesetzte Spirochäten dann gewöhnlich mit flachen Windungen. Daß die Spirochäten als eigentliche Syphiliserreger aufzufassen sein sollten, ist trotz der Versicherungen und Annahme vieler weder durch Schaudinns Angaben, noch durch die zahlreichen bestätigenden Befunde anderer Untersucher erwiesen. Die bloße Masse der Bestätigungen, an sich ja sehr erfreulich, zeigte doch zunächst nur die Häufigkeit des Vorkommens bei Syphilis und läßt naturgemäß engere Beziehungen voraussetzen, gibt aber doch nichts für die tatsächliche Bedeutung dieser Spirochäten als Parasiten des Syphilisprozesses. Die bisher zum Nachweis der *Spirochaete pallida* verwendeten Untersuchungsmethoden sind überdies an und für sich nicht geeignet, auch nur die einfachsten Beziehungen der fraglichen Gebilde zu den verschiedenen für die Syphilis charakteristischen geweblichen Veränderungen und zu den klinischen Erscheinungen der einzelnen Syphilisphasen klarzustellen. Dagegen haben meine in der Kombination verschiedenartiger Untersuchungsmethoden (histologische Schnittpräparate, Deckglaspräparate, Lebendbeobachtung von Gewebspartikeln und Flüssigkeiten, Kulturen, Impfungen auf das Tier) bestehenden, seit 6 Jahren an einem großen Materiale durchgeführten Forschungen die ständige Beteiligung der von mir gefundenen Parasiten in ihren verschiedenen Entwicklungsformen an den charakteristischen syphilitischen geweblichen Veränderungen in allen Perioden der Syphilis (von der primären bis zur tertiären und hereditären) so sicher dargetan, daß mir daraus gewiß viel größere Berechtigung erwächst, diese als die Syphiliserreger aufzufassen. Für die *Spirochaete pallida* kann ich natürlich nur ver-

1) Die Bezeichnung *Cytorrhcytes luis* Siegel (eigentlich Döhle, da dieser die ersten Beobachtungen von Geißelkörperchen veröffentlichte) hat keine Berechtigung.

mutend aussprechen, daß sie möglicherweise sich als eine einzelne Entwicklungsform meiner Parasiten darstellen wird, eine Vermutung, welche, wenn sie sich bestätigen würde, gewiß in keiner Weise den Wert der Schaudinnschen Entdeckung herabsetzen soll und kann. Ich nehme andererseits zugleich Gelegenheit, hier einmal ernstlich Verwahrung einzulegen gegen die in keiner Weise zu rechtfertigende Gepflogenheit Schaudinns, parasitäre Forschungen der verschiedensten Autoren, so auch alle sich nicht mit der *Spirochaete pallida* beschäftigenden Arbeiten zur Syphilisätiologie, in dem Literaturverzeichnisse des von ihm redigierten Archivs für Protistenkunde unter einem Titel „Pseudo-protozoen“ (!) aufzuführen.

Die nach meinen mehrjährigen Studien angegebenen Formen der Syphilisparasiten und ihre charakteristischen Erscheinungen im Verlaufe der Schizogonie und Sporogonie, wie auch die typische Zeichnung der Sporoziten und Merozoiten hat mich in den Stand gesetzt, noch bei verschiedenen Krankheitsprozessen den Zusammenhang mit Syphilis nachzuweisen; so bei bestimmten Gelenkkrankheiten und anderen. So ist es mir noch ganz neuerdings gelungen, durch den Nachweis zahlreicher sowohl der verschiedenartigen Teilungsformen, wie aller möglichen Stadien der Sporogonie, sogar der Mikrogametocyten, der Sporoziten und der Sprößlinge mit der von mir angegebenen typischen Chromatinzeichnung zum Teil in Epithelien, zum Teil in und an Fibrincylindern, ferner von zahlreichen Sporen und leeren Hüllen von solchen im Harn von an Morbus Brighti leidenden Patienten zu entdecken, daß die wichtigste Ursache desselben besonders der chronischen hartnäckigsten und schwersten Formen, noch bestehende Nierensyphilis mit noch lebenden (!) Syphilisparasiten ist. Darüber folgt später ausführliche Mitteilung.

Ohne schon jetzt die Einwirkung der Parasiten bei Carcinom und Sarkom sowie bei Syphilis auf die Gewebe eingehend zu schildern, läßt sich doch nach meinen bisherigen Untersuchungen und zahlreichen Abbildungen folgendes hervorheben: Beim Carcinom können durch die in die Gewebszelle eindringenden Parasiten die Kerne der Zelle zu einer Mitose angeregt werden. Dann entstehen Bilder, welche J. B. Farmer, J. E. S. Moore und C. E. Walker (The Lancet. Aug. 5. 1905. p. 352) wie mir scheint, irrtümlich auf die Einwirkung von eingedrungenen Leukocyten beziehen. Leukocyten würden auch viel größer sein, als sie in ihren Abbildungen erscheinen. Häufiger werden beim Carcinom wahrscheinlich durch die Sporoziten die ersten Kerne, in welche sie eindringen, zerstört. In und an Stelle des Kernes findet dann die Schizogonie der Parasiten statt, von welchen aus die benachbarten Zellen und Kerne infiziert werden. Ein wesentlicher Unterschied in der Einwirkung auf die Zellen besteht nun darin, daß beim Krebs und auch beim Sarkom unter der Einwirkung der Merozoiten die Kerne sich massenhaft multipel teilen. Das geschieht infolge einer zunehmenden mehrfachen ungewöhnlich vielfältigen Abschnürung des sich vergrößernden Kerns. Jeder abgeschnürte, schließlich mehr oder weniger isolierte Teil des Kernes beherbergt in sich einen kleinen Parasiten (Merozoiten, Sporoziten). Diese Art der Zellwucherung scheint mir weit häufiger zu sein als die durch Mitosenbildung, und erklärt ihrerseits auch leichter die abnorme rasche Wucherung des Tumors, welche allerdings zum Teil auch — bei Sarkomen überwiegend — durch die Massen-

anhäufung der Parasiten selber¹⁾ mitbedingt ist. So habe ich es nach den Präparaten der mit Carcinomkulturen infizierten Tiere, wie auch im Carcinom des Menschen (z. B. im Magencarcinom), ähnlich auch an Sarkomen festgestellt. Es findet hier also eine Symbiose der kleinen Parasiten mit der Zelle statt. Mit der Vermehrung der Parasiten vermehren sich die Kerne und mit diesen die Zellen. Auch in den Epithelperlin kann man verschiedene Phasen der Parasitenentwicklung, besonders der Schizogonie, nachweisen. Auch viele Mitosen sind Erscheinungen einer Schizogonie der Parasiten. Ein großer Teil der Mitosen der Carcinome, besonders aber die unregelmäßigen und die eigentümlichen Kernabnormitäten, welche oft als unregelmäßige Teilungsfiguren und anderes aufgefaßt worden sind, ist fraglos auf die Parasiten zurückzuführen. In meinen Tierpräparaten sind fast alle Mitosen — so mannigfaltig sie auch erscheinen — schon durch die Färbung genau als den Parasiten angehörig gekennzeichnet, wie sie übrigens genau gleich auch früher von mir in meinen Kulturen festgestellt wurden, in welchen nur zertrümmerte Zellbröckel, keine einzige lebende Zelle mehr enthalten war. Aehnlich ist es bei Sarkomen. (S. Lit. No. 3.)

Bei der Syphilis dringen die Sporozysten und Merozoiten meist in das Protoplasma und bringen dieses bei ihrer weiteren Entwicklung zum Schwund, indirekt, und oft direkt, auch den Kern, sie zerstören die Zellen. Reaktiv wird eine entzündliche Infiltration des Gewebes in der Umgebung veranlaßt; aber auch diese entzündlich geschwollenen und neu zutretenden Zellen, speziell die weißen Blutkörperchen, gehen wieder unter den auch in sie eindringenden Parasiten zu Grunde. Als positive weitere Reaktion folgt narbige Schrumpfung. Nur unter gewissen Bedingungen, wie z. B. bei später hereditärer Syphilis kann es unter der Einwirkung der Parasiten auch zu beschränkten hyperplastischen Prozessen kommen. Genaueres darüber später.

Nach der wesentlichsten verschiedenen Einwirkung könnte man die Parasiten bei Syphilis nennen *Plasmodium luis kytophthoron*, bei den Carcinomen und Sarkomen *Plasmodium luis kytoplastikon*.

Literatur.

- Schüller, M., Beitr. zur Aetiologie der Geschwülste und zur Kenntnis der Syphilis-ätiologie. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII. 1900. No. 14 u. 15. p. 511.)
 — Ueber eigenartige Parasitenfunde bei Syphilis. (Ebenda. Bd. XXXII. 1902. No. 5—9. Mit 6 Tafeln.)
 — Ueber die Chromatinkörper der Krebs- und Sarkomparasiten des Menschen. (Ebenda. Bd. XXXVII. 1904. Heft 4. p. 547. Mit 1 Tafel.)
 — Die Parasiten im Krebs und Sarkom des Menschen. Mit 3 Tafeln u. 64 Abbildungen im Text. Jena (G. Fischer) 1901.
 — Zur parasitären Entstehung von Krebs und Sarkom. (Centralbl. f. Chirurgie. 1902. No. 8.)
 — Vortrag und Demonstration. (Verhandl. d. Dtsch. Gesellsch. f. Chirurgie. 31. Kongr. Berlin 1902. Bd. I. p. 68.)
 — Parasitäre Krebsforschung und der Nachweis der Krebsparasiten am Lebenden. Mit Abbildungen im Text. Berlin (Vogel u. Kreienbrink) 1903.
 — Die Verbreitung der Parasiten in einem Femursarkom und ihre Invasion bei Haut-

1) Die Verbreitungsweise der Parasiten erklärt auch in sehr einfacher Weise die Entstehung von Carcinomen innerhalb wenig veränderter Epithelien. Derartige Befunde sprechen natürlich gar nicht gegen die parasitäre Theorie. Es bedarf vielmehr nur der genauen Kenntnis der Formen der Sporozysten resp. Merozoiten, sowie der Parasiten als solcher, aber nicht besonderer Theorien zur Erklärung des Auftretens solcher Krebse.

- und Schleimhautsarkomen. (Deutsche Aerzte-Zeitung. 1905. Heft 1. Mit Abbildungen.)
- Schüller, M., Mitteilungen über die Krebsparasiten. (Wien. klin. Rundschau. 1905. No. 39; siehe auch St. Louis Medical Review. Sept. 16. 1905.)
- Mitteilung über die protozoenähnlichen Parasiten bei Syphilis. (Dermatolog. Zeitschr. Bd. X. 1903. Heft 4.)
- Ueber hereditär-syphilitische Herderkrankungen bei Kindern und die Verbreitung der protozoischen Parasiten bei denselben. (Ebenda. Bd. XII. 1905. Heft 1. Mit Abbildungen.)
- Ueber die protozoischen Erreger der Syphilis. (Deutsche Aerzte-Zeitung. 1905. Heft 12.)
- Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 40.
- Mohr, H., Zur Bedeutung der Schüllerschen Krebsparasiten. (Deutsche mediz. Wochenschr. 1902. No. 47.)
- Jesionek u. Kiolemenoglou, Ueber einen Befund von protozoenartigen Gebilden in den Organen eines hereditär-luetischen Fötus. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 43.)
- Ritter, Die Ursache der Nekrose im Krebsgewebe. (von Langenbecks Archiv f. klin. Chir. Bd. LXXVII. 1905. Mit Taf. IV a und b.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Pocken der Vögel, ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erreger.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Jena (Direktor: Geh. Hofrat Prof. Dr. A. Gärtner).]

Von Oberarzt Dr. **Retschauer**, kommandiert zum Institute.

(Fortsetzung.)

Von den so behandelten Schnitten wurden im ganzen etwa 4000 untersucht, ferner einige Hundert Ausstriche und hängende Tropfen. Mit Vorteil verwendete ich auch Blutschnitte nach Biondi.

Im folgenden gebe ich eine Schilderung der Veränderungen an den erkrankten Organen und Geweben, soweit ich sie habe untersuchen können, und werde auf die feineren Zellveränderungen erst später bei Behandlung der Frage nach dem Krankheitserreger eingehen.

Auch histologisch sind bisher nur die Affektionen der Haut genauer studiert und wiederholt ausführlich beschrieben. Den Hauptanteil an der Bildung des Exanthems hat das Epithel, welches, sobald die Infektion erfolgt ist, in eine intensive Wucherung gerät und so, wie schon Bollinger sagt, zunächst umschriebene epitheliale Hyperplasieen bildet, die dann zu umfangreichen Neubildungen polygonaler Zellen heranwachsen. In zweiter Linie stehend, aber ebenfalls von großer Wichtigkeit, sind die Veränderungen der bindegewebigen Elemente.

Ich beginne mit der Schilderung eines typischen Tumors, welche z. B. am Kamm des Huhns oder am Augenlid der Taube ganz gleichartig gebaut sind. Das Stratum Malpighii der Haut besteht normal aus einem geschichteten Pflasterepithel von 5—7 Zelllagen und wird außen durch das Stratum corneum abgeschlossen. Sehr bald nach der Impfung beginnt die Vermehrung der Zellen: die Furchen zwischen den einzelnen Hautwärtchen, welche am Kamm sehr ausgesprochen sind, werden durch dicke Epithelzapfen ausgefüllt. Diese dringen dann weiter in das zellreiche, am Kamm mit kavernösen Blutgefäßen durchsetzte Bindegewebe ein, oft baumartige Verzweigungen bildend. Querschnitte durch kleine

Geschwülste an den Kammspitzen fand ich so nach allen Richtungen hin vom Epithel durchsetzt. Bei Augenlidern von Hühnern war die Epithelwucherung bis fast an den Tarsus vorgedrungen, bei Tauben durchsetzte sie nicht selten fast das ganze Augenlid. Es muß also hervorgehoben werden, daß es sich hier nicht nur um ein vermehrtes Dickenwachstum des Hautepithels handelt, sondern um eine atypische Wucherung von Epithelzapfen unter Verdrängung des normalen Gewebes, namentlich des Bindegewebes. Das Stratum corneum ist meistens erhalten und häufig von strukturlosen Massen, welche mit Blutkörperchen und Bakterien durchsetzt sind, überlagert, sie treten durch ihre intensive Färbung nach Heidenhain stark hervor.

Die einzelnen Zellen sind von sehr verschiedener Größe und Gestalt. Etwa in der Mitte der Zapfen sind sie polygonal und am größten (18—25 μ), nach außen platten sie sich ab und werden kleiner, nach innen werden sie mehr cylindrisch und die Randzellen (Keimschicht) können die Gestalt von langgestreckten, schmalen Spindeln annehmen, die mit ihren spitzen Enden sich zwischen das Bindegewebe hineinschieben. Im übrigen ist die Abgrenzung gegen das Zellgewebe eine scharfe, wenn sie auch manchmal nur aus einigen feinen Fibrillen besteht. Die Intercellulärsubstanz ist meistens vermehrt und zeigt eine feine Faserung. Das Auffälligste an den Zellen sind die Einschlüsse im Protoplasma derselben, welche verschiedene Formen zeigen und teils als Zerfallsprodukte, teils als Parasiten gedeutet sind. Der Uebersicht halber teile ich sie in verschiedene Gruppen ein und bezeichne die erste von diesen als Schollen. Ihre Gestalt ist ganz unregelmäßig, sie gleichen etwa Apfelsinen- oder Eierschalen und sind fast stets größer als der Kern. Entweder liegen sie zu zweien in einer Zelle, dann kehren sie ihre konkaven Seiten einander zu, so daß das Ganze den Eindruck einer geplatzen Hülle macht, oder sie liegen allein, dann ist die Schale eine vollständigere. In den älteren Zellen sind sie ganz formlos. Sie färben sich wie das Zellplasma, nach Mann rotviolett und halten die schwarze Farbe nach Heidenhain lange fest. Durch Behandlung mit Osmiumsäure oder Scharlach R. läßt sich bei ihnen ein allerdings ungleichmäßiger und im Anfang fehlender Fettgehalt feststellen.

Färberisch ganz ähnlich verhalten sich Gebilde, welche ich nach ihrer Gestalt als Kugeln bezeichne, manchmal sind sie auch ei- oder birnförmig. Sie sind ebenfalls größer als der Kern und können fast die ganze Zelle einnehmen. Sie sind einfach konturiert, ihre Oberfläche ist etwas rauh, körnig, schuppig. Diese Kugeln nehmen manchmal Maulbeerform an und bestehen dann anscheinend aus einer Anzahl kleinerer Kugeln. Drittens folgen Bildungen, die ich nach Apolant als Bendasche Körperchen bezeichne; sie färben sich wie der Kern, sind kleiner als dieser, meist sehr klein. Oft sind sie rund und in größerer Anzahl verstreut; im ganzen kommen sie nicht häufig vor. Ferner kommen kleine runde Scheiben in Betracht, die sich nach Giemsa leuchtend rot färben, ebenso nach Mann und Biondi, sie finden sich auch intercellulär. Fünftens folgen den Kugeln ähnliche doppelt konturierte Bildungen, die ich als Cysten bezeichnen will und deren Beschreibung später folgt, und schließlich feinste sich schlecht färbende, lichtbrechende Körnchen, die oft in kleinen Häufchen in den Zellen sich finden. In diese 6 Gruppen glaube ich alle vorkommenden Formen einordnen zu können, und verzichte daher auf eine detaillierte Schilderung aller sich

findenden feinsten Nuancen, wie man sie ja bei den Zelleinschlüssen des öfteren gegeben hat.

In der Keimschicht sind alle diese Einschlüsse noch nicht vorhanden, das Protoplasma zeigt normale Struktur. Doch sehr bald tritt eine Art Gerinnung ein, der Zelleib wird körnig, verdichtet sich stellenweise und es entstehen kleine Schollen oder Kugeln, die sich mit der Zelle allmählich vergrößern. Später sieht man nur noch Reste der Filar-masse wie zerrissenes Spinnwebgewebe in der Zelle liegen oder das Plasma ist bis auf geringe Spuren, die den Einschlüssen oder der Zellmembran anhaften, gänzlich geschwunden. Ein völliger Zerfall einzelner Zellen findet nicht statt. Der Kern ist fast stets erhalten, nur in den größten und in den ältesten Zellen ist er oft nicht erkennbar, sei es daß er nicht vom Schnitt getroffen wurde oder daß er zerfallen und zum Schwinden gebracht ist. Er vergrößert sich in einem gewissen Verhältnis zu der Zellen; in den jüngsten Stadien derselben ist er annähernd normal, das Kernkörperchen ist häufig doppelt vorhanden. Bald stellen sich auch hier deutliche Veränderungen ein. Das Kernkörperchen vergrößert sich stark, das Chromatin ballt sich zu kleinen Kugeln zusammen, verschwindet ganz oder liegt der Kernmembran in einzelnen Körnchen an. Am häufigsten sah ich die ganze Kernsubstanz zu einem großen Klumpen zusammengeballt in der Mitte des Kerns liegen, dies Verhalten bildet die Regel bei allen älteren Zellen. Mitosen habe ich im infizierten Epithel nie gefunden. Ziemlich häufig finden sich zwischen den Epithelzellen kleine Hohlräume. Manche von ihnen sind wohl auf Impfverletzungen zurückzuführen, die meisten aber liegen rings vom Epithel umgeben und von diesem durch feine Fibrillen abgekapselt. Auch Pfeiffer sind diese Bildungen aufgefallen, er bezeichnet sie als maschenartige Auflockerungen, zum Teil ausgefüllt mit Leukocyten. „ganz in der Weise wie in jungen Vaccinopocken“; er bildet sie ab (Taf. III, Fig. 2 und 6). Der Zerfall der Neubildung beginnt nicht selten durch Arrosion dieser cystischen Hohlräume oder durch Zerfall der ältesten Zellen. Es entstehen so teils trichterförmige Ulcerationen, teils solche mit überhängenden Rändern.

Auch das die Epithelwucherung umgebende Bindegewebe ist in Mitleidenschaft gezogen. Ich erwähnte bereits, daß es durch die Epithelzapfen zum Schwinden gebracht wird, oft bleibt es nur noch in schmalen Septen zwischen diesen erhalten. Die entzündliche Reaktion ist anfänglich sehr gering, man sieht nur eine leichte Zellvermehrung und einige Leukocyten auf der Bildfläche erscheinen. Mit dem Fortschreiten der Infektion bilden sich stets Infiltrate aus, welche die erkrankte Stelle in weitem Halbkreise umgeben. Da und dort sieht man außerdem um die feinen Gefäße kleine perivaskuläre Rundzellenanhäufungen. Die Wände dieser Gefäße sind ebenfalls verändert und geben so zu kleinen oder größeren Hämorrhagien Veranlassung. Neben den zelligen Elementen erfährt auch die fibrilläre Grundsubstanz eine deutliche Vermehrung. Unter den Zellen dieser Infiltrate, deren Studium von den Voruntersuchern sehr mit Unrecht vernachlässigt worden ist, findet sich eine Reihe von auffälligen Bildungen, von denen ich hier vorläufig nur eine erwähnen möchte, da sie uns noch häufiger begegnen wird. Es sind dies Zellen, die in ihrem Plasma feine, nach Giemsa sich leuchtend rot färbende Körnchen enthalten. Ich bezeichne sie vorläufig als „Körnerzellen“. Ist die Infektion eine intensive, so ist die

Infiltration eine geringfügige, dagegen zeigen sich dann neben fremden Elementen namentlich ausgedehnte Zelldegenerationen.

Etwas anders als die beschriebenen typischen Knötchen verhalten sich die größeren Knoten, die sich an den befiederten Stellen finden. Sie setzen sich zusammen außen aus einer Schicht gewucherten Epithels, innen aus dicken, mehr oder weniger runden Epithelsäulen, die durch straffes fibrilläres Bindegewebe getrennt werden; letzteres enthält zahlreiche große Gefäße. Das Epithelgewebe ist so verändert, daß es eigentlich als solches kaum noch kenntlich ist. Es ist von ihm nichts weiter erhalten, als ein grobmaschiges Netz der verdickten, fast homogenen, oft mit Rundzellen durchsetzten Intercellularsubstanz, welches in seinen Maschen manchmal noch Reste von scholligen Zelleinschlüssen und Kernen zeigt. Oft findet sich in ihm nur eine schwach gefärbte homogene Masse, und manchmal feinste Körnchen, andere wieder sind völlig leer, oder enthalten Bakterienhäufchen. Die äußere Schicht zeigt meistens starke Bakterienein- und Auflagerungen, ferner Borken von verhornten, mit Blutkörperchen durchsetzten Massen. Sie wird nach innen nicht selten durch einen breiten Wall von Leukocyten abgegrenzt. Die Epithelsäulen zeigen oft zwei Schichten von Keimzellen, eine innere, die kreisförmig ein kleines Zentrum von lockerem mit Gefäßen durchsetztem Bindegewebe umgibt, und eine äußere. Bollinger sah in diesem Zentrum kleine Federchen, und leitet daher die Entstehung der Zapfen aus Federbälgen ab. Man kann in der Tat an Tumoren verschiedenen Alters die Umbildung der Federbälge in diese Epithelsäulen verfolgen. Das Bindegewebe zeigt häufig kleinere oder größere nekrotische Herde, Hämorrhagien und Bakterienhaufen. Die nekrotischen Herde vergrößern sich und bilden den Ausgangspunkt für den späteren Zerfall der Tumoren.

Untersucht man eine ältere Geschwulstform, so kann man sie für Hefetumoren halten, wie dies Sanfelice getan hat. Die runden Querschnitte der Epithelzapfen sehen ganz aus wie Haufen von eingekapselten Blastomyceten, die rings von Bindegewebe umschlossen sind, während die jüngeren und jüngsten Formen nicht die geringste Aehnlichkeit damit haben.

Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Klee bekam ich auch einen Fall der selteneren diffusen Form zur Untersuchung. Das Material bestand aus Kopf und Flügeln eines Huhnes, welches der Krankheit erlegen war. Am Kopf fanden sich an der Kehlgegend und am Schnabelwinkel einige typische bis erbsengroße Tumoren. Die linke Kopfseite war größtenteils mit schmierigen, gelbbraunen Schorfen bedeckt, ebenso die ganze Außenfläche der Flügel, an denen die Federn zum Teil ausgefallen waren, an der Innenseite war die Haut nicht verändert. Im Maul fanden sich am Zungengrund und am Gaumen drei stecknadelkopfbis linsengroße mit einer graugelblichen Masse bedeckte Stellen, zwei von ihnen wurden excidiert und untersucht, auf das Ergebnis werde ich später eingehen. Die Tumoren stimmten histologisch mit den beschriebenen völlig überein. Schnitte durch die erkrankten Stellen der Flügel zeigten folgendes Bild: Das Stratum corneum der Epidermis fehlte, an seiner Stelle lagen mehr oder weniger dicke homogene, mit Bakterien dicht durchsetzte Massen der Epithelschicht auf. Letztere zeigte eine typische, gleichmäßige Wucherung, Vergrößerung und Degeneration der Zellen, welche auch sämtliche Federbälge in ihrer ganzen Ausdehnung befallen hatte. Die Zellvermehrung war nicht sehr ausgesprochen, zapfen-

förmige Wucherungen in das Zellgewebe fehlten, dagegen war häufig eine Verschmälerung der zwischen den Federbälgen liegenden Coriumpapillen, welche oft kleine Hämorrhagieen zeigten. Die Epithelzellen glichen völlig den oben beschriebenen Tumorzellen mit fortgeschrittener Degeneration. Der Kern fehlte in den älteren meist völlig, und war häufig schon in der Keimschicht zu einer formlosen Masse geworden. Die Zelleinschlüsse bestanden fast nur aus zerfallenen Schollen und feinsten Körnchen.

Die stark hervortretende Intercellularsubstanz bildet ein dickmaschiges Netz. Auch am Unterhautzellgewebe fällt eine ausgesprochene Degeneration der zelligen Elemente auf, welche an einzelnen Stellen, wo auch das Epithel nekrotisch geworden ist, fast ganz fehlen. Nur stellenweise sind auch Infiltrate und Leukocytenanhäufungen nachweisbar.

Neben den Veränderungen der Haut, welche bei den bisherigen Untersuchungen fast ausschließlich berücksichtigt wurden, waren für mich auch die erkrankten Schleimhäute von großem Interesse für die Beantwortung der Frage nach dem Erreger der Krankheit. Da auch die klinischen Erscheinungen der einzelnen Affektionen keineswegs sichergestellt sind, muß ich auch hier noch einiges nachholen, um mit Verwendung der Literaturangaben ein möglichst klares Bild zu geben.

Am häufigsten sind die Erkrankungen der Mundschleimhaut, und auf ihre Untersuchung habe ich besonderen Wert gelegt, weil ich aus der Literatur sah, daß hier große Unklarheit herrscht. Salmon z. B. meint, daß es noch einer genauen Untersuchung nach den neuesten Methoden bedürfe, um zu entscheiden, ob die Erreger der Geflügelpocken, welche er in Psorospermien (nach Rivolta) oder Blastomyceten (nach Sanfelice) sucht, auch Erkrankungen der Mundhöhle verursachen könnten, oder ob die bei den chicken pox häufigen krupartigen Veränderungen durch Diphtheriebakterien erzeugt würden, vorläufig läßt er diese Frage unentschieden. Nocard und Leclainche sagen ebenfalls, daß bisher nur bakterielle Erkrankungen der Mundhöhle festgestellt seien. Mégnin meint, daß auch die Tumoren am Kehlgang durch Diphtheriebakterien verursacht würden, welche aus dem Rachen, wo sie sich häufig saprophytisch aufhielten, hervorwuchern sollen. Friedberger und Fröhner glauben, daß beide Krankheitsprozesse vorkommen, daß sie aber klinisch nicht zu unterscheiden seien. Pfeiffer meint sehr mit Recht, daß hier „eine Konfusion in Bezug auf die Nomenklatur und in der klinischen Abgrenzung des Krankheitsbildes herrscht, wie kaum auf einem anderen Gebiete der Pathologie“. Er ist dann auch selbst ein Opfer dieser Konfusion geworden und beschreibt alle hier in Frage kommenden Krankheitsprozesse (anscheinend spielt auch die Hühnerpest mit hinein) einheitlich als Flagellatendiphtherie, eine Annahme, die inzwischen schon als unrichtig widerlegt worden ist.

Meine diesbezüglichen Untersuchungen betrafen einige Fälle von natürlicher und künstlicher Infektion. Die schon beschriebenen Affektionen des an der diffusen Form verendeten Tieres zeigten folgendes Bild: Die Epithelschicht ist mit dicken, fibrinösen Massen bedeckt, welche von verschiedenen Bakterienarten (Stäbchen und Kokken) und Zelltrümmern durchsetzt sind. Diese Massen erstrecken sich an einer kleinen Stelle bis in die Mucosa hinein. Die Epithelzellen fehlten hier, die entfernten waren nekrotisch und im weiteren Umkreise trugen sie Zeichen von Degeneration. Die Submucosa war stark infiltriert, kurz es bestanden alle Zeichen eines typischen diphtherischen Schleimhautprozesses. Da-

gegen fand sich von einer Zellvermehrung keine Spur. Dasselbe Bild bot eine andere auch makroskopisch der vorigen ähnliche Affektion, welche einer Taube mit großen Tumoren am Schnabelwinkel entnommen wurde. Hier erstreckte sich der geschwürige Defekt bis in die Submucosa hinein, Nekrose und Degeneration waren noch ausgesprochener. Auch im Bindegewebe fanden sich zahlreiche Bakterien, das Tier war offenbar an Sepsis eingegangen, da auch die Tumoren von Bakterien durchsetzt waren. Von einer Neubildung von Epithelzellen war auch hier nichts nachzuweisen.

Weiterhin impfte ich bei einer Taube die Mundschleimhaut an der Schnabelkommissur. Es bildeten sich im Verlauf von 7 Tagen tiefe rhagadenartige Furchen, die ziemlich parallel nach hinten verliefen. Zwischen ihnen lagen wulstige Erhabenheiten. Die Schleimhaut war nur leicht gerötet und zeigte keinen Belag. Mikroskopisch fand sich eine ausgesprochene Zellvermehrung und Degeneration, genau wie an den jüngeren Tumoren der Haut. Auch hier sah man kleinere und größere Epithelzapfen sich weit, zum Teil bis dicht an die Außenhaut, in das Bindegewebe vorschieben. Von ihnen gingen wieder sekundär oft sehr feine Ausläufer ab. Da die jungen, in lebhafter Vermehrung begriffenen Zellen meist noch keine Einschlüsse zeigten, so war das Bild mikroskopisch einem Hautcarcinom zum Verwechseln ähnlich. In den größeren Zapfen zeigten die älteren Zellen typische Kern- und Protoplasmadegeneration, sowie meist schollige Zelleinschlüsse.

Ein weiterer Fall betraf eine Spontaninfektion bei einer Taube, welche längere Zeit mit einer erkrankten zusammen in einem Käfig gehalten wurde. Bei einer Untersuchung fand sich hier in der unteren Schnabelhälfte eine linsengroße Stelle, bedeckt mit graugelblichem, käsigem Belag, welcher im Verlauf einer Woche allmählich anschwellte und die Höhlung des Schnabels vollständig ausfüllte, schließlich ging die Wucherung auch auf die Außenhaut über, hier eine kleine typische Geschwulst bildend. Die Zungenspitze wurde ergriffen und zum Teil vernichtet, und auch an dem Oberschnabel zeigte sich ein linsengroßer Belag. Hob man etwas davon ab, so fand man die Schleimhaut erkrankt, leicht blutend. Die mikroskopische Untersuchung des in diesem Zustande getöteten Tieres zeigte nekrotische, käsige, sicher nicht fibrinöse Massen, darunter typische Wucherung von Epithelzellen mit Einschlüssen.

Es ergibt sich also ein recht buntes Bild. Zunächst kann es sich zweifellos um diphtherische Prozesse handeln, deren Erreger vielleicht saprophytisch im Rachen sich aufhalten, und erst in die Gewebe des schwer kranken Tieres eindringen. Häufig scheinen auch die Erreger der Taubendiphtherie in Frage zu kommen, und zwar die Löfflersche Form, welche auch Membranbildung im Kehlkopf und in der Trachea herbeiführt, und eine Pasteurellose, welche unter den Erscheinungen der hämorrhagischen Septikämie zum Tode führt (Nocard und Leclainche).

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Die Malaria in Athen.

Eine biologische und histologische Studie über die Malaria-plasmodien.

Von

N. Pezopoulos,

und

Dr. Jean P. Cardamati,

ö. Prof. der pathol. Anatomie an der
Universität Athen und Direktor des
pathol.-anatomischen Institutes daselbst.

langjährigem I. Assistenten der Uni-
versitätsklinik in Athen.

Mit 2 Tafeln.

(Schluß.)

Nach unseren Beobachtungen ist die gewöhnliche Gestalt, in der die Parasiten des *Praecox* erscheinen, wenigstens in dem peripheren Blute, die ringförmige. Die unregelmäßigen und die sphärischen Schizonten sind viel seltener. Jedenfalls existiert keine Beziehung zwischen der Gestalt des Parasiten und der Periode des Fieberanfalles; denn in dem einen Teil der Fälle, und zwar dem größten, fanden wir in dem peripheren Blut der Kranken in allen Stadien des Fiebers und der Fieberlosigkeit nur regelmäßige und unregelmäßige Ringe, in dem anderen aber außer diesen auch unregelmäßige und kugelförmige Schizonten. Nur in einigen Fällen entdeckten wir während des fieberfreien Intervalls bei der Untersuchung des Blutes nur große unregelmäßige Schizonten. Aber selbst in diesen fanden sich gleichzeitig schwarze Körner mit oder ohne lichthem Hof, nämlich totem hyalin degeneriertem Protoplasma, was auch hier das Vorhandensein von abgestorbenen ringförmigen Parasiten beweist.

Zugleich zeigten sich mit all diesen Formen auch nach dem fünften oder sechsten Fieberanfall halbmondförmige Gameten.

Die halbmondförmigen Parasiten oder Gameten erscheinen in doppelter Gestalt. Bald sind sie lang und schmal, meistens sichelförmig gebogen, mit scharfen oder wenig abgerundeten Spitzen (weibliche Gameten), bald kurz und dick in Nieren- oder Bohnenform (männliche Gameten). Diese beiden Formen der Gameten haben den Kern im Zentrum liegend, bei den weiblichen seltener an dem einen Ende oder an dem gebogenen Rande. Dieser Kern ist bei den weiblichen Gameten klein und kompakt und nimmt ungefähr $\frac{1}{6}$ der ganzen Länge des Parasiten ein und färbt sich violettrot; bei den männlichen ist er groß und nimmt den größten Teil des Parasiten ein, bestehend aus zwei Teilen, einem zentralen, sich rosa färbenden, und einem peripheren, der sich ebenfalls rosenrot, jedoch sehr schwach, färbt. Der Körper des Gameten färbt sich bald tief bald schwach blau, während seine Ränder meistens eine lebhaftere Farbe zeigen, außerdem trägt er reichliche Pigmentkörnchen; diese liegen bei den weiblichen gewöhnlich im Zentrum und bedecken den Kern zum größten Teil, bisweilen befinden sie sich aber auch an einem der beiden Enden, während sie bei den männlichen gewöhnlich über den ganzen Körper verstreut sind. Diese Pigmentkörnchen sind bald rund, bald länglich, von tiefschwarzer oder grauer Färbung. Im allgemeinen sind sie bei den männlichen Gameten größer und zahlreicher als bei den weiblichen. Dies ist aber nicht unbedingt der Fall, wie einige behaupten. Die Gameten schwimmen bald frei in dem Blutplasma, bald kleben sie auf den roten Blutkörperchen, welche um dieselben eine Art Kapsel, die sich tief violett färbt, bilden. Eine eigene Umhüllung scheinen diese Parasiten nicht zu haben. Bisweilen

lassen sich die Halbmonde durch alkalische Methylenblaulösung und Eosin fast gleichmäßig violettrot färben; was sowohl für den Körper als für den Kern gilt. Eine solche Färbung könnte man auch der aus roten Blutkörperchen bestehenden Kapsel geben, aber das scheint uns nicht richtig zu sein, denn, wie wir unten anführen werden, nehmen eine solche Färbung auch die freien Gameten des *P. vivax* und selbst die großen Schizonten dieses Parasiten an. Wir sind im Gegenteil der Meinung, daß dieses Phänomen eher einer Diffusion des Kerns zuzuschreiben ist, da der Kern dieser auf solche Art sich färbenden Parasiten vom Protoplasma sich gar nicht unterscheidet.

Nachdem die halbmondförmigen Gameten sich im Blute des Menschen in männliche und weibliche abgesondert haben, verändern sie ihre Gestalt und werden eiförmig oder sphärisch. Indem wir diese Veränderung sehr häufig unter dem Mikroskop beobachteten, sahen wir, daß sich dieselbe bald sehr schnell innerhalb einer Minute, bald von 10 Minuten bis zu einer halben Stunde, vollzog. Wir folgten bei dieser Beobachtung vornehmlich der Methode von Manson, indem wir den Objektträger, auf den wir den zu untersuchenden Blutropfen taten, durch Hauchen anfeuchteten. Von diesen sphärischen Parasiten brachten nur die aus kurzen und dicken Halbmonden hervorgegangenen aus sich selbst kleine feine Geißeln hervor, welche ungefähr die fünffache Länge des Durchmessers eines roten Blutkörperchens hatten und sich lebhaft bewegten. Diese Bewegung dauerte gewöhnlich über eine halbe Stunde und dann hörte sie auf, oder die Geißeln trennten sich von dem Körper des Parasiten und verschwanden unter den Blutkörperchen.

Die aus halbmondförmigen hervorgegangenen sphärischen Parasiten stellen sicher Gameten in voller Reife und bereit zur geschlechtlichen Fortpflanzung dar, welche sich, wie bekannt, nur im Magen einiger Arten von *Anopheles* vollzieht.

Durch geringe Uebung kann man leicht zur Unterscheidung des Geschlechtes der abgerundeten Gameten kommen, nicht nur in dem frischen Blut aus den Geißeln, welche die männlichen entsenden, sondern auch in Trockenpräparaten, weil die weiblichen dem Volumen eines roten Blutkörperchens gleich sind, und ihr Protoplasma sich mehr oder weniger lebhaft blau färbt, da sie weiter einen kompakten Kern von mäßigem Volumen haben, der sich violettrot färbt, und Pigment besitzen, welches gewöhnlich um das Zentrum herum liegt. Die männlichen dagegen sind bezüglich des Volumens etwas kleiner als ein rotes Blutkörperchen, ihr Protoplasma färbt sich sehr hellblau bis grau, sie haben einen großen, sich rosa färbenden Kern, dessen Färbung im Zentrum lebhafter als an der Peripherie ist, außerdem Pigment, welches überall im Parasiten zerstreut ist. Die Gameten erscheinen, wie schon gesagt, in dem peripheren Blut gewöhnlich nach dem fünften oder sechsten Fieberanfall und besonders nach Verlauf einiger Tage beim Gebrauch von Chinin. Letzteres ist aber sicher nicht die Hauptursache für die Hervorbringung von Gameten, denn häufig beobachteten wir dieselben auch an Kranken, welche gar kein Chinin genommen hatten. Einmal fanden wir sogar Gameten nach dem zweiten Fieberanfall bei einer Frau, welche kein Chinin genommen und sonst niemals an Malaria gelitten hatte.

Vermehrung des *Praecox*. Die Vermehrung des *Praecox* geschieht auf verschiedene Weise. Bald durch typische Schizogonie, d. h. durch Teilung des Kerns der sphärischen Schizonten in eine Anzahl neuer kleiner Kerne, um jeden einzelnen von diesen sich eine geringe Proto-

plasmasubstanz anhäuft, und welche so neue kleine Parasiten, Merozoiten, ausmachen, die sich allmählich selbst zu sphärischen Parasiten ausbilden. Die Zahl der Merozoiten, in welche sich diese Parasiten teilen, schwankt gewöhnlich zwischen 7—12, bisweilen aber reicht sie aber auch bis 18. Sie bestehen aus Protoplasma und Chromatinkörperchen, umgeben von einem erkennbaren farblosen Hof. Meistens findet die typische Schizogonie in den inneren Organen und sogar in dem Knochenmark, wie viele beobachteten, statt, nichtsdestoweniger war sie aber auch in dem peripheren Blute nicht selten (Taf. 1, Fig. 16, 17, 18). Vor der Teilung des Kernes wachsen die sphärischen Schizonten, indem ihr Volumen gleich drei Vierteln oder dem ganzen Volumen des roten Blutkörperchens wird, ihre Pigmentkörnerchen aber häufen sich an irgend einem Punkt des Parasiten, im Zentrum oder an seiner Peripherie. Die neuen Kerne verbreiten sich nicht regelmäßig an der Peripherie, sondern überall im Körper, so daß die Teilung des Parasiten nicht die Form einer Rosette hat, welche so gewöhnlich bei den Parasiten der Quartana ist. Solche Schizogonie beobachteten wir nicht nur im Sommer oder im Herbst, sondern auch im Winter, selbst bei einem Kranken, der erst gegen Ende des Herbstes vom Fieber befallen wurde. Bald geschieht aber auch die Fortpflanzung durch unmittelbare Teilung des Ringförmigen, indem sich zuerst das Chromatinkörperchen teilt und dann der Körper des Ringes. Daß aber eine so durch Teilung hervorgegangene Vermehrung auf diese Weise geschieht, geht aus folgenden Erscheinungen hervor: 1) daß wir in vielen Fällen während aller Fieberstadien und auch während der Fieberlosigkeit nur ringförmige Formen in dem peripheren Blute fanden, 2) daß viele Ringe zwei kleine Kerne aufweisen, die fern voneinander liegen und 3) daß wir nicht selten auf roten Blutkörperchen Ringe mit zwei kleinen Kernen beobachteten, die (Ringe) in zwei Hälften geteilt sind, so daß sie aus zwei halbmondförmigen Teilen zu bestehen scheinen, welche aber klar voneinander geschieden sind. Laveran und Ziemann sind der Meinung, daß die Fortpflanzung der Parasiten auch durch Hervorwachsen von Sprossen aus der Peripherie der sphärischen Schizonten geschieht, welche sich darauf abtrennen. Das ist nicht unwahrscheinlich, da es Männer von der Kompetenz der angeführten Schriftsteller versichern. Sonst fanden wir selbst, daß sehr feine Parasiten vorhanden waren, welche aus feinem fadenförmigen Protoplasma bestehen, das sich lebhaft blau färbt und an dem einen seiner Enden ein kleines Chromatinkörperchen trägt. Diese strichförmigen Parasiten gleichen den feinen Auswüchsen der anormalen Schizonten sehr, es ist daher nicht ausgeschlossen, wie auch Silberstein meint, daß diese Malaria-parasiten sich durch Trennung dieser protoplasmatischen Auswüchse fortpflanzen sollen. Dies wird auch sehr wahrscheinlich durch den Umstand, daß bei vielen unregelmäßigen Schizonten 2 oder 3 feine Auswüchse vorhanden sind, die am freien Ende sehr deutlich ein kleines Chromatinkörperchen tragen. Daß die Fortpflanzung dieser Parasiten nicht immer durch typische Schizogonie geschieht, wird auch dadurch bewiesen, daß die Größe der meisten in sehr junglichem Alter befindlichen ringförmigen Parasiten, welche oft kaum $\frac{1}{25}$ des Volumens des roten Blutkörperchens erreichen, geringer als die der Merozoiten ist, und daß sie folglich nicht aus diesen entstehen können.

Warum aber diese ringförmigen Parasiten bald bis zur typischen Schizogonie gelangen, bald vorzeitig und atypisch sich teilen, wissen wir nicht, auch können wir nicht, gestützt auf unsere Beobachtungen, diese atypische Vermehrung mit den schwereren Formen der Perniciosa in Beziehung

bringen, in jedem Falle aber mit der Hinziehung der Fieberperiode; denn da die Teilung der Ringförmigen sich nicht in allen gleichzeitig, sondern successive vollzieht, so entstehen vielleicht fortwährend fiebererzeugende Substanzen, die auch zur Erhaltung des Fiebers dienen.

Der Parasit der sogenannten Aestivo-Autumnalfieber endigt nach wiederholter Vermehrung mit der Hervorbringung halbmondförmiger Gameten, also Parasiten, welche nach der allgemein geltenden Ansicht nicht durch Schizogonie im Blute des Menschen, sondern nur durch Befruchtung erzeugt werden können, welche letztere jedoch im Magen einiger *Anopheles*-Mücken vor sich geht. Einige Beobachtungen, die in letzter Zeit unsere Aufmerksamkeit erregten, überzeugen uns aber, daß die halbmondförmigen Gameten bisweilen auch jüngere Formen von Parasiten in dem Blute des Menschen erzeugen und so die Ursache zur Erzeugung von Fieberanfällen werden können. Wir bemerkten nämlich, daß bei einigen Kranken, welche nach einer Reihe von Fieberanfällen infolge von Chiningenusses viele Tage lang sich in vollständig fieberfreiem Zustand befanden, während dieser ganzen Zeit der Fieberlosigkeit trotz des unausgesetzten Chiningebrauches nur halbmondförmige Gameten vorhanden waren, welche 12 bis 20 Stunden vor dem Rezidiv sehr selten wurden oder gänzlich verschwanden; es erschienen aber statt ihrer bei dem neuen Anfall neue Formen ringförmiger Parasiten, welche sehr klein waren und meistens kaum dem $\frac{1}{25}$ -Volumen eines Blutkörperchens gleichkamen. Was müssen wir nun aus diesen Beobachtungen vermuten? Entweder, daß junge Parasiten vorhanden waren, welche dem vieltägigen Gebrauch des Chinins entgingen, sich in die inneren Organe flüchteten und bei gegebener Gelegenheit große Erzeugungskraft erwarben, oder daß eine neue Infektion stattfand. Aber wir können weder die eine noch die andere Hypothese annehmen, denn obwohl wir tagelang und noch wenige Stunden vor dem Eintritt des Fieberanfalles das Blut untersuchten, fanden wir auch nicht die geringste Spur vom Vorhandensein kleiner Parasiten, außer den halbmondförmigen Gameten. So kommen wir leider zu der Annahme, daß derartige Rezidive der Bildung junger Formen von Gameten zuschreiben sind. Für diese Ansicht spricht auch der allgemein bekannte Umstand, daß, so lange in dem Blute eines Kranken halbmondförmige Gameten vorhanden sind, die Fieber trotz aller Anwendung von Chinin rezidiv werden. Auf welche Weise geschieht nun das?

Grassi¹⁾ ist der Meinung, daß sich die halbmondförmigen Gameten in dem Blute des Menschen durch Parthenogenese vermehren, d. h. ohne Befruchtung durch Zweiteilung oder durch Sprossung. Diese Ansicht unterstützen auch Mannaberg und Ziemann. Einer solchen Vervielfältigung der halbmondförmigen Gameten schreibt Grassi die nach Wochen, ja selbst nach Monaten wiedererscheinenden Rezidive zu, denn er beobachtete, daß, je mehr sich die Wiederholung der Fieberanfälle näherte, die halbmondförmigen Gameten zahlreicher wurden, dann aber, wenn die Anfälle eintraten, sich verringerten und allmählich verschwanden, womit auch die Anfälle aufhörten. „In seltenen Fällen nur“, sagt er, „hörten auch nach dem Verschwinden derselben die Anfälle nicht auf“.

Daß die nach einiger Zeit eintretenden Rezidive in Beziehung zu dem Vorhandensein der halbmondförmigen Gameten stehen, darf nicht im geringsten bezweifelt werden. Ob aber diese Rezidive der Vervielfältigung der Gameten zuschreiben sind, darüber haben wir Grund, Zweifel zu hegen,

1) Die Malaria. 1901. p. 142—146.

da wir im Gegenteil, je näher die Zeit der Wiederholung der Anfälle rückte, Verminderung und oft Verschwinden der Halbmonde beobachteten. Wir neigen mehr zu der Annahme, daß die Rezidive dem Verschwinden der Halbmonde und ihrer Ersetzung durch den ringförmigen Parasiten zuzuschreiben ist. Derselben Meinung ist auch G. Maurer¹⁾, welcher wörtlich folgendes sagt: „Die Halbmonde können als solche wahrscheinlich längere Zeit unverändert im Blute leben, ohne daß wir bis jetzt wußten, welches ihre weiteren Schicksale sind. Es steht fest, daß bei Patienten, deren Blut ausschließlich Halbmonde beherbergt, von Zeit zu Zeit mehr oder weniger heftige Fieberanfälle eintreten, ohne daß irgend eine Regelmäßigkeit, ein Typus, dabei zu erkennen wäre. Untersuchen wir das Blut während solcher Perioden sehr aufmerksam, so werden wir stets mehr oder weniger zahlreiche kleine und große Ringe finden, welche sich in ihrem Aeußeren von dem aus Merozoiten sich entwickelnden Schizonten in nichts unterscheiden. Wenn nun tagelang vorher keine Schizonten, sondern nur Halbmonde im Blute gefunden werden konnten, wenn zugleich lange Zeit Chinin gegeben worden war, dem kein externer Schizont auf die Dauer widerstehen kann, so muß man notgedrungen annehmen, daß die plötzlich auftauchenden Schizonten nur aus den Halbmonden entstanden sein können, wenngleich man nicht im stande war, Tatsachen beizubringen, welche die Rolle der Gameten hierbei sofort erklärt hätten.

Da er bei einem solchen Kranken einen kolossalen Parasiten in vollständiger Schizogonie begriffen fand, hielt er ihn für einen Gameten, der sich in Schizogonie befindet.

Ob die Meinung Maurers über die Art der Entstehung jüngerer Formen aus den Halbmonden richtig ist oder nicht, darüber können wir kein Urteil abgeben. Einige Beobachtungen aber zeigen, daß es nicht unwahrscheinlich ist, daß sie durch Schizogonie geschieht, denn wir fanden bisweilen halbmondförmige oder eiförmige Gameten, welche das Pigment an einer Stelle aufgehäuft oder in eine Linie angeordnet hatten, und ihr Kern in 3 oder 4 Teile geteilt war (Taf. I, Fig. 22, 29). Bisweilen schien auch das Chromatin des Kernes aus unterscheidbaren Körperchen zu bestehen, welche in eine Reihe geordnet waren oder unvollständige Ringe bildeten, in deren Zentrum ein großes Chromatinkörperchen oder ein Pigmentkörperchen vorhanden war (Taf. I, Fig. 23, 24). Das Protoplasma dieser Gameten behält seine volle Lebensfähigkeit bei. Die Teilung oder Versprengung ihres Kernes in kleine Körnchen konnte man als Caryolyse betrachten, obwohl wegen der Lebensfähigkeit dieser Körnchen, welche sich sehr lebhaft färben, und des Protoplasmas, es nicht unmöglich ist, daß diese Teilung in Beziehung zu einer wahrscheinlichen Produktion von jungen Parasitenformen aus halbmondförmigen Gameten steht. Sonst bemerkten wir auch, daß die abgerundeten Gameten an einem Punkte ihrer Peripherie einen kurzen, dicken und zusammenziehbaren Sproß hervorbringen, der an seiner Basis sich verkleinernd von dem Parasiten getrennt wurde. Dann trennte sich ein anderer Sproß an deren Stelle auf dieselbe Weise. Nach der Abtrennung der Sprossen zog sich das Protoplasma des Parasiten zusammen und sein Volumen wurde kleiner, während sein Kern breiter und dünner wurde. Nach dem Abfallen der Sprossen entfärbten sich diese lebendigen Parasiten plötzlich vollständig, während sie vorher lebhaft blau gefärbt waren.

Da wir das Schicksal der abgetrennten Sprossen nicht verfolgen konn-

1) Die Malaria perniciosa. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. No. 10.)

ten, so können wir nicht sagen, ob sie sich in ringförmige Parasiten oder in etwas anderes verwandeln. Sei es nun, daß die Teilung durch Schizogonie, durch Sprossung oder auf beiderlei Weise geschieht, oder auch auf eine uns noch unbekannt Art, eins scheint unanfechtbar, daß die halbmondförmigen Gameten nicht nur zur geschlechtlichen Fortpflanzung im Magen der *Anopheles*-Mücken bestimmt sind, sondern auch in einigen Fällen zur Bildung junger Parasiten in dem Blute des Menschen.

Bis jetzt, soviel wir wenigstens wissen, nahm man an, ohne aber einen Beweis dafür zu haben, daß die Malariaparasiten während ihrer Teilung irgend welche Substanzen erzeugen, denen man den auf die Teilung der Parasiten folgenden Fieberanfall zuschreiben könnte. Unsere Beobachtung über die plötzliche Entfärbung der durch Methylenblau gefärbten lebenden Parasiten nach der Abtrennung der Sprossen zeigt deutlich, daß sich in diesem Falle eine saure Substanz erzeugt, welche fähig ist, den Parasiten zu entfärben; es ist auch nicht unmöglich, daß eine derartige Substanz auch während der Schizogonie erzeugt wird, und daß diese Substanz das unbekannt Toxin ist, welches die Fieberanfälle hervorruft. Leider wurde unsere Aufmerksamkeit erst in letzter Zeit auf diese Frage gelenkt, und konnten wir, da uns das Material fehlte, noch nicht zum Spezialstudium derselben schreiten.

Plasmodium vivax Grassi und Feletti. — *Plasmodium tertiana* Golgi.

Dieser Parasit zeigt sich im frischen Blut unter verschiedener Gestalt, nämlich: a) als kleine amöbenartige und lichte Körperchen, von denen die einen einige Pigmentkörperchen haben, andere derselben entbehren. b) Als große unregelmäßige Parasiten, welche pseudopodische Sprossen haben, also als unregelmäßige amöbenartige Schizonten. Diese Parasiten sind oft dreimal so groß als die roten Blutkörperchen, und tragen reichliche Pigmentkörperchen, die sich lebhaft bewegen. Einige von diesen Schizonten verwandeln sich allmählich in Sphären, welche sich nach 1—2 Stunden, nachdem man das Blut genommen hat, durch Schizogonie in eine Anzahl von Merozoiten teilen. Im Anfang dieser Teilung, d. h. zur Zeit der Teilung des Kernes, häuft sich das Pigment in irgend einem Punkte der Peripherie des Parasiten, ihre Bewegung verringert sich allmählich und hört endlich kurz vor der Trennung der Merozoiten ganz auf. c) Als große sphärische Parasiten, von welchen einige das doppelte Volumen des roten Blutkörperchens und mehr haben, den Kern an der Peripherie tragen und außerdem verstreutes Pigment von lebhafter Bewegung besitzen. Niemals sahen wir diese Parasiten sich teilen, noch Geißeln entsenden, und können wir dieselben als weibliche Gameten betrachten. Manche sind kleiner als die vorhergehenden, aber immer größer als das rote Blutkörperchen, sie tragen reichliches Pigment von sehr lebhafter Bewegung, das anfangs verstreut ist, dann aber sich kranzartig nach der Peripherie des Parasiten zu anordnet. In diesem Augenblick entsenden viele dieser Parasiten 3—4 Geißeln, welche die doppelte Länge des roten Blutkörperchens haben und sich sehr lebhaft bewegen. Nach Entsendung der Geißeln verstreut sich das Pigment wieder über den ganzen Parasiten. Diese verhältnismäßig kleinen sphärischen Parasiten sind männliche Gameten.

Alle diese Parasiten, die kleinen sowie die großen, sind meistens außerhalb der roten Blutkörperchen, d. h. sie schwimmen frei in dem Blutplasma.

Bei trockenen und gefärbten Präparaten zeigt sich dieser Parasit

bald in Gestalt von Ringen von verschiedener Größe, bald in Gestalt von unregelmäßigen Schizonten und endlich als große Sphären.

Indem man nun die Beziehung dieser gestaltlich verschiedenen Parasiten zu den verschiedenen Stadien des Fieberanfalles verfolgt, überzeugt man sich leicht davon, daß die ringförmigen beim Beginn der Fieberperiode erscheinen, während die unregelmäßigen Schizonten und die meisten Sphären gegen Mitte und Ende derselben auftreten. Während der Apyrexie aber verschwindet ein großer Teil dieser Parasiten und besonders der ringförmigen, an deren Stelle vor dem neuen Fieberanfall sphärische Parasiten auftreten, die sich in Schizogonie befinden, welche auch während des Fieberstadiums bisweilen in ihrer Tätigkeit fortduert.

Die Ringe erscheinen bald als regelmäßige, bald als unregelmäßige, deren Peripherie kompakt ist und sich tiefblau färbt, deren zentraler Teil aber durchsichtig und farblos ist. Alle haben jedoch ein Chromatinkörperchen, das bei den einen rund, bei den anderen eiförmig, und bei noch anderen ein bogenartig gekrümmtes Stäbchen ist. Gewöhnlich befindet sich dieses Chromatinkörperchen innerhalb der Peripherie in dem durchsichtigen Raum, sehr selten jedoch auch auf der Peripherie und aus derselben hervorragend. In seltenen Fällen hat es die Gestalt eines unvollständigen Ringes, der von dem Körper des Parasiten abgetrennt zu sein scheint, mit dem es jedoch durch eine oft sehr feine protoplasmatische Brücke verbunden ist. Das Volumen der Ringe ist anfangs sehr gering und übersteigt bisweilen nicht $\frac{1}{20}$ des Volumens des roten Blutkörperchens, allmählich aber wächst ihr Volumen. Dieses Wachsen ist zurückzuführen einerseits auf die Vergrößerung des durchsichtigen Raumes, andererseits auf die Verdickung des ringförmigen Protoplasmas, das sich allmählich verdickt und verbreitert und, anormal geworden, den ringförmigen Parasiten in einen anormalen Schizonten verwandelt. Diese Schizonten nun erscheinen unter mannigfaltiger Gestalt, alle entsenden aus ihrer Peripherie kurze Sprossen und umschließen einen durchsichtigen Raum, der sehr große Chromatinkörperchen enthält, die größten von ihnen tragen auch verstreutes feines Pigment. Es ziehen diese Schizonten, welche noch junge in vollständig amöboider Bewegung befindliche Parasiten sind, bei vorrückendem Alter ihre Sprossen ein, verlieren ihre lebhaftige Bewegung und verwandeln sich in sphärische Schizonten, die bereit sind, sich durch Schizogonie zu vermehren. Die so entstandenen sphärischen Parasiten besitzen ein großes Volumen und füllen das oft um das Vierfache vergrößerte rote Blutkörperchen fast ganz aus, dessen unbedeckt bleibender Teil blaß ist und die Schüffnersche Tüpfelung zeigt. Die Peripherie der sphärischen Schizonten ist sehr selten regelmäßig, ihr Kern ist rund und liegt gewöhnlich im Zentrum des Parasiten. Er besteht aber nicht mehr aus Chromatin, umgeben von einem durchsichtigen Hofe, sondern färbt sich ganz violettrot. Der Körper dieser sphärischen Schizonten färbt sich lebhaft blau und trägt reichliche Pigmentkörperchen, welche gewöhnlich sehr klein, manchmal aber auch groß und stabförmig sind. Die Farbe dieses Pigments ist mehr braun als schwarz; sobald die Schizogonie beginnt, häuft es sich entweder im Zentrum oder an einem Punkt der Peripherie. Die Merozoiten, von denen sich die sphärischen Parasiten abtrennen, liegen unordentlich angeordnet und geben ihnen bisweilen das Aussehen einer Maulbeere. Die aus einem Parasiten erzeugten Merozoiten belaufen sich gewöhnlich auf 16; sie bestehen aus einem groben Chromatinkörperchen, das von einem durchsichtigen schmalen Hofe umgeben ist, den das Protoplasma umgibt, welches bezüglich des Volumens

dieses Körperchens ziemlich dick ist. Sobald die Merozoiten frei geworden sind, nehmen sie schnell die ringförmige Gestalt an, indem der durchsichtige Hof sich durch das Wachsen des Kernplasmas vergrößert, welches das Chromatin bis zur Peripherie des Parasiten schiebt.

Eine solche ist die normale Entwicklung des Parasiten des Tertiana-fiebers, wie wir sie in dem peripheren Blute studieren konnten, in welchem wir mittlere Formen von den Merozoiten fanden, die sehr kleine Sphären bildeten, bis zu den verschiedenen Größen der ringförmigen und verschiedenartig gestalteten Schizonten, welche den Uebergang der einen in die anderen klar zeigen. Es scheint jedoch, daß auch hier, wie bei dem *Praecox*, die ringförmigen Parasiten sich bisweilen sogleich und schnell teilen, indem sie sich nicht zu Sphären entwickeln, denn wir fanden während des Fieberanfalles auch Ringe mit 2 oder 3 voneinander entfernt liegenden Chromatinkörperchen, was wir nicht für einen Zufall halten, sondern es wird dadurch die sofortige und schleunige Teilung der Ringe erklärt. Die Teilung der Chromatinkörperchen geschieht durch Dichotomie, welche sich zuerst als ein tiefer Einschnitt in die Mitte derselben zeigt, der dasselbe allmählich in 2 Teile teilt, sonst verschmälert sich das Chromatin in der Mitte und, dann trennt es sich ab. Es ist daher keineswegs unwahrscheinlich, daß auf einer solchen sofortigen und schleunigen Teilung der ringförmigen Parasiten die bisweilen vielstündige Verlängerung des Fieberstadiums beruht. *Plasmodium vivax* entwickelt sich wie *P. praecox* auf zwei Arten, indem es einerseits zur Fortpflanzung durch typische oder atypische Schizogonie, andererseits zur Erzeugung von Gameten schreitet. Es sind dies aber sehr große Parasiten, die einen Kern und gewöhnlich verstreute schwarze oder graue Pigmentkörperchen enthalten, letztere springen bei frischen Präparaten sehr lebhaft. Sie werden auch im menschlichen Blute in männliche und weibliche Gameten unterschieden, welche sowohl durch ihr Volumen als auch durch die Stellung und das Volumen des Kernes voneinander verschieden sind, ferner auch durch die Menge des Pigments. Die männlichen Gameten sind kleiner als die weiblichen, sie füllen ungefähr $\frac{2}{3}$ des kaum um das Doppelte vergrößerten roten Blutkörperchens, und haben einen großen Kern, der zum großen Teil den Körper des Parasiten ausfüllt, welcher ihn wie ein Ring umgibt, sich hellblau färbt und reichliches Pigment trägt. Die weiblichen Gameten dagegen sind größer als die vorhergehenden, sie füllen meistens das Volumen des um das Vierfache gewachsenen roten Blutkörperchens aus. Ihr Körper färbt sich bald tief-, bald hellblau und trägt sehr dünnes verstreutes Pigment. Ihr Kern ist verhältnismäßig kleiner als der der männlichen Gameten und liegt an der Peripherie des Parasiten, über die er oft hinausragt. Diese periphere Lage des Kernes und sein geringes Volumen bei diesen Gameten ist wahrscheinlich ein analoges Phänomen, welches auch bei der Reifung der Eier der Metazoen stattfindet, wobei der Kern an die Peripherie versetzt wird und von ihm sich Teile abtrennen, welche mit einem Teil des Protoplasmas von dem Ei scheiden, und die sogenannten Polarkörperchen bilden, nach deren Abfall die Eier schon zur Befruchtung bereit sind. C. Schaudinn¹⁾ bemerkte, daß die Makrogameten oder weiblichen Gameten der Coccidien und besonders des *Coccidium Schubergi*, einen Reduktionsprozeß ihres Volumens erleiden, indem ein Teil des Chromatins abgeworfen wird.

1) Untersuchungen über den Generationswechsel der Coccidien. (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. XIII. 1900. p. 197—292. Taf. 13—16.)

Nach Schaudinn geschieht das Phänomen der Abwerfung eines Teiles des Chromatins durch Zusammenziehung des Protoplasmas auf dem Kern, aus dem das Karyosom stückweise abgedrückt ist. Diese Stücke werden infolge gleicher Zusammenziehungen des Protoplasmas durch die Oberfläche des Makrogameten nach außen abgeworfen und zwar gewöhnlich durch die ganze Oberfläche, wenn der ganze Makrogamet vom Mikrogameten umgeben ist, manchmal aber auch nur durch einen Teil derselben, wenn die Mikrogameten sich nur an dieser Stelle anhäufen und an dieser Stelle in den Makrogameten einzudringen suchen. Schaudinn nimmt nun an, daß sich aus diesen Karyosomstücken eine chemische Substanz ausscheidet, welche auf die Makrogameten eine anziehende Wirkung ausübt, wie bei den Prothallien der Farnkräuter die aus den Archegonien ausgeschiedene Apfelsäure auf die Spermatozoiden.

Bei den weiblichen Gameten von *Vivax* fanden wir bisweilen 2—3 Chromatinkörperchen, welche peripherisch neben dem Kern, aber getrennt neben ihm lagen. Wir glauben, daß dieses Phänomen dem von Schaudinn beschriebenen ähnlich ist und Beziehung zum Reifen des Parasiten hat. Diese aus dem Kern abgeworfenen Körperchen verschwinden schnell, dadurch, daß sie wahrscheinlich aus dem Protoplasma entfernt werden, und deshalb hat man selten Gelegenheit, sie zu beobachten.

Die Makrogameten können leicht mit den großen sphärischen Schizonten verwechselt werden, welche das Volumen eines um das Drei- bis Vierfache angeschwollenen roten Blutkörperchens ausfüllen, aber diese sind selten regelmäßig rund, sind sie es aber, dann haben sie gewöhnlich ihren Kern schon geteilt, d. h. sind schon zur Fortpflanzung durch Schizogonie vorbereitet. Die Unterscheidung der Gameten von den sphärischen Schizonten, welche viele Verfasser gewöhnlich machen, indem sie sich auf das Volumen der Pigmentkörperchen stützen, halten wir nicht für absolut richtig, denn wir beobachteten bisweilen Schizonten, welche dicke stabartige Pigmentkörperchen besaßen, hingegen trugen die Gameten sehr feines Pigment. Sowohl die männlichen wie die weiblichen Gameten sind unabhängig von ihrem Volumen regelmäßig rund, ihre Peripherie ist glatt und regelmäßig, und niemals haben sie einen geteilten Kern.

Die Gameten erscheinen gewöhnlich nach mehreren Fieberanfällen oder nach Aussetzen des Fiebers infolge des Genusses von Chinin, sehr selten aber nach dem zweiten oder dritten Anfall. Sowohl die Gameten als auch die Schizonten jedes Volumens fanden wir bald auf den roten Blutkörperchen angeheftet, bald frei in dem Blutplasma. Nicht selten färben sich Gameten und Schizonten, sowohl ihr Körper als auch ihr Kern, wenn sie noch frei sind, fast gleichmäßig violett.

Das *Plasmodium vivax* ruft gewöhnlich einfache oder doppelte Tertiana hervor, aber nur ausnahmsweise Kontinualfieber. Auch während der drei Epidemien der Jahre 1901, 1902 und 1903 fanden wir, daß die dem *P. vivax* zu verdankende leichte Tertiana primär, parallel der Perniciosa, die dem *Praecox* zu verdanken ist, sich in den Sommermonaten, besonders im Juli und August, entwickelt, ihr häufigstes Erscheinen aber fällt in den August.

Die während dieser Zeit entstandenen Fieberanfälle der Tertiana werden entweder schnell und bestimmt durch den Gebrauch von Chinin geheilt oder werden im Winter und Frühjahr rezidiv. Die Rezidive sind im Monat Mai viel häufiger, aber sie haben nicht als unmittelbare Folge das Eintreten einer Epidemie, wie wir im verflossenen Jahre (1904) beobach-

teten, in dem die Frühlingsrezidive sehr häufig waren, ihnen aber im Sommer keine Epidemie folgte.

Primäre Fieberanfälle, die durch das *Plasmodium vivax* hervorgerufen werden, beobachteten wir nur im Mai, aber nicht in den übrigen Monaten des Frühjahrs oder im Winter. Wir können also sagen, daß die leichte durch das *P. vivax* hervorgerufene Tertiana im Frühling und im Winter allesamt fast als sekundär und rezidivierend zu betrachten ist, im Sommer aber und im Herbst meistens noch als primär.

Billet¹⁾, der alle vom *Plasmodium vivax* herrührenden Fieberarten, in welcher Periode sie auch erscheinen mögen, als einfache Rezidive betrachtet, behauptet, dieser Parasit sei eine einfache Entwicklung des *P. praecox*, welches sich im Winter und Frühling in das *P. vivax* verwandle. Einen Unterschied macht er nur zwischen dem *P. vivax* und dem *Plasmodium quartana*, welche er zwar als voneinander verschiedene Gattungen, aber als von demselben Vater, dem *P. praecox* herstammend, betrachtet. Diese seine Meinung stützt er auf die unmittelbare Beobachtung, daß er eine solche Verwandlung des *Praecox* bei 20 Kranken verfolgte. Auch wir beobachteten Kranke, in deren Blut es sich bei oberflächlicher Untersuchung zeigte, daß das *P. praecox* sich allmählich, je mehr wir uns dem Winter näherten, in das *P. vivax* verwandelte, auch auch andere Kranke, bei denen sich im Herbst das *P. vivax* in das *P. praecox* zu verwandeln schien. Aufmerksame Beobachtung überzeugte uns aber, daß es sich in diesen Fällen nicht um eine wirkliche Umwandlung handelte, sondern einfach um eine gemischte Infektion, welche übrigens auch leicht zu verstehen ist, da wir während derselben Zeitperiode und in derselben epidemischen Zone Fieberkranke fanden, von denen die einen vom *P. praecox*, die anderen vom *P. vivax* infiziert waren. Die gemischte Infektion ist nicht selten, wie ja auch viele andere bemerkten, aber sehr selten ist die gleichzeitige Infektion durch beide Parasiten. Dieser Umstand, der gewiß ganz zufällig ist, hat große Bedeutung, denn man beobachtet gewöhnlich, daß, wenn der zweite Infektionsparasit im Blute sich zu vermehren beginnt, der erste allmählich verschwindet, und man daher annehmen kann, daß er sich in den zweiten verwandelt. Besonders kann der Irrtum in den Fällen leicht entstehen, wenn sich im Blute neben das *P. vivax* auch halbmondförmige Gameten vorfinden. Die Gameten haben allgemein große Ausdauer, sie erhalten sich sehr lange Zeit auch nach dem Verschwinden der übrigen Formen des *P. praecox*, und bisweilen kann man bei durch *P. vivax* geschehener Infektion, wenn man das Blut des Patienten untersucht, annehmen, daß das *P. praecox* sich allmählich in das *P. vivax* verwandelt.

Bei der ohne Voreingenommenheit vorgenommenen Prüfung vieler Kranken sahen wir, daß das *P. vivax*, d. h. wie die französischen Schriftsteller sagen, die große Form des Malariaplasmodiums, nicht allein bei den veralteten Fiebern, d. h. bei den Rezidiven erscheint, sondern auch bei primären, von den ersten Anfällen an. Aber immer fanden wir außer den verhältnismäßig seltenen Fällen der unanfechtbaren gemischten Infektionen sowohl während der primären Anfälle als auch bei den Rezidiven in dem Blute derselben Kranken dieselben Typen des großen Parasiten, wir fanden aber nichts, was zu der Anschauung hätte führen können, daß diese Typen aus Veränderungen des *P. praecox* hervorgegangen wären. Wir sind also absolut davon überzeugt, gestützt

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVI. 1902. Mars.

sowohl auf klinische Beobachtungen als auf mikroskopische Untersuchungen des Blutes, daß *P. vivax* und *P. praecox* zwei voneinander verschiedene Parasiten sind, welche sich zwar nicht ineinander verwandeln, wohl aber in einigen Fällen sich in dem Blute desselben Patienten parallel entwickeln können.

Es unterscheiden sich diese Parasiten nicht nur durch die Größe und nicht nur durch die Größe des sie beherbergenden Blutkörperchens, sondern auch durch die Gameten, welche sie erzeugen. Denn das *P. vivax* erzeugt, sei es in primären, sei es in rezidiven Fieberanfällen, immer runde Gameten, das *P. praecox* dagegen, auch wenn es sich nicht zu kleinen sphärischen Schizonten entwickelt hat, sondern alle Fieberstadien unter dem Typus der ringförmigen durchläuft, immer nur halbmondförmige Gameten.

Plasmodium malariae. — *Plasmodium* var. *quartana* Golgi.

Die Quartana ist sehr selten in Athen. Während des ganzen Zeitraumes von der ersten Epidemie des Jahres 1901 bis zum Ende des Jahres 1904 beobachteten wir nur einen einzigen Fall von Quartana bei einem 7-jährigen Mädchen in Athen. Aber auch in den übrigen Teilen Griechenlands scheint dieser Typus sehr selten zu sein, denn während wir eine große Anzahl von Malariapatienten in den letzten 2 Jahren aus den Provinzen nach Athen kommen sahen, fanden wir nur bei 7 Patienten das *Plasmodium malariae*.

Aus diesen wenigen Fällen geht hervor, daß dieses Fieber bei uns zuerst im Sommer oder Herbst bald als unregelmäßiger Typus, bald als tertian oder quotidian erscheint, der nach Verlauf eines oft sehr langen Zeitraumes den deutlichen Quartanotypus annimmt. Besonders geschieht das bei den im Winter vorkommenden Anfällen. Er ist aber immer, er mag sich zuerst während des Sommers oder während des Herbstes entwickeln, von sehr langer Dauer. So dauerten z. B. die Anfälle bei dem leidenden Mädchen in Athen, das in der epidemischen Zone wohnte, vom Sommer des Jahres 1901 bis zum Juni 1904, trotz aller Anwendung von Chinin, die während dieses ganzen Zeitraumes statthatte. Das Fieber befällt Patienten ohne Unterschied jedes Alters und hat immer einen guten Ausgang; alle unsere Fälle wurden geheilt, obwohl die Patienten unregelmäßigen und ungenügenden Gebrauch von Chinin machten. In dem Blute aller dieser Patienten, die am Quartanotypus litten, fanden wir das *Plasmodium malariae*.

Dieser Parasit erscheint in dem Blute der peripheren Zirkulation unter verschiedenen Gestalten; nämlich: 1) in der ringförmigen Gestalt. 2) als bandförmige oder anormale Schizonten, und 3) als sphärische Parasiten.

Die ringförmigen Parasiten sind hier nicht so reichlich, wie bei den vorhergehenden Typen, sie bestehen aus verhältnismäßig dickem kreisförmigen Protoplasma und einem großen Chromatinkörperchen, welches gewöhnlich innerhalb der Peripherie liegt. Dieses Körperchen ist gewöhnlich in zwei Teile geteilt. Die Ringe haben ungefähr die Größe von $\frac{1}{4}$, bis $\frac{1}{6}$ des Volumens des roten Blutkörperchens. Die größeren Ringe sind gewöhnlich anormal und dick und einige haben einen sehr langen lanzenförmigen Auswuchs.

Die Schizonten haben teils eine knüttelförmige, teils bandförmige und teils sphärische oder anormale Gestalt. Die vorherrschendere und charakteristischere Gestalt, in der sie erscheinen, ist die bandförmige. Alle

Schizonten haben einen kompakten Kern, von eiförmiger, oft länglicher Form, der nicht von einem durchsichtigen Hof umgeben ist. Er liegt gewöhnlich am Rande des Parasiten und ragt darüber hinaus. Bisweilen ist der Kern bandförmig, beginnt an dem einen Ende des Parasiten und endigt, auf der Längsachse desselben sich hinstreckend, ungefähr im Zentrum desselben. Außer dem Kern tragen sie auch reichlich feine Pigmentkörperchen, die bei einigen verstreut liegen, bei anderen aber, was gewöhnlicher ist, sich an einem Punkt anhäufen und auf der ganzen Länge der Lippe des Parasiten liegen.

Die Größe der Schizonten ist ungefähr $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ des Volumens des roten Blutkörperchens, ihr Körper färbt sich schön himmelblau, ihr Kern prächtig rot. Die roten Blutkörperchen, welche sie beherbergen, bewahren ihr natürliches Volumen und ihre Farbe. Bisweilen bemerkt man bei einigen von ihnen vereinzelt Tüpfelung Schüffner, bei anderen die Punktierung Plehn.

Die sphärischen Parasiten sind bald Schizonten, bald Gameten.

Die Größe der sphärischen Schizonten ist etwas kleiner oder höchstens gleich der des roten Blutkörperchens. Sie haben einen umfangreichen Kern und reichliches Pigment, welches fast sämtlich an der Peripherie des Parasiten angebracht ist. Das Protoplasma dieser Parasiten färbt sich hellblau, der Kern schön rot. Die größeren von diesen Schizonten tragen 3—4 Kerne; bei diesen liegt das Pigment zwar noch an der Peripherie, aber in getrennten Anhäufungen und nicht in fortlaufender Reihe. Allmählich erliegen diese Schizonten einer vollständigen Schizogonie, indem sie sich in 6—12 Teile trennen, nämlich Merozoiten, deren Gestalt birnenförmig ist. Sie haben alle ihre Spitzen nach dem Zentrum zugewandt, wo jetzt das Pigment angehäuft ist, indem sie dem Parasiten die Form einer sehr charakteristischen Rosette geben. Diese Merozoiten bestehen aus einer kleinen Quantität Protoplasma und einem Kern, der ihre Basis haubenartig umgibt und sich dunkelrot färbt, während das Protoplasma eine leicht grüne Farbe annimmt. Bei den vollständig abgetrennten und frei gewordenen Merozoiten ist der Kern kompakt, legt sich an den Rand des Parasiten und färbt sich dunkelrot, während das Protoplasma dunkelblau wird.

Die roten Blutkörperchen, auf denen sich gewöhnlich die Schizogonie vollzieht, sind meistens kleiner als die übrigen physiologischen Blutkörperchen und färben sich intensiver rot als diese.

Die Gameten dieses Parasiten zeigen sich als regelmäßige Sphären, welche aber etwas größer als die sphärischen Schizonten sind, da ihre Größe bedeutender als die der roten Blutkörperchen ist. Sie umschließen einen sehr großen Kern, welcher bei dem männlichen innerhalb des Parasiten liegt und sich von dem einen Teil der Peripherie bis zu dem ihm gegenüberliegenden Teil derselben erstreckt, indem er so diesen sphärischen Parasiten halbiert, bei dem weiblichen aber an einem Punkt der Peripherie, über die er ein wenig hervorragt. Das Pigment ist bei beiden Arten von Gameten, den weiblichen und männlichen, verstreut und größer an Volumen als bei den sphärischen Schizonten, immer aber reichlicher bei den männlichen als bei den weiblichen.

Die Gameten unterscheiden sich von den sphärischen Schizonten durch ihr Volumen sowohl als auch durch das Volumen und die Anordnung des Pigments, welches letztere bei den Gameten verstreut ist, bei den Schizonten aber kranzartig an der Peripherie.

Indem wir die Entwicklung dieses Parasiten in dem peripherischen

Blute unserer Kranken verfolgten, fanden wir, daß während der ganzen Peroide der Apyrexie der Gestalt nach verschiedene Parasiten vorhanden waren, nämlich bandförmige, konische und sphärische Schizonten und sphärische Gameten. Zwölf Stunden vor dem Fieberanfall existierten außer den oben angeführten auch einige seltene sphärische Parasiten, welche sich in Schizogonie befanden. Aber $2\frac{1}{2}$ —3 Stunden vor dem Fieberanfall erschienen in dem Blute einige seltene Ringe, meistens klein und gewöhnlich $\frac{1}{14}$ des Volumens des roten Blutkörperchens nicht übersteigend, von denen einige paarweise durch eine protoplasmatische Brücke vereinigt waren. Je näher der Anfall kam, und während desselben wurden diese Ringe zahlreicher, größer an Volumen und dicker, während die übrigen Typen außer den sphärischen Gameten und einigen in Schizogonie befindlichen sphärischen Parasiten allmählich verschwanden, derart, daß 4 Stunden nach Eintritt des Frostes nur noch Ringe von $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$ der Größe des roten Blutkörperchens und einige in Schizogonie befindliche Parasiten vorhanden waren.

Diese Beobachtung, welche durch wiederholte Untersuchungen als richtig bewiesen wurde, führt uns zu dem Schluß, daß auch die Entwicklung dieses Parasiten der beiden vorhergehenden ähnlich ist; daß nämlich aus den Merozoiten sich Ringe entwickeln, und aus diesen allmählich alle übrigen Typen, unter welchen während der verschiedenen Stadien des Anfalles der Parasit der Quartana anwesend ist. Es scheint sich auch hier außer um die durch typische Schizogonie hervorgerufene Fortpflanzung noch um eine andere direkte Art der Erzeugung von Ringförmigen zu handeln, welche der schnellen Teilung dieser zu verdanken ist, denn wir fanden viele Ringförmige, welche 2—3 Chromatinkörperchen trugen und andere, welche durch eine feine protoplasmatische Brücke paarweise verbunden waren.

Färbung der Malariaparasiten.

Alle Färbemethoden, welche in der Mischung einer alkalischen Lösung von Methyleneblau mit einer Eosinlösung entstehen, färben die Kerne der Malariaparasiten violettrot, ihre Körper blau, aber sie geben nicht immer konstante und gleichmäßige Resultate, einige von ihnen sind sogar sehr verwickelt. Aber sehr schwer färben sich jedenfalls fast bei allen diesen Methoden die Kerne der Halbmondförmigen, besonders wenn die Blutpräparate alt sind. Wir fanden, daß es zur konstanten und erfolgreichen Färbung der Kerne aller Malariaparasiten im höchsten Grade beitrug, wenn dem alkalischen Methyleneblau vor seiner Mischung mit dem Eosin eine Quantität einer 1-proz. Lösung einfachen Methyleneblaus zugesetzt wurde, welches anscheinend die Färbekraft der roten Farbe verstärkt und als Beize dient, denn vor 2 Jahren gefärbte Präparate behalten noch sehr gut ihre Färbung.

Aber dieses Zusetzen von einfachem Methyleneblau genügt nicht zur Erzielung von konstanten Resultaten, welche wir mit dieser Methode immer hatten, sondern es ist auch erforderlich, daß die Eosinlösung sehr frisch ist.

Eine andere Bedingung endlich für das Gelingen der Färbung ist, daß bei der Mischung der verschiedenen Lösungen die richtige Analogie eingehalten wird.

Wir machen folgende 3 Lösungen: 1) Auflösung von 1-proz. Methyleneblau Höchst mit 0,30 Natrum carbonicum. Diese Lösung stellen wir 2—3 Tage in einen Ofen bei konstanter Wärme von 55° zur Reife oder

lassen sie in der Temperatur des Zimmers 1—2 Monate stehen. Diese Lösung färbt, wie sie auch gereift sein mag, um so schöner, je älter sie ist. 2) Lösung von 1-proz. Methylenblau Höchst. 3) Lösung von 1-prom. Eosin BA extra Höchst.

Zur Färbung nehmen wir von der ersten Lösung 3 ccm, von der zweiten 1 ccm und von der dritten 10 ccm und tun sie getrennt in reine Glasgefäße. Darauf verdünnen wir jede dieser Flüssigkeiten mit 10 ccm destillierten Wassers und mischen sie schnell, wie folgt: Wir schütten zuerst 3—4mal die beiden Blaulösungen aus dem einen Gefäß in das andere dann gießen wir diese Mischung in die verdünnte Eosinlösung und das Ganze in eine Glasschale, in welche wir vorher die Objektträger gestellt haben, die auf ihrer einen Seite die Schicht des zu untersuchenden Blutes tragen.

Diese Blutpräparate tun wir gewöhnlich in eine flache Schale und zwar so, daß sie sich mit ihrem einen Ende auf einen feinen Glasstab stützen, der in der Schale liegt und mit dem anderen Ende auf den Boden des Gefäßes. Auf diese Weise bleibt zwischen der das Blut tragenden Oberfläche des Objektträgers und dem Boden des Gefäßes genügend Raum zur Zirkulation der zur Färbung dienenden Flüssigkeit.

In dieser Färbeflüssigkeit lassen wir das Blutpräparat eine Viertelstunde lang, eine Erwärmung der ersteren dabei ist ganz überflüssig. Dann nehmen wir sie heraus und waschen sie, indem wir sie unter einen Wasserhahn halten, aus dem wir gewöhnliches Wasser mit aller Gewalt über die Oberfläche des Präparates strömen lassen, auf welcher sich das Blut befindet. Darauf waschen wir es mit destilliertem Wasser und lassen es zur Abwehr des Staubes unter einer Glasglocke an der Luft trocknen.

Durch dieses Waschen werden die Präparate von jeglichem Niederschlag gereinigt, aber nicht immer. Deswegen verfahren wir gewöhnlich folgendermaßen: Während wir die Waschung unter dem Wasserhahn vornehmen, reiben wir die Oberfläche, auf welcher sich die Blutschicht befindet, einige Sekunden leicht mit dem Zeigefinger. Durch dieses Reiben wird das Blutpräparat von jeder Spur von Niederschlag befreit und sehr rein, die Blutschicht erleidet dadurch aber keinen Schaden. Nur wenn sie sehr dick oder sehr frisch ist, können durch das Reiben einige Blutkörperchen entfernt werden. Darum fixieren und färben wir für unsere histologischen Untersuchungen das Blut lieber einen oder mehrere Tage nach der Entnahme desselben, damit es, gut getrocknet, besser auf dem Glase haftet, worauf dann das Reiben nur reinigt, aber das Präparat nicht im geringsten schädigt. Die alten Präparate, welche eben fixiert wurden, halten auch sehr starkes Reiben aus, ohne das auch nur ein Blutkörperchen entfernt wird, wenn nur die Blutschicht nicht zu dick ist.

Wir empfehlen daher diese Art der Reinigung der Präparate, die uns immer die besten Resultate lieferte, warm, weil sie von jeglichem Niederschlag, dessen Vorhandensein die Untersuchung und das Studium des Malariaplasmodiums oft sehr erschweren kann, befreit. Bei dieser Färbung und dieser Art des Waschens wurde keine Ueberfärbung beobachtet, wenn eine solche aber jemals eintreten sollte, so wird diese ohne Schaden beseitigt, wenn wir das Präparat eine Sekunde lang mit Alkohol (96-proz.) oder mit der Flüssigkeit Zettnow (Methylenblau 1 g, destilliertes Wasser 200 ccm, Essigsäure $\frac{1}{2}$ ccm), welche durch die dreifache Quantität destillierten Wassers verdünnt ist, 2—3 Sekunden lang waschen.

Wir müssen dazu bemerken, daß die Färbekraft der Mischung, die

wir benutzten, durch das Färben der ersten Präparate nicht erschöpft ist, und wir können darin viele derartige hintereinander mit den besten Resultaten färben, sogar noch nach Verlauf von 24 Stunden.

Die Färbung gelingt immer, mit welcher Flüssigkeit auch die Fixierung der Blutschicht geschehen sein mag. Gewöhnlich verwenden wir zur Befestigung eine von den folgenden Flüssigkeiten, nämlich:

1) eine Mischung von gleichen Teilen von Alkohol und Aether 15 bis 20 Minuten lang,

2) absoluten Alkohol 20 Minuten lang,

3) Formalin nach Reuter (10 Teile Formalin und 90 Teile absoluten Alkohol). In dieser Flüssigkeit lassen wir die Präparate nur einige Sekunden lang und dann waschen wir sie sogleich mit reichlichem destillierten Wasser.

Wir empfehlen es warm, daß die Fixierung der Blutschicht sobald als möglich geschehe und wenn möglich kurz vor der Färbung, denn sonst kann dieselbe mißlingen. Die Zeit der Entnahme des Blutes hat keine große Bedeutung in Bezug auf das Gelingen der Färbung. Immer aber ist die Färbung des Parasiten bei soeben entnommenem Blut lebhafter.

Alle Formen der Malaria Parasiten färben sich in trockenen Präparaten durch diese Methode, indem sich ihr Körper blau von verschiedener Intensivität und ihr Kern violettrot färbt. Bei den ringförmigen aber färbt sich nicht der ganze Kern, sondern nur das Chromatinkörperchen.

Lebhafter färben sich die Malaria Parasiten in Präparaten, welche durch absoluten Alkohol fixiert sind.

Wir können dann auch die Malaria Parasiten lebendig in frischem Blute färben. Zu diesem Zweck tun wir folgendes:

Wir stellen Objektträger $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang in die Färbemischung und waschen sie darauf gut in gewöhnlichem und dann in destilliertem Wasser. Durch dieses Waschen wird die blaue Farbe entfernt und es bleiben die Platten dunkelvioletrot gefärbt, welche wir nun so präpariert aufbewahren, indem wir sie in Fließpapier einwickeln. Zur Färbung des frischen Blutes tun wir einen Tropfen desselben auf einen der so präparierten Objektträger, breiten ihn durch Darauflegen eines Deckgläschens aus, dessen Ränder wir mit Paraffin abschließen. Nachdem das geschehen ist, reinigen wir die entgegengesetzte Oberfläche des Objektträgers durch einen nassen Lappen von der Farbe.

Durch diese Art der Färbung färbt sich das Protoplasma der ringförmigen Parasiten entweder gar nicht, wie das der ringförmigen des *Praecox*, oder schwach, indem es von blau nach grau spielt; das Chromatinkörperchen färbt sich immer, indem es rostfarben wird. Die Schizonten färben sich leicht blau, ihr Kern aber violett. Die halbmondförmigen Gameten färben sich lebhaft blau, ihr Kern jedoch bleibt ungefärbt. Um diese bildet das rote Blutkörperchen eine Art farbloser Hülle.

Bei der Färbung der Parasiten in frischem Blut bewegt sich das Pigment in den Schizonten und den sphärischen Gameten lebhaft, bei den halbmondförmigen Gameten bleibt es unbeweglich.

! Tafelerklärung.

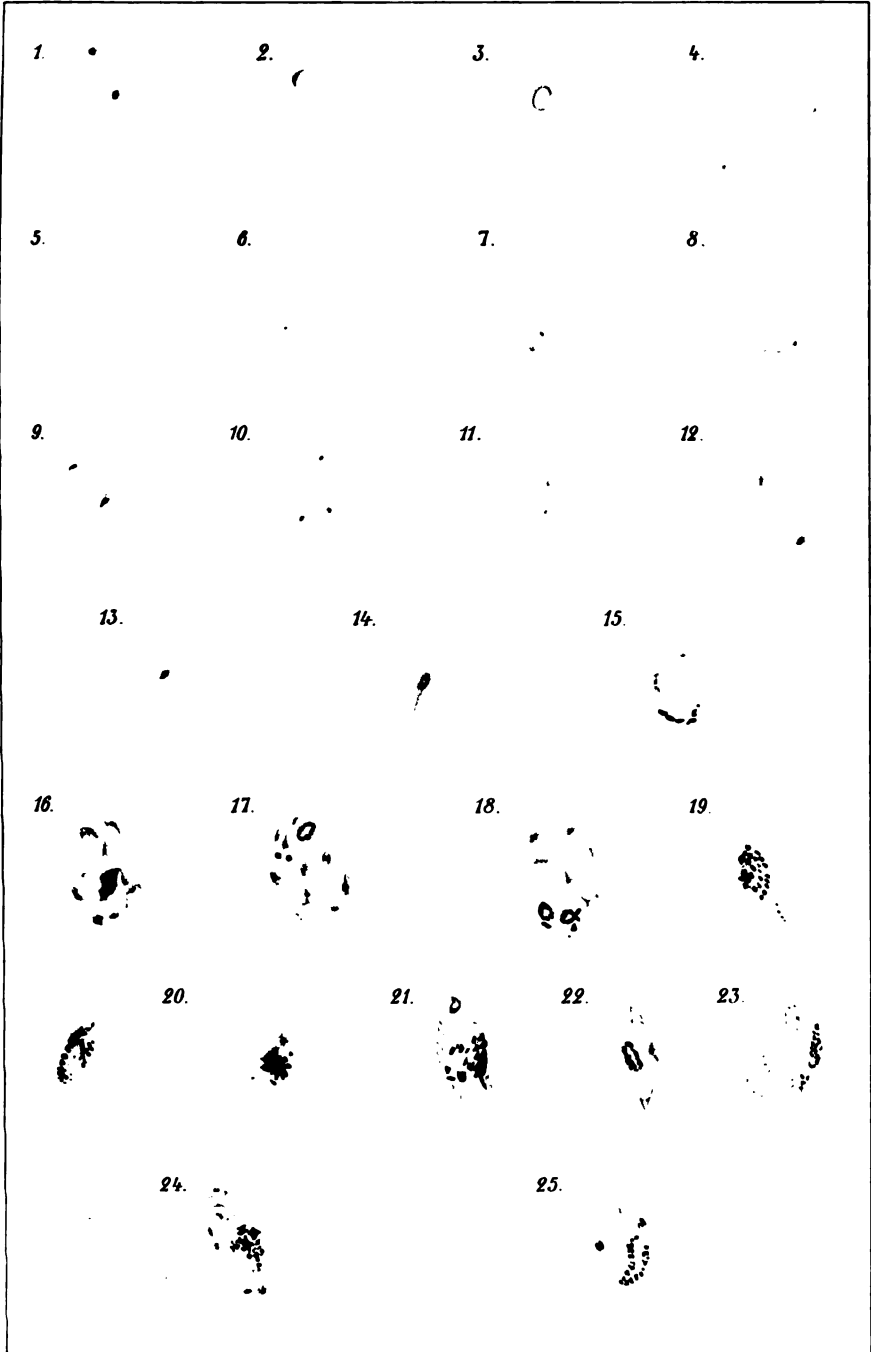
Tafel I.

Fig. 1—25. *Plasmodium praecox*.

Fig. 1. Merozoiten.

Fig. 2—4. Ringe, die das Chromatinkörperchen an ihrer Peripherie haben.

Fig. 5—6. Ringe ohne Chromatinkörperchen.



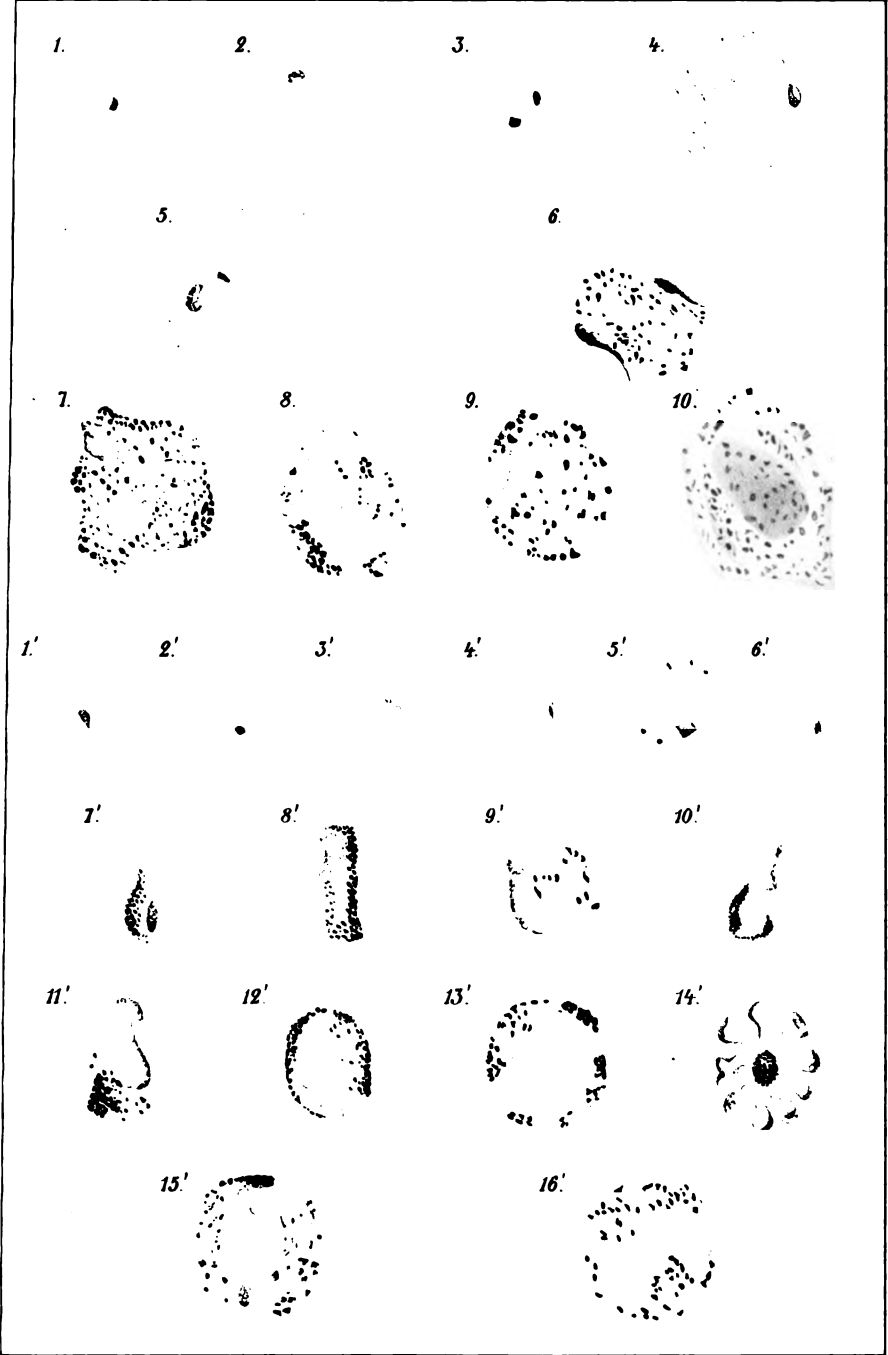


Fig. 7. Ringe mit 2 Chromatinkörperchen.

Fig. 8—11. Schizonten mit 3—4 Chromatinkörperchen.

Fig. 12—14. Dicke Ringe, die sich allmählich in sphärische Schizonten umwandeln.

Fig. 15. Sphärische Schizonten.

Fig. 16—18. Schizonten in Schizogonie.

Fig. 19. Weibliche Gameten.

Fig. 20. Männlicher Gamet mit Hülle.

Cent. Blatt Boie,

1905-1906 XL 305-311

851

die vor ihrer Los-

e feine Körperchen.

n mit Schüffner-

nachdruck verboten.

inelymphe.

Heidelberg

f.)

stitute.

rs ist seit mehr

gewesen, ohne

es Erregers auf-

Forschung der

lie Bakterien,

nungen in dieser

in der Aetiologie

der Variola noch der Entstehung der Impfpustel irgendwelche Rolle spielen. Seitdem man dann Protozoen als Krankheitserreger kennen lernte, begann die zweite Periode, beherrscht von der Idee, der Vaccineerregers sei unter den Protozoen zu suchen. In dieser Präsumtion wurde einer Reihe von Gebilden, die sich teils frei in der Lymphe finden, teils Einschlüsse der Epithelzellen der geimpften Haut darstellen, die Rolle eines Parasiten zuerteilt. Die Deutung und Bedeutung dieser Gebilde, der Vaccinekörperchen, ist zu einer viel umstrittenen Frage geworden, bald wurde ihre Protozoennatur behauptet, bald abgelehnt.



- Fig. 7. Ringe mit 2 Chromatinkörperchen.
 Fig. 8—11. Schizonten mit 3—4 Chromatinkörperchen.
 Fig. 12—14. Dicke Ringe, die sich allmählich in sphärische Schizonten umwandeln.
 Fig. 15. Sphärische Schizonten.
 Fig. 16—18. Schizonten in Schizogonie.
 Fig. 19. Weibliche Gameten.
 Fig. 20. Männlicher Gamet mit Hülle.
 Fig. 21. Gamet mit diffusem Kern.
 Fig. 22. Gamet mit Kern, welcher sich aus 3 Teilen bildet, die vor ihrer Lösung stehen.
 Fig. 23—24. Gameten mit Teilung ihres Kernes in zahlreiche feine Körperchen.
 Fig. 25. Ovaler Gamet mit in 4 Teile geteiltem Kern.

Tafel II.

Fig. 1—10. *Plasmodium vivax*.

- Fig. 1—2. Dicke Ringe mit Chromatinkörperchen.
 Fig. 3. Ringe mit 2 Chromatinkörperchen.
 Fig. 4—5. Kleine, unregelmäßige Schizonten, rote Blutkörperchen mit Schüffnerscher Tüpfelung.
 Fig. 6—7. Große Schizonten mit 2 Kernen.
 Fig. 8. Schizonten in Schizogonie.
 Fig. 9. Weiblicher Gamet.
 Fig. 10. Männlicher Gamet.

Fig. 1'—16'. *Plasmodium malariae*.

- Fig. 1'. Merozoit.
 Fig. 2'—3'. Feine Ringe.
 Fig. 4'—6'. Unregelmäßige Ringe.
 Fig. 7'—13'. Schizonten in verschiedenen Formen.
 Fig. 14'. Schizonten en rosace.
 Fig. 15'. Männlicher Gamet.
 Fig. 16'. Weiblicher Gamet.

Nachdruck verboten.

Ueber spirochätenähnliche Gebilde in Vaccinelympe.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Heidelberg
 (Direktor: Geh. Hofrat Prof. Dr. Knauff).]

Von Dr. med. **Karl Süpfle**, Assistenten am Institute.

Das Studium des Variola- und Vaccineerregers ist seit mehr als 30 Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen, ohne daß es bisher gelungen wäre, Natur und Morphologie des Erregers aufzuklären. Im Laufe dieser Zeit hat die ätiologische Forschung der Pocken zwei Stadien durchlaufen. Zunächst waren es die Bakterien, unter denen man den Erreger suchte; die langen Bemühungen in dieser Richtung brachten die Erkenntnis, daß Bakterien weder in der Aetiologie der Variola noch der Entstehung der Impfpustel irgendwelche Rolle spielen. Seitdem man dann Protozoen als Krankheitserreger kennen lernte, begann die zweite Periode, beherrscht von der Idee, der Vaccineerregers sei unter den Protozoen zu suchen. In dieser Präsumtion wurde einer Reihe von Gebilden, die sich teils frei in der Lymphe finden, teils Einschlüsse der Epithelzellen der geimpften Haut darstellen, die Rolle eines Parasiten zuerteilt. Die Deutung und Bedeutung dieser Gebilde, der Vaccinekörperchen, ist zu einer viel umstrittenen Frage geworden, bald wurde ihre Protozoennatur behauptet, bald abgelehnt.

Gerade in neuester Zeit ist die Diskussion über die Vaccinekörperchen wieder aktuell geworden: Bosc¹⁾ hat es aufs neue versucht, die seit Guarnieri bekannten Zelleinschlüsse als Evolutionsformen von Sporozoen zu deuten, und Siegel²⁾ gibt an, im Blut und in den Organen geimpfter Tiere seien die Guarnierischen Körperchen als freie Gebilde nachweisbar, nach seiner Vorstellung Protozoen, die systematisch als eine neue Gruppe bei den Sporozoen oder Flagellaten einzureihen wären. Ich³⁾ habe mich selbst in früheren Untersuchungen mit den Vaccinekörperchen beschäftigt und kam unter Berücksichtigung der Literatur zu dem Resultat, daß diese Gebilde nicht als Parasiten aufgefaßt werden können, sondern lediglich Degenerationsprodukte darstellen. Zu demselben Ergebnis gelangte Schruppf⁴⁾; gegen die Siegelschen Angaben sprachen sich aus: Prowazek⁵⁾, Jürgens⁶⁾, v. Wasielewski⁷⁾, Hauser⁸⁾, Haaland⁹⁾.

In jüngster Zeit hat nun Bonhoff¹⁰⁾ gänzlich andere Gebilde beobachtet, die er für ätiologisch bedeutsam hält. Bonhoff fand in Vaccinelymphe drei Arten von Körperchen, solche von dreieckiger Form, kammabacillenähnliche Zellen und als interessantesten Befund Spirochäten. Diese Spirochäten beschrieb er als feine Gebilde von ziemlicher Länge, die — gar nicht so spärlich vorhanden — etwas dicker seien als Spirochäten aus Fällen von Sommerdiarrhöe; von recht verschiedener Länge, färbten sie sich mit der ursprünglichen Giemsa-Methode chromatinrot. Bonhoff illustrierte seine Befunde, die er bisher aus drei verschiedenen Lymphen erhoben hat, durch mehrere Photogramme.

Diese Mitteilung erschien im Hinblick auf die weittragende Entdeckung der *Spirochaete pallida* durch Schaudinn besonders bedeutungsvoll. Bonhoff selbst äußerte sich schon in seinem diesbezüglichen Vortrag dahin, er sei sehr geneigt, die Spirochätenätiologie der Vaccine anzunehmen, und in einer späteren Veröffentlichung¹¹⁾ sprach er direkt von der „*Spirochaeta vaccinae*“.

1) Bosc, F. J., Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires) II. La maladie vaccinale et son parasite (Plasmodium vaccinae). (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI. p. 630. Bd. XXXVII. p. 39. 1905.) III. La variole et son parasite (Plasmodium variolae). (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. p. 36. 129. 247. 389. 594.)

2) Siegel, J., Untersuchungen über die Aetiologie der Pocken und der Maul- und Klauenseuche. (Aus dem Anhang zu den Abhandlungen der Königl. Preuß. Akad. d. Wiss. vom Jahre 1905. Berlin 1905.)

3) Süpfle, K., Beiträge zur Kenntnis der Vaccinekörperchen. Heidelberg (Carl Winter) 1905.

4) Schruppf, P., Ueber die als Protozoen beschriebenen Zelleinschlüsse bei Variola. (Virchows Arch. Bd. CLXXIX. p. 461.)

5) Prowazek, S., Untersuchungen über das Wesen des Vaccineerregers. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 19.)

6) Jürgens, Ueber die diagnostische und ätiologische Bedeutung der Variolakörperchen. (Charité-Ann. Jg. XXIX. 1905. p. 127.)

7) v. Wasielewski, Th., Ueber die Technik des Guarnierischen Impfexperimente und seine Verwendung zum Nachweis von Vaccineerregern in den inneren Organen von Impftieren. (Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 1189.)

8) Hauser, H., Untersuchungen über den Vaccineerregers. Inaug.-Diss. Freiburg, 1905.

9) Haaland, M., Ueber Lungenveränderungen nach intrapulmonaler Injektion von Vaccinelymphe, nebst Bemerkungen über den behaupteten Nachweis des Vaccinevirus in den inneren Organen. (Medizinische Klinik. 1905. No. 42.)

10) Bonhoff, H., Studien über den Vaccineerregers. (Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg. 1905. No. 4.)

11) Bonhoff, H., Die Spirochaeta vaccinae. (Berliner klin. Wochenschr. 1905. p. 1142.)

Schon bei meinen früheren Untersuchungen hatte ich fadenförmige Bildungen gesehen, ohne ihnen eine Bedeutung beizulegen; auf die Bonhoffschen Spirochätenbefunde hin begann ich, Lymphe speziell nach dieser Richtung hin zu untersuchen. Sehr bald fand ich in Vaccinelymphe „spirochätenähnliche Gebilde“, die vollkommen den von Bonhoff photographisch wiedergegebenen „Spirochäten“ entsprachen, und demonstrierte meine Untersuchungsergebnisse am 25. Juli 1905 im Naturhistorisch-Medizinischen Verein zu Heidelberg¹⁾. Ich betonte damals, daß ich mir „vor Abschluß weiterer Untersuchungen völlige Reserve in der Frage bewahre, welche Bedeutung diesen spirochätenähnlichen Gebilden beizumessen sei; jedenfalls seien derartige Befunde noch nicht im stande, die bisher ungelöste Aetiologie der Vaccine klarzulegen“.

Ich untersuchte zunächst impfeartige animale Glycerinlymphe²⁾ in Ausstrichpräparaten, die mit absolutem Alkohol fixiert und nach Giemsa gefärbt wurden. In solchen Präparaten fand ich in geradezu frappierender Menge feine Fäden von schwankender, oft beträchtlicher Länge (bis zu 25 μ) mit mehr oder minder zahlreichen, unregelmäßigen Windungen. Die Gebilde färbten sich mit Giemsa-Lösung gleichmäßig chromatinrot und waren stets leicht wahrnehmbar; neben zarten, schwach gefärbten kamen stärker tingierte, dickere Formen vor. Die Bildungen schienen durchaus Spirochäten zu entsprechen, zumal manche Formen das getreue Abbild der Bonhoffschen Photogramme boten. Derartige Befunde konnte ich in sechs verschiedenen animalen Lymphproben in gleicher Weise konstatieren.

Bei längerem Durchmustern der Präparate fiel mir aber bald auf, daß unter den vielen spirochätenähnlichen Gebilden eigentlich nur recht wenige dem morphologischen Bild der Spirochäten, wie sie aus Zahnschleim, bei Angina Vincenti, Sommerdiarrhöe der Kinder u. s. w. bekannt sind, ganz gleichkamen. Viel zahlreicher gab es Formen, die wohl fadenförmig und mehr oder weniger gewunden aussahen, deren eines Ende aber bald wie abgeschnitten erschien, bald an Dicke das andere Ende erheblich übertraf. Manche Fäden begannen mit einer knopfförmigen Verdickung, ja sogar mit einer unförmigen kolbigen Anschwellung ohne jegliche Differenzierung, während der Rest des Gebildes in konischer Verjüngung spitz auslief. Andere Male war das eine Ende zersplittert oder aufgefasert, und in der Mitte zeigte sich eine Verdickung u. dergl. Dabei konnte der Gesamthabitus bei oberflächlicher Betrachtung immerhin noch als spirochätenartig gelten, da die Fäden stets mit bald steilen, bald flachen Windungen ausgestattet waren. Dieses Verhalten der fraglichen Gebilde kann man übrigens zum Teil auch auf manchen Photogrammen Bonhoffs verfolgen.

Alle solche Fäden zeigen außerdem bezüglich ihrer Dicke und Länge die größten Verschiedenheiten, und zwar in der Weise, daß von den dünnsten, am meisten spirochätenähnlichen, alle Uebergänge zu dicken, groben Formen, zweifellosen Artefakten, vorhanden sind, wie dies kürzlich auch Carini³⁾ hervorhob.

Ferner muß in Betracht gezogen werden, daß außer diesen spiro-

1) Süpfle, Ueber Spirochätenbefunde in Vaccinelymphe. Offizielles Protokoll. (Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 1848.)

2) Die Lymphproben stammten aus der Großherzogl. Bad. Impfanstalt zu Karlsruhe.

3) Carini, A., Sind die Vaccineerreger Spirochäten? (Centralbl. f. Bakt. u. s. w. Bd. XXXIX. p. 685.)

chätenähnlichen Gebilden sich noch viele andere Formen finden, die mit bekannten Protozoen oberflächliche Aehnlichkeit haben. So macht Bonhoff selbst darauf aufmerksam, daß in jedem Lymphenausstrichpräparat größere Gebilde vorkommen, die in ihren Umrissen sich genau wie Trypanosomen verhalten, die er aber mit Recht für Kunstprodukte, ausgezogene Kernbestandteile u. dergl. erklärt.

Wenn man unvoreingenommen alle sich darbietenden Formen vergleicht, so muß die Vorstellung als berechtigt erscheinen, daß alle diese verschiedenen Gebilde einen einheitlichen Ursprung haben. Ist doch die Lymphe ein Material, reich an Detritus, Zerfallsmassen, Schleim, Kern- und Zellresten u. s. w. — alles Dinge, die sich in den verschiedensten Gestalten präsentieren und eben auch einmal trypanosomenähnlich oder spirochätenähnlich aussehen können.

Auch sonst ist ja bekannt, daß in Material verschiedenster Herkunft sich spirochätenähnliche Gebilde vorfinden. So weist R. O. Neumann bei Gelegenheit von Untersuchungen über die *Spirochaete pallida*¹⁾ darauf hin, daß manche Kunstprodukte, z. B. fadenähnlich ausgezogene Kernreste, Schleim, Detritusmassen u. dergl., wie sie beim Ausstreichen von Eiter, Smegma, Ulcerations- und verkästem Gewebe gelegentlich in den allerdünnsten und verschieden gewordenen Formen erhalten werden, Spirochäten vortäuschen können. Carini erinnert an dieselbe Erscheinung in Ausstrichpräparaten von Milzsaft. Ich selbst konnte in Knochenmarkausstrichen sowie in einer großen Reihe von Sputum-Präparaten, besonders bei Anwendung der Giemsa-Färbung gleichfalls, mitunter in geradezu klassischer Weise verfolgen, wie sich alle Uebergänge von dicken langen zu dünnen kürzeren und dabei gewundenen Fäden finden lassen, unter denen einzelne Formen durchaus spirochätenähnlich aussehen.

Eine Bestätigung der Auffassung, daß es sich bei den fraglichen Gebilden um Artefakte handeln müsse, die sich aus dem Reichtum der animalen Lymphe an Zerfallsmassen erklären, durfte ich in dem Fehlen der Artefakte bei Verwendung menschlicher Vaccine, eines „reineren“ Materiales erwarten, das möglichst frei von solchen Degenerationsprodukten ist. Bei Benutzung von Lymphe vom Kinderarm bestand gegenüber der Glycerin-Kalbslymphe zudem der Vorteil, daß hierbei das Material direkt zur Untersuchung gelangte, ohne Zusatz von Glycerin und ohne jegliche mechanische Prozeduren, denen ja die animale Lymphe bis zur gebrauchsfertigen Darstellung in mannigfacher Weise unterworfen ist.

Meine Untersuchungen dehnte ich daher auch auf menschliche Vaccine aus. Gelegentlich von Impfterminen war ich in der Lage, den Pustelinhalt von 4 Erstimpflingen, 12 revaccinierten Knaben und 5 revaccinierten Mädchen untersuchen zu können. Es wurden jeweils 7-tägige, nur typische und voll ausgebildete Effloreszenzen gewählt und die nach seichter Skarifikation spontan auftretende Flüssigkeit vorsichtig aufgetupft. In einem einzigen Präparat, das von einem Erstimpflinge stammte, konnte ich zwei Gebilde entdecken, die den aus Glycerin-Kalbslymphe charakterisierten analog waren. In allen anderen Präparaten, die als Objekträgerausstriche eine sehr ausgedehnte Untersuchungsfäche darboten, konnte ich trotz des eifrigsten Suchens und

1) Neumann, R. O., Ueber *Spirochaete pallida* Schaudinn und einige andere Spirochäten. Vortrag im Naturhistorisch-Medizinischen Verein zu Heidelberg. Offizielles Protokoll. (Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 1848.)

sorgfältigen Durchmusterns keine Spirochäten oder spirochäten-ähnlichen Gebilde finden.

Das gleiche negative Resultat ergaben Tierexperimente.

An 2 Kaninchen nahm ich die Calmette-Guérinsche Hautimpfung mit einer auf dem Kinderarm als äußerst wirksam erkannten Lymphe vor. Es trat jeweils die für Kaninchenvaccine charakteristische Pusteleruption in typischer Weise auf. Es wurden täglich Ausstrichpräparate gemacht, aber trotz langen Suchens konnte ich in beiden Fällen keine Spirochäten wahrnehmen.

Endlich versuchte ich, ob im Blut der Nachweis eventueller Spirochäten gelänge, da Calmette und Guérin¹⁾ gezeigt hatten, daß das Virus der Vaccine beim Kaninchen nach intravenöser Injektion in den ersten 24 Stunden in der Blutbahn kreist. Ein Kaninchen erhielt eine intravenöse Injektion von 0,5 ccm Glycerinlymphe. Nach 3, 6, 12, 20, 22, 24, 2 × 24, 3 × 24 Stunden wurden je 10 Objektträgerblutausstriche angefertigt und jeweils Blut im hängenden Tropfen beobachtet. Das Resultat langen und gründlichen Suchens, auf das viele Zeit verwendet wurde, war bisher negativ, ebenso bei einer Wiederholung des Versuches.

Meine Untersuchungen brachten demnach das Ergebnis, daß in Glycerin-Kalbslymphe in großer Zahl Gebilde vorhanden sind, die gewisse Aehnlichkeiten mit Spirochäten aufweisen, in ihrem genaueren morphologischen Verhalten aber dem Bild echter Spirochäten, wie sie aus Zahnschleim, bei Angina Vincenti, bei Sommerdiarrhøe u. s. w. bekannt sind, nicht entsprechen. In Lymphe vom Kinderarm fand ich diese Formen, mit einer Ausnahme, niemals; ebenso ergaben Tierexperimente ein negatives Resultat.

Wenn ich auch die Möglichkeit, daß in der Aetiologie der Vaccine Spirochäten eine Rolle spielen, keineswegs in Frage stellen möchte, so glaube ich doch, auf Grund meiner bisherigen eigenen Beobachtungen die Meinung vertreten zu sollen, daß wenigstens die Bonhoffschen Gebilde sich schwerlich als Spirochäten werden verifizieren lassen.

Nachdruck verboten.

Ueber *Oxyuris vermicularis* in der Darmwand.

[Aus der inneren Abteilung des Krankenhauses Bethanien in Berlin, dirig. Arzt: Prof. Dr. Zinn.]

Von Dr. Edens.

Mit 1 Figur.

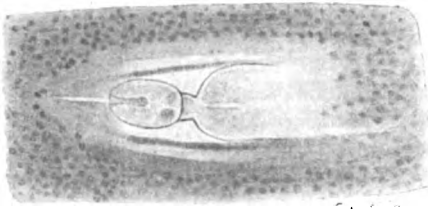
Zur Ergänzung der von Wagener²⁾ über *Oxyuris vermicularis* gemachten Beobachtungen möchte ich kurz über einen neuen Fall berichten:

Bei einem 7-jährigen, an Diphtherie gestorbenen Knaben, der außer-

1) Calmette et Guérin, Recherches sur la vaccine expérimentale. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XV. 1901. p. 161.)

2) Deutsch. Archiv f. klin. Med. Bd. LXXXI. 1904 und Virchows Archiv Bd. CLXXXII. 1905.

dem eine primäre Darmtuberkulose hatte, fand ich in einer Peyerschen Platte eines der nicht so seltenen kleinen grauen Knötchen etwa von der Größe eines halben Stecknadelkopfes, wie sie Wagener genauer



Zeiss Ok. 2, Obj. DD.

beschrieben hat. Im mikroskopischen Präparate zeigte sich, daß das Knötchen aus schlecht färbbarem, zum Teil schon körnig zerfallenden Gewebe mit beginnender Kalkablagerung bestand; am äußeren Rande fand sich ein Wall von Granulationsgewebe. Auf Serienschnitten gelang es, in der Mitte des Knötchens den Kopfteil eines *Oxyuris vermicularis* so günstig zu fassen, daß auch in diesem Falle

eine sichere Diagnose gestellt werden konnte. Der Versuch, durch die Ferrocyankali-Salzsäurereaktion Eisen im Körper des Parasiten nachzuweisen, fiel negativ aus.

In der beigegebenen Abbildung sieht man den in seinem unteren Teile schräg getroffenen Oesophagus, an den sich, durch ein kleines Zwischenstück verbunden, der Pharyngealbulbus angliedert. Zu beiden Seiten liegt die Chitinhülle, der sich das umgebende Gewebe mit einer schmalen, fibrös umgewandelten Schicht anschließt. Der weiße Streifen am Kopfende entspricht einer Lücke in der Chitinhülle.

• Nachdruck verboten.

Ueber die Widerstandsfähigkeit der Antigene der roten Blutkörperchen gegen hohe Temperaturen.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Prof. R. Pfeiffer).]

Von Dr. H. Doepner, Volontärassistenten am Institute.

In No. 52 des XXX. Jahrg. der Dtschn med. Wochenschr. hat Loeffler über ein neues Verfahren, Impfstoffe zu Immunisierung- und Behandlungszwecken vorzubereiten, berichtet. Ausgehend von der Beobachtung, daß Enzyme in trockenem Zustande hoch erhitzt werden können, ohne ihre Wirksamkeit zu verlieren, hat er Bakterien und andere Impfstoffe im Exsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und dann im Trockenschrank $\frac{1}{2}$ Stunde auf 150° oder 2—3 Stunden auf 120° erhitzt. Loeffler empfiehlt dies Verfahren besonders für Bakterien, da diese durch so hohe Temperaturen sicher abgetötet werden, an ihrer antigenen Eigenschaft jedoch keine Einbuße erleiden. Auch mit nach seiner Methode vorbehandelten Organbestandteilen sowie mit Hühnereiweiß und Leichenblut hat Loeffler wirksame präzipitierende Sera erhalten.

Friedberger und Moreschi¹⁾ haben durch quantitative Versuche bei der Immunisierung von Kaninchen mit Cholera und Typhus nach-

1) Friedberger u. Moreschi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 4.

gewiesen, daß die in diesen Bakterien enthaltenen Antigene durch die Temperatur von 150° , zumal wenn diese länger als $\frac{1}{2}$ Stunde zur Anwendung kommt, in hohem Grade geschädigt wurden, daß dagegen 2-stündige Erhitzung auf eine Temperatur von ca. 120° in keiner Weise vermindern auf die Bildung von Agglutininen und Bakteriolytinen einwirkte, so daß bei Anwendung dieser Temperatur die Methode von Loeffler sich für Bakterien der von Pfeiffer-Kolle als ebenbürtig erwies; freilich ist die Vorbereitung des Impfstoffes bei der Loefflerschen Methode bedeutend umständlicher und zeitraubender.

Es war nun von Interesse, zu untersuchen, ob die Antigene der roten Blutkörperchen ebenso widerstandsfähig gegen hohe Temperaturen seien wie die der Bakterien.

Zu diesem Zwecke wurden Kaninchen nach der von Friedberger zuerst für Bakterien angegebenen¹⁾ und von ihm und Dorner auch bei Blutkörperchen²⁾ angewandten Methode der Impfung mit minimalen Mengen, mit kleinen Dosen von Ziegenerythrocyten intravenös behandelt, da bei diesem Verfahren die Wirkung sowohl von äußeren Einflüssen auf die Versuchstiere³⁾ als auch diejenige von verschiedenen Behandlungsarten des Impfstoffes auf die Antikörperbildung am deutlichsten hervortritt.

Der Impfstoff wurde auf folgende Weise bereitet: 1 ccm, bei den späteren Versuchen 0,5 und 0,4 ccm, Ziegenblutkörperchen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung wiederholt gewaschen, dann an den Wänden des Zentrifugenröhrchens möglichst gleichmäßig verteilt und über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur so lange getrocknet, bis das Gewicht sich mehrere Tage hintereinander als konstant erwies. Sodann wurden die Röhrchen im Trockenschrank 2 Stunden lang einer Temperatur von 110 — 120° , meist nahe an 120° , ausgesetzt; das Gefäß des Thermometers befand sich natürlich in gleicher Höhe mit dem Röhrchen. Darauf wurde das Blut mit einer geringen Menge physiologischer Kochsalzlösung quantitativ genau in den Achatmörser übertragen, hier fein zerrieben und sodann aus ihm eine 5-proz. Aufschwemmung in Kochsalzlösung hergestellt.

Von dieser 5-proz. Aufschwemmung erhielten die Kaninchen je 1,0 ccm, eins in der letzten Versuchsreihe die doppelte Dosis, intravenös eingespritzt. Die Kontrolltiere erhielten ebenfalls je 1 ccm einer Aufschwemmung von Ziegenblutkörperchen, die teils nur wiederholt gewaschen, teils nach dem Waschen 1 Stunde lang einer Temperatur von 60° im Wasserbad ausgesetzt waren.

Vor der Impfung und am 8. Tage nach derselben wurde den Tieren Blut entnommen, das Serum inaktiviert und mit 0,5 Proz. Phenol versetzt. Alle Sera der einzelnen Versuchsreihen wurden mit derselben Ziegenblutaufschwemmung und unter Zusatz von 0,1 des gleichen Meer-schweinchenserums als Komplement autitriert.

Aus Tabelle I geht hervor, daß das Blutserum der mit unerhitzten Blutkörperchen behandelten Tiere eine ziemlich starke hämolytische Wirkung am 8. Tage nach der Einspritzung besaß; 0,01 löste mit einer Ausnahme noch fast komplett. Es stimmen diese Resultate also voll-

1) Friedberger, Internat. Beitr. z. inn. Med. Festschr. z. 70. Geburtstage E. v. Leydens.

2) Friedberger u. Dorner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5. — Dorner, Diss. 1905.

3) Friedberger, Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 10.

kommen mit denen von Friedberger und Dorner überein, die ebenfalls durch einmalige Injektionen kleiner Dosen von Blutkörperchen ziemlich hochwertige Immunsera erhalten haben.

Tabelle I.
Hämolytischer Titer am 8. Tage nach der Injektion.

Kaninchen No. Versuchsreihe	Gewicht in g	Dosis der intravenös injizierten Ziegenblutkörperchen	Dauer und Art der Hitzeeinwirkung	Hämolyse von 2 ccm 5% Ziegenblutaufschwemmung bei Dosis des Serums						
				0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,02	0,01
32 I	1550	1 ccm 5% Lös.	2 Stdn. 120°	Kuppe	kleine Kuppe	in- komplett do.	fast komplett in- komplett	in- komplett kleine Kuppe	kleine Kuppe	Kuppe
34 I	1350	do.	do.	in- komplett	komplett	Kuppe	Spur	0	0	0
41 II	1400	do.	do.	kleine Kuppe	kleine Kuppe	do.	do.	0	0	0
42 II	1800	do.	do.	in- komplett	komplett	do.	do.	kleine Kuppe	kleine Kuppe	Kuppe
66 III	1550	do.	do.	fast komplett	fast komplett	in- komplett do.	in- komplett kleine Kuppe	do.	do.	do.
67 III	1550	2 ccm 5% Lös.	do.	fast komplett	fast komplett	fast komplett	fast komplett	fast komplett	in- komplett Kuppe	kleine Kuppe
43 II	1750	1 ccm 5% Lös.	1 Stde 60°	fast komplett	fast komplett	fast komplett	fast komplett	fast komplett	in- komplett Kuppe	kleine Kuppe
65 III	1550	do.	do.	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	fast komplett do.	fast komplett do.
31 I	1500	1 ccm 5% Lös.	Keine Erhitzg.	do.	do.	do.	do.	fast komplett do.	in- komplett Kuppe	kleine Kuppe
33 I	1550	do.	do.	do.	fast komplett	fast komplett	fast komplett	komplett	fast komplett	fast komplett
44 II	1750	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.
64 III	1600	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.

Die entsprechenden Normalsera hatten folgende hämolytische Eigenschaften:

Tabelle II.
Hämolytischer Titer der Normalsera.

Kaninchen No.	32	34	41	42	66	67	43	65	31	33	44	64
0,3	Spur	kleine Kuppe	Spur	Kuppe	0	0	kleine Kuppe	kleine Kuppe	Spur	Spur	Kuppe	Spur
0,2	0	0	do.	Spur	0	0	0	0	0	0	Spur	do.
0,1	0	0	0	0	0	0	Spur	Spur	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Durch einstündige Erhitzung auf 60° im Wasserbade werden die Antigene der Blutkörperchen, wie No. 43 und 65 zeigen, geschädigt.

Eine noch stärkere Abnahme ihrer antigenen Eigenschaften zeigten die nach Loeffler in trockenem Zustande auf 120° erhitzten Blutkörperchen; 0,1 des durch Injektion dieser erhaltenen Serums vermochte nur noch eine inkomplette Lösung von 2 ccm einer 5-proz. Ziegenblutaufschwemmung zu bewirken. Bemerkenswert ist, daß das eine Serum

(No. 32) in höheren Dosen eine Abnahme seiner lösenden Kraft aufwies; auch bei Serum No. 34 war dies angedeutet. Diese Erscheinung, daß bei größeren Dosen des Ambozeptors die wirkende Kraft des Serums abnimmt, erinnert in gewissem Sinne an das Neisser-Wechsberg'sche Phänomen; leider konnte ich, da mir genügende Serummengen nicht zur Verfügung standen, auf eine Untersuchung der Ursache dieser Erscheinung nicht näher eingehen.

Im Gegensatz zu den Antigenen der Cholera- und Typhusbakterien werden also die der roten Blutkörperchen durch Erhitzen in trockenem Zustande auf 120° ziemlich erheblich geschädigt. Es empfiehlt sich daher, nur dann bei der Immunisierung mit Blutkörperchen die Loefflersche Methode anzuwenden, wenn man genötigt ist, dazu Blut zu verwenden, das nicht ohne Infektionsgefahr für das Versuchstier diesem injiziert werden kann, oder wenn man sich schwerer zu beschaffende Blutarten für spätere Immunisierungszwecke konservieren will, wie dies z. B. für gerichtsarztliche Zwecke der Fall sein könnte.

Zum Schluß erlaube ich mir, meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Prof. R. Pfeiffer, und seinem Assistenten, Herrn Privatdozent Dr. E. Friedberger, für das meinen Arbeiten entgegengebrachte Interesse meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Alexine et Leucocytes.

[Institut pathologique et bactériologique de Liège.
Prof. Firket et Malvoz.]

Par MM. U. Lambotte et T. Stiennon.

(Schluß.)

Nos essais ont toujours donné des résultats absolument constants, que les extraits de leucocytes aient été faits dans du sérum de lapin normal chauffé, de l'eau salée, ou du bouillon nutritif ordinaire. On ne note pas davantage de différences, sauf dans le temps nécessaire à l'apparition du phénomène et dans son intensité, lorsque l'on fait varier les proportions des produits actifs. Trois protocoles d'expériences pris au hasard suffiront pour fixer les idées.

Qu'il s'agisse d'exsudats de un ou de deux jours les faits observés ont toujours été concordants. L'hémolyse n'apparaît que dans les tubes à sérums frais. Chaque fois elle est un peu moins marquée du côté de l'exsudat que du côté du sang. Elle fait totalement défaut dans les tubes à extraits leucocytaires, comme dans les tubes témoins à bouillon, sérum chauffé ou eau salée, et dans les tubes à produits chauffés. La substance active de nos produits disparaissant par le chauffage à 55° et réactivant à l'état frais le sérum sensibilisateur, est donc bien le complément hémolytique. Le sérum du sang en est abondamment pourvu; le liquide d'exsudat en renferme également, mais en quantité un peu moins marquée que le sang correspondant, à en juger par la légère différence qui existe entre ces deux liquides dans l'intensité du phénomène. Cette différence ne varie pas avec l'âge de l'exsudat tandis que les grands leucocytes mononucléaires, qui passent pour fournir la macrocytase, augmentent en nombre au fur et à mesure que l'exsudat vieillit.

Lapin No. XVII. Exsudat de 1 jour. Plèvre droite 11 c. c. liquide. 98% polynucléaires.

Hématies de poule sensibilisées.

Tubes	1/4 heure	1/2 heure	1 heure	2 heures
1) 1 p. sérum sang frais 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	légère hémolyse	hémolyse nette	hémolyse complète	hémolyse complète
2) 1 p. sérum sang chauffé 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
3) 1 p. sérum exsudat frais 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	hémolyse légère	hémolyse nette	hémolyse complète
4) 1 p. sérum exsudat chauffé 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
5) 1 p. extrait leucocyt. (eau salée) frais 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
6) 1 p. extrait leucocyt. (eau salée) chauffé 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
7) 1 p. extrait leucocyt. (bouillon) frais 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
8) 1 p. extrait leucocyt. (bouillon) chauffé 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
9) 1 p. eau salée 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
10) 1 p. bouillon ordinaire 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0

Quant aux extraits leucocytaires, préparés, rappelons le, avec des éléments encore capables de phagocyter malgré les opérations indispensables à les débarrasser des produits actifs de l'exsudat, ils sont totalement dépourvus de complément hémolytique. Cette absence est tout aussi réelle quand on fait agir ces extraits non plus à l'état dilué, comme dans les essais précédents, mais en renversant la proportion des produits et en mettant, par exemple, en contact 5 parties d'extrait pour 1 seule partie d'hématies sensibilisées. Etant donné qu'il suffit d'une trace infinitésimale de substance active pour faire apparaître dans ces conditions les phénomènes d'hémolyse, et que d'autre part les leucocytes non ou peu altérés, qui ont servi à la préparation de nos extraits, comptent parmi eux jusque 21% de macrophages (lapin No. XVI) on est amené à leur refuser le rôle de producteurs de complément hémolytique. Cette conclusion s'impose d'autant plus si l'on tient compte de la grande richesse en alexine du liquide d'exsudat débarrassé des cellules à un moment où celles-ci sont en grande partie encore parfaitement en vie. Une dernière expérience sur les phénomènes d'hémolyse vient encore à l'appui de cette thèse. Si l'on compare le pouvoir hémolytique du liquide d'exsudat dont on a séparé par centrifugation les cellules vivantes, au même liquide d'exsudat

Lapin No. XXVIII. Exsudat de 2 jours. Plèvre droite 7 c.c. 80% polynucléaires.

Hématies de poule sensibilisées.

Tubes	1/4 heure	1/2 heure	1 heure	2 heures
1) 1 p. sérum sang frais 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	hémolyse assez forte	hémolyse presque complète	hémolyse complète
2) 1 p. sérum sang chauffé 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
3) 1 p. sérum exsudat frais 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	légère hémolyse	hémolyse assez forte	hémolyse complète
4) 1 p. sérum exsudat chauffé 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
5) 1 p. extrait leucocyt. (eau salée) frais 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
6) 1 p. extrait leucocyt. (eau salée) chauffé 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
7) 1 p. extrait leucocyt. (sérum chauffé) frais 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
8) 1 p. extrait leucocyt. (sérum chauffé) chauffé 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
9) 1 p. eau salée 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0
10) 1 p. sérum lapin chauffé 4 p. eau salée 1 p. hématies sensibilisées	0	0	0	0

Lapin No. XIX. Exsudat de trois jours. Plèvre droite 6 c.c. 82% polynucléaires.

La moitié de l'exsudat est soumise à une centrifugation énergique. Le liquide après décantation, et l'autre moitié de l'exsudat complet (liquide et cellules) sont traités par le procédé indiqué pour la préparation des extraits de leucocytes. On compare l'action du sérum d'exsudat et de l'extrait complet ainsi traités dans les mélanges:

Tubes	1/4 heure	1/2 heure
1) 4 p. sérum exsudat + 11 p. eau salée + 5 p. hématies sensibil.	hémolyse légère	hémolyse nette
2) 4 p. exsudat complet + 11 p. " " + 5 p. " "	hémolyse faible	hémolyse nette
3) 2 p. sérum exsudat + 13 p. " " + 5 p. " "	hémolyse faible	hémolyse légère
4) 2 p. exsudat complet + 13 p. " " + 5 p. " "	hémolyse faible	hémolyse légère
5) 1 p. sérum exsudat + 14 p. " " + 5 p. " "	0	hémolyse faible
6) 1 p. exsudat complet + 14 p. " " + 5 p. " "	0	hémolyse faible

complet, riche en cellules, mais traité au préalable par des congélations et des réchauffements successifs pour amener la désintégration des cellules, on constate que le pouvoir hémolytique ne varie pas d'un liquide à l'autre. Cela ressort clairement de l'essai suivant.

L'exsudat complet, renfermant les produits de la désintégration de l'ensemble des leucocytes ne devient pas plus actif sur les hématies de poule sensibilisées. Il en serait différemment si les leucocytes jouaient un rôle actif dans la sécrétion du complément hémolytique.

3) Phénomène de Pfeiffer. Les extraits leucocytaires préparés avec des éléments en majorité polynucléaires, à défaut du complément hémolytique renferment-ils la substance active sur les microbes, et en particulier sur le vibron du choléra?

Le phénomène de Pfeiffer va nous fournir un excellent moyen de déceler dans nos liquides d'expériences l'alexine bactériolytique. Il suffit en effet de traces de ce principe pour rendre toute son activité à un sérum provenant d'un animal vacciné contre le vibron cholérique et ne possédant plus vis-à-vis de ce microbe que le pouvoir sensibilisateur, à la suite d'un chauffage à 55—56°. Pour déterminer lesquels de nos produits sont en état de fournir à un tel sérum le complément indispensable pour la transformation globuleuse des vibrions, on place à l'étuve à 37° des mélanges de chacun d'entre eux et d'émulsion en eau salée de vibrions préalablement sensibilisés, puis lavés. On suit à l'aide de préparations colorées sur lamelles, dans des limites de temps variant entre 1/2 heure à 4 heures, les modifications subies par les microbes. Les tableaux ci-dessous nous renseignent sur l'apparition ou l'absence du phénomène dans deux de nos essais et sur son intensité:

Lapin No. XV. Exsudat de 1 jour. Plèvre droite 6 c. c. liquide. 94 % polynucléaires.

Tubes	1/2 heure	1/2 heure	1 heure	2 heures	4 heures
1) 1 p. sérum sang frais 1 p. vibrions sensibilisés	} 20 % b. 1)	} 50 % b.	} 80 % b.	} 95 % b.	} 100 % b.
2) 1 p. sérum sang chauffé 1 p. vibrions sensibilisés					
3) 1 p. sérum exsudat frais 1 p. vibrions sensibilisés	} 25 % b.	} 60 % b.	} 90 % b.	} 100 % b.	} 100 % b.
4) 1 p. sérum exsudat chauffé 1 p. vibrions sensibilisés					
5) 1 p. extrait leucocytes frais 1 p. vibrions sensibilisés	} 0	} 0	} 0	} 0	} 0
6) 1 p. extrait leucocytes chauffé 1 p. vibrions sensibilisés					

Les renseignements fournis par ces tableaux nous montrent la différence nette qui existe entre les sérums d'une part, et les extraits leucocytaires d'autre part au point de vue de l'existence de la substance complémentaire. Dans tous nos essais (14 exactement) toujours cette distinction s'est montrée radicale et n'a jamais varié, ni avec l'âge des exsudats, ni avec la proportion des leucocytes polynucléaires qu'ils renferment. Tandis que les sérums

1) b. = Vibrions transformés en boules.

Lapin No. XX. Exsudat de 2 jours. Plèvre droit 10 c. c. 85 % polynucléaires

Tubes	1/4 heure	1/2 heure	1 heure	2 heures	4 heures
1) 3 p. sérum sang frais 1 p. vibrions sensibilisés	20 % b. ¹⁾	50 % b.	90 % b.	100 %	100 %
2) 3 p. sérum sang chauffé 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0
3) 3 p. sérum exsudat frais 1 p. vibrions sensibilisés	30 % b.	60 % b.	100 %	100 %	100 %
4) 3 p. sérum exsudat chauffé 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0
5) 3 p. extrait leuc. (eau salée) frais 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0
6) 3 p. extrait leucocyt. (eau salée) chauffé 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0
7) 3 p. extrait leucocyt. (ds. sérum chauffé) frais 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0
8) 3 p. extrait leucocyt. (ds. sérum chauffé) chauffé 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0
9) 3 p. extrait leuc. (bouillon) frais 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0
10) 3 p. extr. leuc. (bouillon) chauffé 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0
11) 3 p. eau salée 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0
12) 3 p. bouillon 1 p. vibrions sensibilisés	0	0	0	0	0

frais sont capables de déterminer énergiquement et rapidement le phénomène de Pfeiffer en présence du sérum spécifique, les extraits leucocytaires, au contraire, se comportent comme les sérums chauffés ou les liquides neutres privés de cytase bactériolytique. Et cependant l'on ne peut attribuer le défaut d'alexine à la proportion trop faible de polynucléaires dans les liquides d'exsudats. Pour certains de ceux-ci, cette proportion est supérieure à 90 %. Ces leucocytes d'autre part n'ont pas subi, avant de servir à la préparation des extraits des détériorations suffisantes pour faire passer la totalité des substances actives que leur ensemble détient dans les eaux des lavages nécessaires pour les débarrasser de l'alexine du liquide exsudatif. Après ces lavages la plupart des leucocytes donnaient encore en présence de la bactérie charbonneuse de beaux exemples de phagocytose.

Les faits que nous venons d'exposer nous paraissent en contradiction formelle avec la théorie de Metchnikoff concernant le rôle des leucocytes polynucléaires dans la production de l'alexine microcytasique. Si la théorie de Metchnikoff est vraie on doit s'attendre à obtenir des extraits très riches en microcytase. Or c'est le contraire que nous avons toujours observé. La démonstration de l'élaboration de l'alexine bactériolytique par les élément multinucléés du sang a été faite surtout par Tarassevitch²⁾ qui s'est appuyé uniquement sur le résultat

1) b. = vibrions devenus globuleux, ayant pris la forme de boule.

2) Tarassevitch, loc. cit.

négatif de ses cultures et a négligé la recherche directe du pouvoir vibriocide par la méthode de Pfeiffer. Nous avons fait ressortir combien cette dernière donne des résultats plus précis et plus réguliers. Levaditi¹⁾ a aussi de son côté recherché si l'extrait leucocytaire est capable de réactiver un sérum sensibilisateur préalablement inactivé. Nous pouvons faire à la méthode qu'il a suivie le même reproche que pour ses expériences de phagocytose *in vitro*. Ses extraits de leucocytes sont préparés non pas avec ces éléments cellulaires seuls, mais bien avec l'exsudat complet (cellules et liquide exsudatif). Rien d'étonnant dans ces conditions que ses extraits se soient toujours montrés doués d'activité, les exsudats dont ils proviennent étant alexiques par eux mêmes.

Comme pour les phénomènes d'hémolyse, on observe aussi une différence légère, mais cependant assez bien marquée entre le sérum du sang et le sérum d'exsudat, dans la façon dont ces deux liquides agissent sur les microbes du choléra sensibilisés. A l'inverse de ce qui existe pour le pouvoir hémolytique, c'est le sérum d'exsudat frais qui se montre le plus actif.

Des expériences entreprises pour rechercher à quoi doit être attribuée cette différence entre les deux sérums, nous ont montré l'existence dans le sang et le liquide exsudatif du lapin de propriétés très intéressantes. Mis en présence de vibrions cholériques normaux, ces liquides, chez certains lapins, se comportent vis-à-vis de ce microbe comme du sérum d'animaux vaccinés. Ils déterminent à l'état frais la transformation des vibrions en éléments globuleux avec une énergie que l'on ne rencontre pas d'ordinaire dans les sérums d'animaux normaux, les phénomènes étant toutefois toujours moins marqués qu'avec les sérums préventifs frais.

L'analogie peut-elle être poussée plus loin; en d'autres termes, les sérums de sang et d'exsudat du lapin renferment-ils normalement une sensibilisatrice pour le microbe du choléra? Pour nous en assurer, nous avons recherché si ces sérums inactivés par un chauffage à 55° récupèrent leurs propriétés vibriocides par l'addition d'une petite quantité de sérum frais provenant d'un animal d'une autre espèce, et trop faible par elle-même pour déterminer une attaque accentuée des microbes.

Les sérums du sang et d'exsudat de lapin se comportent donc comme s'ils jouissaient de l'une des propriétés des sérums spécifiques, celle de sensibiliser les vibrions à l'action de la cytase. On sait que de semblables sensibilisatrices existent chez certains animaux normaux. Levaditi²⁾, notamment, a signalé les propriétés sensibilisatrices pour le vibron cholérique des sérums inactivés du cobaye et du rat. Il en existe également pour d'autres microbes. Malvoz a montré la présence de ces propriétés pour la bactéricide charbonneuse dans le sang du chien adulte.

Le pouvoir sensibilisateur un peu plus accusé du sérum d'exsudat liquide riche en leucocytes, nous a incités à penser que les éléments cellulaires interviennent peut-être dans la sécrétion de cette substance. Pour résoudre cette question nous nous sommes adressés à nos extraits de globules blancs. Incapables de produire par eux-mêmes, comme nous l'avons démontré, le phénomène de Pfeiffer, ces extraits additionnés d'une faible quantité d'alexine deviennent au contraire des plus actifs.

1) Levaditi, Etat de la cytase dans le plasma. (Ann. Pasteur. 1901. p. 900.)

2) Levaditi, loc. cit.

Lapin No. XXIII. Exsudat de 2 jours. Plèvre droite 6 c.c. liquide. 86% polynucléaires.

Tubes	1/4 heure	1/2 heure	1 heure	1 1/2 heures	2 heures
1) 12 p. sérum sang chauffé 4 p. vibrions normaux 2 p. sérum cobaye normal frais	} 5 % b. 1)	20 % b.	60 % b.	90 % b.	100 %
2) 12 p. sérum sang frais 4 p. vibrions normaux 2 p. eau salée	} 5 % b.	15 % b.	50 % b.	75 % b.	100 %
3) 12 p. sérum sang chauffé 4 p. vibrions normaux 2 p. eau salée	} 0	0	0	0	0
4) 12 p. sérum exsudat chauffé 4 p. vibrions normaux 2 p. sérum cobaye normal frais	} 10 % b.	30 % b.	80 % b.	100 %	100 %
5) 12 p. sérum exsudat frais 4 p. vibrions normaux 2 p. eau salée	} 10 % b.	40 % b.	70 % b.	100 %	100 %
6) 12 p. sérum exsudat chauffé 4 p. vibrions normaux 2 p. eau salée	} 0	0	0	0	0
7) 12 p. eau salée 4 p. vibrions normaux 2 p. sérum cobaye normal frais	} 0	0	0	0	10 % b.

Certains de nos extraits transforment dans ces conditions les vibrions en globules avec une intensité et une rapidité à peu près aussi grandes que le sérum frais d'un lapin vacciné. Il en va de même quand on ajoute de l'alexine non plus à des extraits frais, mais à des extraits chauffés une demi-heure à 55—56°.

Cette propriété de nos extraits de leucocytes, en majorité polynucléaires, est bien due à une véritable substance sensibilisatrice pour les vibrions du choléra. Ce fait découle des essais suivants:

Des vibrions normaux émulsionnés en eau salée sont mis à 37° pendant 5 heures dans de l'extrait en eau salée de globules blancs provenant d'un exsudat de 1 jour et contenant 95% de cellules multinucléaires; le mélange est fait dans le rapport de 10 parties d'émulsion microbienne pour 5 parties d'extrait. Cinq heures après, le mélange est énergiquement centrifugé de façon à obtenir par la décantation un liquide absolument séparé des microbes. On remet ensuite dans ce liquide (que nous désignerons sous le nom de centrifugat 1), de nouveaux vibrions normaux en faible quantité, et après un second séjour de 5 heures à 37°, on recherche si ces microbes sont encore influencés par le liquide du centrifugat 1, c'est-à-dire s'ils sont plus sensibles que d'autres à l'action de l'alexine. Une autre portion du même extrait leucocytaire est soumise aux mêmes opérations, mais sans la première addition de microbes (c'est le centrifugat 2).

La comparaison des propriétés de ces deux mélanges nous montre bien la fixation par les microbes du choléra d'une bonne partie de la substance qui dans nos extraits les sensibilise à l'action de la cytase. Ces extraits jouissent donc de l'une des propriétés les plus importantes des sérums d'animaux vaccinés, mais à un degré moindre; comme pour ces derniers la substance active est fixée par les vibrions. En d'autres

1) b. — vibrions devenus globuleux.

Tubes	1/4 heure	1/2 heure	1 heure	3 heures
1) 6 p. centrifugat 1 1 p. vibrions normaux 1 p. sérum cobaye normal frais	0	5 % b. 1)	20 % b.	40 % b.
2) 6 p. centrifugat 2 1 p. vibrions normaux 1 p. sérum cobaye normal frais				
	20 % b.	70 % b.	100 % b.	100 % b.

termes, nos extraits de leucocytes polynucléaires du lapin se comportent absolument comme s'ils possédaient une certaine proportion de substance sensibilisatrice pour les vibrions cholériques. C'est vraisemblablement à ce produit leucocytaire que doit être attribuée la différence d'action signalée entre le sérum du sang et le sérum d'exsudat du lapin. L'état actuel de nos travaux sur ce sujet ne nous permet pas de conclure à la spécificité ou non de cette substance pour le vibron cholérique. Nos recherches n'ont porté jusqu'à présent que sur ce seul microbe. Toutefois les hématies de la poule ne paraissent pas influencées par nos extraits de leucocytes.

C'est à cette propriété très intéressante de ces extraits, que nous avons fait allusion précédemment pour montrer que leur mode de préparation faisait bien passer dans le liquide qui a servi à les préparer des principes détenus par les globules blancs.

IV.

Au cours des précédentes recherches, nous avons montré combien les faits observés étaient peu favorables à la thèse de l'origine leucocytaire de la cytase. Il était intéressant de se demander si ces résultats se maintiennent quand on s'adresse pour résoudre ce problème à l'expérimentation chez l'animal vivant.

Cette question du sort des éléments figurés injectés dans l'organisme a fait l'objet de nombreux travaux dont les conclusions sont contradictoires. Le phénomène de Pfeiffer par introduction directe de vibrions cholériques dans la cavité péritonéale, a soulevé notamment de nombreuses polémiques entre savants, sans donner jusqu'à ce jour une solution qui ne laisse aucun doute sur l'interprétation du phénomène. Les humoristes estiment que le plus souvent la transformation globuleuse des vibrions cholériques précède l'acte de la phagocytose, sans nier toutefois que le phénomène soit possible à l'intérieur du protoplasme leucocytaire. L'école de Metchnikoff attribue dans cette manifestation de la défense de l'organisme un rôle prépondérant aux phagocytes et met sur le compte d'une circonstance tout accidentelle la transformation globuleuse en dehors des cellules. D'après cette école l'introduction dans la cavité péritonéale d'un liquide chargé de microbes suffit pour déterminer immédiatement la désintégration d'une partie des leucocytes. Il se produirait une véritable phagolyse ayant pour conséquence l'apparition dans le liquide exsudatif de la substance complémentaire dont le leucocyte doit être considéré comme le producteur et le dépositaire. Cette divergence d'opinions montre bien la difficulté d'interpréter les faits sur l'observation desquels on est généralement d'accord.

La question serait jugée s'il était possible d'obtenir sur le vivant, comme nous l'avons réalisé *in vitro*, une émulsion constituée par un

1) b. = vibrions transformés en boules.

grand nombre de leucocytes bien vivants en suspension dans un liquide indifférent pour les vibrions. Ces conditions étant pratiquement irréalisables, tout ce que l'on peut faire dans cet ordre d'idées, c'est d'éviter dans la mesure du possible dans l'expérience de Pfeiffer tout ce qui est considéré, à tort ou à raison, comme étant de nature à altérer les globules blancs. Pour avoir le minimum de phagolyse, Metchnikoff conseille de faire précéder de quelques heures l'introduction des microbes d'une injection intrapéritonéale de bouillon ordinaire ou d'eau salée. Cette injection préalable aurait pour conséquence d'augmenter la résistance des leucocytes vis-à-vis des produits injectés par la suite et de déterminer une hypoleucocytose bientôt suivie d'un afflux de leucocytes qui atteint son maximum au bout de 18 à 24 heures.

Nous nous sommes strictement conformés aux indications fournies par Garnier¹⁾, élève de Metchnikoff, qui préconise de préparer les cobayes d'expériences par une injection de quelques centimètres cubes de bouillon ordinaire frais, porté à 37°, ou d'eau salée à 0,60—1,00‰. Des cobayes vaccinés contre le vibron cholérique et des cobayes normaux (témoins) sont injectés de 4 c. c. de bouillon préparé le jour même; vingt heures après, ils reçoivent dans la cavité péritonéale 1/2 c. c. d'une émulsion en eau salée, chauffée à 37°, de vibrions cholériques provenant d'une culture sur gélose de vingt-quatre heures. Des échantillons d'exsudat sont retirés immédiatement avant l'injection microbienne, puis au bout de trois minutes, six minutes, dix minutes, un quart d'heure, une demi-heure, une heure. Après fixation à l'alcool-éther (une demi-heure) les préparations faites avec ces échantillons sont colorées à l'éosine et bleu de méthylène. Les constatations ayant toujours été identiques quant au fond d'un essai à l'autre, nous ne relaterons qu'une seule de nos expériences.

Cobaye No. XIII. Cobaye immunisé contre le vibron cholérique. Préparé par injection de 4 c. c. de bouillon.

Avant l'introduction des microbes. L'exsudat est trouvé riche en leucocytes, parmi lesquels très peu de mononucléaires (2 à 3%) et plus de 95% de polynucléaires.

3 minutes après l'injection des microbes. La phagocytose est déjà très prononcée. Certains globules blancs renferment des vibrions en grand nombre. Les microbes englobés sont en partie transformés ou en voie de transformation en granules. Mais il n'est pas rare de rencontrer des cellules renfermant à côté d'éléments microbiens plus ou moins altérés des vibrions paraissant intacts.

Les germes non phagocytés sont en amas constitués en grande partie par des vibrions entiers, mais par ci par là un élément globuleux.

Après 5 minutes. La phagocytose est beaucoup plus prononcée. La majorité des cellules ont incorporé des vibrions; parmi ceux-ci on aperçoit maintenant une forte proportion d'éléments globuleux. Certains leucocytes paraissent ne renfermer que des vibrions transformés; chez d'autres, à côté de microbes en boules on peut distinguer des vibrions intacts. En dehors, si le nombre des amas a diminué, la proportion des éléments granuleux a au contraire augmenté; ces amas se montrent constitués de vibrions entiers et de vibrions modifiés à peu près à parties égales.

Après 10 minutes. La proportion des leucocytes ayant englobé des éléments figurés est plus considérable que dans les deux premières préparations. Certains de ces phagocytes paraissent bourrés de microbes en boules, la plupart cependant ne sont pas si riches en microbes, et alors parmi ces derniers on peut distinguer des formes encore non altérées.

En dehors des globules blancs les vibrions ont beaucoup diminué. On voit des amas composés par ci par là de microbes complètement transformés en granules ou de vibrions entiers et d'éléments altérés. Ces amas de granules sont uniformément

1) Garnier, Sur la destruction des microbes dans la cavité péritonéale. (Ann. Pasteur. 1897. p. 767.)

répartis dans nos préparations et ne siègent pas de préférence dans le voisinage immédiat des leucocytes.

Après $\frac{1}{4}$ heure. L'aspect est à peu près le même qu'après 10 minutes. La proportion des microbes phagocytés est un peu plus marquée et l'on n'aperçoit plus que très rarement des vibrions entiers en dedans des leucocytes.

En dehors beaucoup de granules, et rares vibrions intacts.

Après $\frac{1}{2}$ heure. Tous les leucocytes sont pour la plupart littéralement bourrés de granules; par places, ces derniers se colorent assez mal en bleu pâle.

En dehors, rares amas de vibrions totalement transformés en boules et fortement colorés en bleu. Plus de vibrions intacts.

Après 1 heure. Plus de germes non englobés. Les leucocytes toujours très riches en granules mal colorés commencent à diminuer en nombre.

Cobaye No. XIV. Cobaye normal. Témoin du précédent. Préparé et injecté de la même façon.

Avant l'introduction des microbes. Exsudat péritoneal abondant. 95 % polynucléaires.

Après 3 minutes. La phagocytose a débuté, mais n'est guère intense; les leucocytes ayant phagocyté ne sont pas nombreux. Pas de vibrions en granules, ni en dedans ni en dehors, où les microbes sont peu ou pas agglutinés.

Après 5 minutes. Les leucocytes commencent à phagocyter un peu plus énergiquement. Certains d'entre eux renferment plusieurs éléments microbiens. Les microbes englobés paraissent intacts pour la plupart; quelques-uns sont manifestement gonflés. En dehors l'aspect n'a pas changé: les vibrions semblent intacts.

Après 10 minutes. Phagocytose nette, mais loin d'être aussi marquée que dans les préparations de 10 minutes du précédent cobaye (vacciné). Apparition de granules dans les phagocytes.

En dehors, parmi les vibrions intacts, on trouve par ci par là un élément manifestement modifié, en boule.

Après 15 minutes. Les figures de phagocytose deviennent plus nombreuses; beaucoup de globules blancs renferment des vibrions. Ceux-ci sont en partie encore intacts, mais on y voit beaucoup de granules.

En dehors des cellules les vibrions s'altèrent également. Ils sont en majorité complètement transformés ou en voie de granulisation. Les vibrions en boules du dehors ne se concentrent pas dans le voisinage immédiat des cellules, mais sont uniformément répartis.

Après $\frac{1}{2}$ heure. L'aspect des préparations s'est sensiblement modifié. En dehors des leucocytes les vibrions, moins nombreux, ont subi pour la plupart l'altération de Pfeiffer.

En dedans, la proportion des vibrions a considérablement augmenté. Presque tous les leucocytes participent à l'acte de la phagocytose; mais dans les phagocytes la transformation granuleuse n'atteint pas tous les éléments. A côté de granules, et ce dans de nombreuses cellules, on voit très nettement deux et trois, et parfois plus, vibrions paraissant indemnes quant à la forme. On observe que certains de ces vibrions entiers englobés ne prennent plus aussi énergiquement la couleur basique.

Après 45 minutes et surtout après 1 heure, l'aspect des préparations est des plus caractéristiques. Il est plus facile de découvrir un vibron entier en dedans des phagocytes qu'en dehors; le nombre des microbes non englobés, il est vrai, a fortement baissé, mais il est encore assez conséquent. On n'y compte plus que des granules.

En dedans des leucocytes, la proportion de microbes modifiés a aussi augmenté mais on y trouve encore par ci par là des vibrions normaux se colorant assez mal en bleu.

A la vérité, de l'observation des faits chez l'animal vacciné, il est difficile de tirer une conclusion sur la présence ou l'absence de complément normalement en dehors des leucocytes. Les phénomènes de phagocytose y sont si intenses, la transformation en granules si rapide qu'il n'est guère possible de démêler lequel de ces deux phénomènes est en avance sur l'autre. Remarquons toutefois que dès qu'on observe la présence de vibrions globulés dans le protoplasme phagocytaire, on en trouve également dans le milieu ambiant. Metchnikoff et son école expliquent cette coïncidence, qu'ils considèrent comme une anomalie, par la phagolyse d'un certain nombre de leucocytes qui répandraient ainsi leur alexine dans le liquide péritonéal. Peut-on encore admettre cette manière de voir après nos expériences sur la résistance des globules

blancs? Pourquoi certains leucocytes souffriraient-ils tant d'un contact avec une émulsion de microbes en eau salée alors que la majorité de ces mêmes éléments en est si peu incommodée qu'elle se met à phagocyter énergiquement, déjà trois minutes après l'introduction des microbes. Si même les toutes premières formes en boules apparaissaient dans les leucocytes, avant tout trace du phénomène de Pfeiffer en dehors des éléments cellulaires, ce fait trouverait son explication dans cette particularité qu'ont les leucocytes de posséder une sensibilisatrice naturelle capable de hâter la transformation globuleuse des vibrions déjà imprégnés d'alexine à l'extérieur.

Chez le cobaye normal, grâce à l'absence du pouvoir sensibilisateur spécifique, provenant de la vaccination, les phénomènes marchent avec moins de rapidité et l'observation en est plus aisée. Les débuts de la défense de l'animal éprouvé consistent dans la phagocytose d'un certain nombre de vibrions intacts. Ce n'est qu'après un certain temps que le phénomène de Pfeiffer fait son apparition et à ce moment, si l'on constate l'existence de boules dans les leucocytes, les vibrions dans le liquide inflammatoire n'ont pas échappé non plus à la transformation globuleuse; ce phénomène s'accroît et s'achève chez les vibrions libres au point qu'à un moment donné il devient, pour ainsi dire, impossible de trouver un vibron libre dans le liquide d'exsudat. Et cependant à ce moment, et même après la phagocytose complète des éléments microbiens du dehors, il n'est pas difficile de trouver dans les leucocytes des vibrions encore parfaitement intacts. Comment expliquer cette résistance des microbes dans un milieu éminemment favorable à leur transformation — puisque sensibilisateur par lui-même — si ce n'est par l'absence complète d'alexine dans le protoplasma leucocytaire. Ces vibrions entiers ne sont-ils pas ceux qui, phagocytés peu après l'injection, ont subi pendant un temps insuffisant le contact de la cytase de l'exsudat, et une fois englobés, n'ont plus trouvé chez leur hôte le complément indispensable à leur métamorphose?

Des expériences entreprises chez le rat, et que nous allons relater brièvement, nous ont donné des résultats plus nets encore que ceux obtenus chez le cobaye.

Rat III. Rat d'égoût de grande taille. Reçoit dans la cavité péritonéale, 24 h. après une injection de 3 c.c. de bouillon frais, un demi-centimètre cube d'émulsion en eau salée à 37° de vibrions sensibilisés et lavés.

Après 3 minutes. La phagocytose est déjà très accusée; la plupart des leucocytes ont englobé des vibrions.

En dehors, petits amas de microbes. Pas plus en dedans qu'en dehors des cellules on n'aperçoit de boules.

Après 10 minutes. Les leucocytes ont englobé des vibrions en plus grand nombre. Les microbes phagocytés sont en grande partie en boules.

En dehors dans les amas la moitié des vibrions sont transformés.

Après 20 minutes. Beaucoup de boules à l'intérieur des leucocytes.

En dehors il n'y a plus que de rares vibrions non transformés. Tous, ou à peu près, sont en boules comme dans les leucocytes.

Après 40 minutes. Les leucocytes sont tous farcis de boules.

En dehors, le nombre des vibrions a fortement diminué. On ne voit plus de vibrions entiers.

Après 1 heure. Les leucocytes diminuent en nombre. En dedans les boules semblent se fragmenter et prennent de préférence la couleur acide.

En dehors par ci par là un petit amas de boules bleues.

Rat IV. Traité comme le précédent, mais les vibrions ne sont pas sensibilisés. Après 3 minutes. La phagocytose est peu prononcée, faible. Quelques rares leucocytes ont englobé des vibrions. Pas de boules.

Après 10 minutes. La phagocytose s'accroît. Beaucoup de cellules renfer-

ment des microbes, parfois en assez grand nombre. A l'intérieur on voit des boules à côté de vibrions entiers.

En dehors les boules ont aussi fait leur apparition et elles ne sont pas rares. L'aspect général des préparations donne l'impression que le phénomène est plus marqué dans les phagocytes.

Après 20 minutes. Dans les leucocytes, vibrions entiers et boules.

En dehors le nombre des microbes a diminué. Une bonne moitié de ceux qui restent montre le phénomène de Pfeiffer. Les boules sont uniformément réparties dans les préparations. On ne les trouve pas de préférence dans le voisinage des leucocytes.

Après 30 minutes. A l'intérieur des leucocytes beaucoup de boules, mais les vibrions intacts ne sont pas rares.

A l'extérieur presque tous les vibrions sont globulisés.

Après 1 heure. Presque tous les leucocytes ont participé à l'acte de la phagocytose. Si la majorité des éléments inclus est constituée par des boules il n'est cependant pas difficile de trouver des phagocytes renfermant des microbes non modifiés.

En dehors les quelques vibrions libres sont en boules.

Les vibrions sensibilisés ou non, introduits dans la cavité péritonéale de rats subissent le phénomène de Pfeiffer, en dedans comme en dehors des cellules. Il n'y a qu'une différence de degré dans l'intensité et la rapidité du phénomène qui est plus marqué dans le cas des vibrions sensibilisés. La phagocytose de ces derniers est également plus prononcée et débute plus tôt. Le fait prépondérant, capital, de la transformation extracellulaire des vibrions apparaît encore ici avec toute sa netteté. Un autre fait digne de remarque est la répartition uniforme des vibrions globulisés dans le liquide inflammatoire sans qu'il soit possible d'établir un rapport même de voisinage, comme le fait Levaditi, entre ceux-ci et les phagocytes. Ces derniers sont d'ailleurs si peu altérés qu'après un certain temps on n'en trouve plus guère n'ayant pas participé à l'acte de la phagocytose.

Nous avons complété nos expériences „in anima vili“ par l'introduction de vibrions directement dans le système vasculaire. Pour éviter l'hypoleucocytose qui succède immédiatement à toute injection de microbes dans la circulation générale, nous avons répété l'expérience de Levaditi¹⁾ qui consiste à étudier le sort des vibrions cholériques dans un territoire vasculaire périphérique isolé immédiatement après l'introduction des microbes.

Lapin No. XXV. Lapin fortement vacciné contre le vibron cholérique. Reçoit dans la jugulaire une injection préparatoire de bouillon ordinaire fraîchement préparé (5 c.c.). Quatre heures après, on introduit dans la circulation $\frac{1}{2}$ c.c. d'une émulsion très riche en vibrions cholériques normaux. Immédiatement après l'une des oreilles est isolée de la circulation au moyen d'une ligature élastique bien serrée. Du sang prélevé à cette oreille avant l'injection de bouillon, puis au moment de l'introduction des microbes, puis enfin après la ligature, est étalé et coloré sur lamelles.

Avant. Les préparations faites avant l'introduction des microbes dans la circulation montrent que l'injection préparatoire de bouillon est suivie d'une forte leucocytose polynucléaire; on observe en même temps que le nombre des plaquettes sanguines suit la marche ascendante de la proportion des leucocytes.

Après 5 minutes. Les vibrions injectés dans la jugulaire sont retrouvés dans l'oreille liée déjà en partie phagocytés. Plusieurs leucocytes montrent des vibrions intacts ou en train de se transformer en granules; quelques-uns de ceux-ci paraissent tout à fait globuleux.

En dehors, on retrouve assez bien de vibrions; les uns sont tout à fait libres et intacts; d'autres, en plus grand nombre, paraissent accolés à des amas de plaquettes. Parmi ces derniers on en voit qui sont manifestement en voie de granulation.

Après 10 minutes. A l'intérieur de globules blancs les vibrions ont augmenté en nombre et sont tous en boules.

1) Levaditi, l. c. p. 920.

En dehors, les microbes non phagocytés, accolés aux plaquettes sont à peu près tous devenus globuleux.

Après 20 minutes. En dedans comme en dehors des leucocytes les vibrions ont subi le phénomène de Pfeiffer.

Après 30 minutes. On ne retrouve plus de vibrions en dehors. Tous sont englobés et transformés en boules.

Lapin No. XXVI. Lapin normal, témoin du précédent. Préparé et injecté de la même façon. Sang prélevé à l'oreille liée.

Avant. Hyperleucocytose très marquée; augmentation du nombre des plaquettes.

Après 5 minutes. Très peu de phagocytose; pas de transformation microbienne.

Après 10 minutes. Phagocytose encore peu marquée. Quelques leucocytes ont englobé des vibrions qui paraissent intacts. En dehors les vibrions sont en grande partie accolés aux plaquettes et ne sont pas modifiés.

Après 20 minutes. La phagocytose s'accroît. Un leucocyte sur deux a phagocyté. A l'intérieur les vibrions englobés en assez grand nombre sont pour la plupart en boules. A l'extérieur les vibrions accolés aux plaquettes sont en grande partie globuleux.

Après 30 minutes. Phagocytose très nette. Les vibrions englobés sont à peu près tous transformés et en voie de granulation.

En dehors on voit encore assez bien de vibrions toujours accolés aux plaquettes et à peu près tous globuleux.

Après 45 minutes. Boules partout en dedans et en dehors des cellules où il ne persiste plus que quelques rares vibrions.

Les expériences dans le système circulatoire confirment pleinement nos recherches sur les injections dans la cavité péritonéale. Les phénomènes se produisent dans le même ordre et ont la même signification. Ici comme là, la présence de vibrions modifiés dans les leucocytes coïncide avec la production simultanée du phénomène de Pfeiffer chez les vibrions libres, ce qui ne permet pas d'inférer que les leucocytes ont le monopole de cette transformation. Il ne semble pas non plus y avoir de rapport de voisinage entre les microbes en boules et les leucocytes, mais bien plutôt entre les amas de plaquettes sanguines et les vibrions, comme l'a déjà observé Levaditi¹⁾. Ce fait a-t-il une signification de cause à effet ou est-il simplement dû aux propriétés adhésives des corpuscules de Bizzozero, c'est là une question très intéressante sans doute mais qu'il nous est actuellement impossible de résoudre. Nous avons toutefois remarqué à maintes reprises dans des recherches n'ayant pas trait à ce travail, que les bacilles charbonneux injectés dans la circulation, se retrouvent aussi accolés aux plaquettes sanguines.

Nous ne pourrions mieux comparer nos expériences chez l'animal vivant qu'avec nos essais de phagocytose in vitro. Celui de nos mélanges qui dans ces essais contient des leucocytes en contact avec des vibrions sensibilisés en présence d'alexine, représente le cobaye vacciné préparé et injecté de vibrions normaux; le mélange où des leucocytes, baignant dans un liquide alexique, sont additionnés d'une émulsion de vibrions normaux peut être assimilé au cobaye normal préparé et injecté de vibrions normaux. Ces expériences peuvent se superposer dans leurs résultats comme dans leur interprétation. Les enseignements généraux qui s'en dégagent peuvent se formuler comme suit:

1° L'injection d'une émulsion de microbes, soit dans la cavité péritonéale, soit directement dans la circulation sanguine, ne paraît pas avoir d'influence nocive sur les leucocytes; la phagocytose précoce des éléments injectés et la généralisation rapide de ce processus en font foi.

1) Levaditi, l. c. p. 916.

2° Le phénomène de Pfeiffer s'accomplit dans le plasma sanguin et dans le liquide d'exsudat, ce qui exige la présence d'alexine dans ces milieux. La théorie de la phagolyse étant, comme nous l'avons démontré, dénuée de fondement, on ne peut rattacher l'existence de la cytase à la destruction d'une partie des globules blancs. Il faut donc admettre que l'alexine existe normalement dans le sang et les exsudats inflammatoires, sans intervention active ou passive des leucocytes.

3° Les leucocytes se montrent impuissants à transformer en boules les vibrions englobés: lorsque ceux-ci sont soustraits par la phagocytose hâtive à l'action du liquide hautement sensibilisateur et alexique qu'est l'exsudat, ils sont digérés par les phagocytes sans présenter le phénomène de Pfeiffer. Ce fait implique, semble-t-il, le défaut complet de cytase dans les éléments nucléés du sang.

V.

Conclusions générales.

Avant de déduire les conclusions générales de notre travail, rappelons d'abord brièvement les résultats auxquels nous ont conduits nos études „in anima vili“ et „in vitro“.

1° Les leucocytes ne sont pas des éléments fragiles, facilement altérés par les causes physiques. Ce sont au contraire des cellules assez résistantes, capables de supporter des centrifugations répétées et de survivre à des changements de milieu tels que le passage dans l'eau salée.

2° Les leucocytes se sont montrés impuissants à réaliser le phénomène de Pfeiffer, même lorsque l'un des deux éléments nécessaires à la production de ce phénomène, la sensibilisatrice, leur a été fourni.

3° Les leucocytes peuvent cependant, même en milieu indifférent, englober des microbes à l'état vivant, avant toute altération de ceux-ci et leur faire subir des modifications profondes, grâce sans doute aux sucs digestifs qu'ils élaborent.

4° Le liquide d'exsudat dépouillé de ses éléments bien vivants s'est montré hémolytique et bactériolytique au même titre que le sérum ou le plasma sanguin.

5° Les extraits préparés par la méthode de Buchner à l'aide de leucocytes vivants sont dépourvus du complément nécessaire à l'hémolyse des hématies et à la transformation de Pfeiffer des vibrions du choléra.

Si l'on connaissait la nature exacte de l'alexine, le problème de son origine et de son mode d'action serait probablement bientôt résolu. Malheureusement, la question de la composition chimique de cette substance fait encore partie du domaine de l'hypothèse, et l'accord est loin d'être établi à ce sujet. Tandis que l'école de Metchnikoff et aussi, en partie au moins, celle d'Ehrlich, la considèrent comme une diastase, d'autres tendent plutôt à admettre que l'alexine serait peut-être une substance protéique normale du plasma sanguin. Nolf¹⁾ a prouvé que l'alexine n'était pas un ferment protéolytique et Gruber ainsi que Hahn²⁾ paraissent s'être ralliés à sa manière de voir: Nolf pense que l'alexine agit à la façon des agents chimiques d'hémolyse dont il a étudié en détails le mécanisme particulier.

Quoiqu'il en soit de la nature vraie de la cytase, nos expériences nous permettent tout d'abord de conclure que cette substance existe

1) Nolf, Le mécanisme de la globulolyse. (Ann. Pasteur. 1900. p. 656.)

2) Congrès de Bruxelles. T. II. Hygiène. Bactériologie. p. 6.

librement dans le sang circulant. Cette opinion trouve sa démonstration dans les expériences de Falloise et dans nos propres recherches. Il n'existait contre celles-ci qu'une seule objection posée par Metchnikoff au Congrès de Bruxelles (1903): la phagolyse des globules blancs par la centrifugation. Nos études sur la résistance des leucocytes ont suffisamment démontré l'inanité de cette prétendue cause d'erreur pour qu'on puisse encore maintenant l'opposer à ces résultats. La théorie de la phagolyse qui d'ailleurs n'avait pour elle aucun fait expérimental direct, devient actuellement insuffisante pour réfuter la thèse des humoristes, et les faits argués par les partisans de cette thèse récupèrent toute leur valeur devant la réponse à l'argument essentiel de l'école de Metchnikoff. D'autre part, dans nos expériences *in vitro*, les leucocytes bien vivants et dépouillés de toute trace de liquide plasmatique, ont été incapables de produire le phénomène de Pfeiffer, même après phagocytose, sur des vibrions sensibilisés. Les extraits retirés des leucocytes ne renferment pas davantage le complément.

Pouvons-nous dire dès lors avec l'école de Metchnikoff que la cytaxe prend naissance au sein du protoplasme des globules blancs? L'alexine de Buchner est à notre avis une substance organique indépendante des leucocytes morts ou vivants.

Les savants qui sont d'avis contraire étayaient leur opinion sur les propriétés bactéricides des sérums et des extraits leucocytaires vis-à-vis de microbes tels que le bacille du charbon, le coli, le typhosus. Rien ne prouve que ces propriétés soient bien dues à la véritable alexine. Pirenne ¹⁾ a montré notamment pour la bactériodie charbonneuse, que le pouvoir bactéricide si marqué du sérum de rat persiste après la disparition de l'alexine vraie.

Celle-ci n'en doit pas moins jouer un rôle très important sans doute dans la défense de l'organisme vis-à-vis des éléments infectieux. Si elle n'intervient pas directement dans les phénomènes de digestion intracellulaire, elle est un adjuvant précieux dont doit bénéficier l'organisme en ce sens qu'elle tue ou altère profondément certains microbes, et contraire ainsi leur développement.

L'action des leucocytes est cependant indéniable. Il n'est pas douteux, et nos recherches le montrent d'une façon bien nette, que ces cellules jouissent de la faculté de phagocyter des microbes vivants et de les digérer. Des leucocytes baignant „*in vitro*“ dans un milieu indifférent (eau salée ou sérum chauffé) ont englobé des microbes provenant d'une culture jeune et n'ayant subi aucune influence cytotoxique; ils attaquent ces microbes par leurs sucs digestifs, les désagrègent et les résorbent. On sait que l'on a attaqué bien des fois, en Allemagne particulièrement, la théorie de Metchnikoff, en soutenant que les leucocytes n'englobent que des microbes ou tués ou déjà très altérés, les phagocytes ne jouant qu'un rôle passif dans la défense de l'organisme. Cette thèse n'est pas soutenable: l'éminent fondateur de la théorie phagocytaire avait raison en affirmant que les microbes sont englobés vivants et les recherches classiques de Bordet et Denys sont également confirmées par nos constatations. Mais la substance douée du pouvoir de digérer les microbes au sein des phagocytes n'est pas l'alexine de Buchner, contrairement à ce que soutient Metchnikoff.

1) Pirenne, l. c.

Cette dernière substance ne paraît pas être un ferment digestif. Les leucocytes n'ont rien à voir avec son élaboration et certains liquides organiques la possèdent normalement en dissolution.

Il restera à établir par de nouvelles recherches quel est, étant donnée l'indépendance entre l'alexine de Buchner-Bordet et les leucocytes, le véritable rôle et la participation de cette alexine dans les diverses immunités.

On peut soutenir en tous cas, d'après ce que nous savons à présent, qu'il existe deux processus de défense: la phagocytose d'une part, démontrée déjà pour un grand nombre d'éléments infectieux, l'action cytotoxique du plasma d'autre part, dont le mécanisme est tout différent de celui des leucocytes, ainsi qu'il semble bien ressortir des recherches qui font l'objet de ce travail.

Liège, Octobre 1905.

Nachdruck verboten.

Lymphocyt und Tuberkelbacillus.

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

Von

Dr. Julius Bartel und **Dr. Wilhelm Neumann**,
Assistenten. Volontärarzt am Institute.

Während die große Mehrzahl der Autoren, die sich in den letzten Jahren mit Fragen der Immunität und der Abwehrrichtungen des Organismus gegen Infektionserreger befassen, ihr Hauptaugenmerk dem Blutserum und seinen wirksamen Stoffen oder den polynukleären Leucocyten mit ihrer phagocytären oder sekretorischen Fähigkeit zuwendeten, wurde die Bedeutung der lymphocytären Organe — Thymus, Lymphdrüsen und Milz in erster Linie — damit der Lymphocyt mehr weniger außer acht gelassen. Immerhin beschäftigen sich eine Reihe von Arbeiten mit der Bedeutung dieser Organe. So kommt Perez (1), ausgehend von den Erscheinungen des latenten Mikrobismus in anscheinend vollkommen unveränderten Lymphdrüsen, zum Schlusse, daß diese als weiteres Moment zum Schutze des Körpers gegen eingedrungene Mikroben in Betracht kämen, indem zur Phagocytose und dem bakteriziden Vermögen der Gewebssäfte noch der zurückhaltende und abschwächende Einfluß der Lymphdrüsen sich geselle, Ansichten, die auch von Haan (2) in einer ungefähr gleichzeitigen Arbeit vertreten werden. Zu ähnlichen Anschauungen gelangen auch Besançon et Labbé (3) auf Grund ihrer eingehenden Untersuchungen über die histologischen Veränderungen der Lymphdrüsen bei künstlich gesetzten Infektionen mit Milzbrand, Staphylokokken und Diphtheriebacillen. Sie sprechen sich dahin aus, daß die Lymphdrüsen vermöge der phagocytierenden Tätigkeit ihrer Reticulumzellen neben der Injektionsstelle ein zweites Zentrum der Phagocytose darstellen, daß sie die Mikroorganismen zurückhalten und ihre Virulenz abschwächen; denn, fügen sie hinzu, ohne dafür experimentelle Belege zu erbringen, Bakterien, die in den Lymphdrüsen gewachsen waren, erwiesen sich weniger virulent als die, welche man aus der Injektionsstelle züchten konnte. Sie fassen ihre Ansicht kurz dahin zusammen, daß die Lymphdrüsen die Polizei der Lymph-

zirkulation bilden, gleichwie die Milz jene des Blutes darstelle. Aehnlich äußert sich auch Albrecht (4) in einem Vortrage über die folliculären Apparate des Darmtraktes, indem er meint, daß die Lymphdrüsen die eingedrungenen Keime zurückhalten und teils durch die phagocytäre Tätigkeit der Endothelzellen, teils durch die sekretorische der Lymphocyten vernichten. Ja, Schwarz (5) weist ihnen sogar bei Infektionen des Blutes eine bedeutende Rolle zu. Denn er konnte bei Injektion von Typhusbacillen in die Blutbahn feststellen, daß die Bacillen noch zu einer Zeit in den blutbildenden Organen, Milz, Knochenmark und Lymphdrüsen, vorhanden waren, zu welcher sie im zirkulierenden Blute nicht mehr gefunden werden konnten und zieht daraus den Schluß, daß die Mikroorganismen nicht ausschließlich im Blute der Gefäße durch die bakteriziden Kräfte der Körperflüssigkeiten zu Grunde gehen, sondern durch die Zelltätigkeit obenerwähnter Organe ohne wesentliche Mithilfe der Phagocytose allmählich vernichtet werden.

Einen bakterizid wirkenden Stoff in lymphoiden Organen wies zuerst Hankin (6, 7, 8) nach und reihte ihn seinem chemischen Verhalten gemäß unter die Globuline, indem er ihn mit dem Zellglobulin β Haliburtons identifizierte, das sich besonders leicht aus lymphatischen Drüsen verhältnismäßig rein darstellen lasse. Freilich konnte Bitter (9), der mit denselben Methoden seine Befunde einer Nachprüfung unterzog, diese Beobachtungen nicht bestätigen, wohl aber mittels der Versuchstechnik von de Christmas (10) tatsächlich bakterienfeindliche Körper aus den verschiedensten tierischen Organen gewinnen, deren Eiweißnatur er offen läßt. Christmas hatte nämlich gezeigt, daß sich aus der Leber, der Milz, dem Herzen, der Niere und den Lungen von getöteten Tieren Stoffe extrahieren ließen, die das Milzbrandwachstum hemmten. Auch Livingood (11), der frische Preßsäfte von Leber, Milz und Nebennieren auf Coli-, Typhus-, Milzbrand-, Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen einwirken ließ, konnte in allen diesen Organen wachstumshemmende Stoffe nachweisen, die beim Erhitzen ihre Wirksamkeit verloren. Zu davon abweichenden Resultaten gelangte Wauters (12), da weder die Darmfollikel, noch die Milz, die Thymus und die Lymphdrüsen ein bakterizides Vermögen gegen Staphylokokken und Heubacillen äußerten, während das Knochenmark als Bildungsstätte der polynukleären Leukocyten, Leukocytensextrakte und auch andere Organe, so namentlich das Bindegewebe sich sehr wirksam erwiesen. Auch Cheesmann und Meltzer (13), welche Bakterien direkt in die Milz lebender Tiere brachten, schließen aus ihren Resultaten, daß das bakterizide Verhalten des normalen Blutes durch polynukleäre Leukocyten bedingt werde, während der Milz und überhaupt den Organzellen die Bildung der Immunisierung erzeugenden bakteriziden Stoffe zukomme. Am eingehendsten wurde diese Frage von Conradi (14) untersucht. Er zeigte, daß frische Preßsäfte von Milz und Lymphdrüsen gelegentlich das Wachstum von Staphylokokken, Choleravibrionen, Milzbrandbacillen und Proteus hemmen können. Ueberließ er aber diese Organsäfte längere Zeit (7 Tage bis $2\frac{3}{4}$ Monate) der Autolyse, so erwiesen sie sich in jedem Falle und in unendlich höherem Maße wirksam, wobei sich der dabei in Frage kommende Stoff durch seine Coconstabilität wesentlich vom Alexin des Blutes unterschied. Ja, es gelang ihm sogar, durch vorherige oder gleichzeitige Verimpfung autolyzierter Thymus- und Milzsubstanz Kaninchen und Meerschweinchen gegen sonst tödliche Milzbrandinfektion zu schützen.

Dem Komplement bzw. Alexin des Blutes zugehörige Stoffe, welche v. Dungern (15) in der Milz von Meerschweinchen und Kaninchen in sehr geringer Menge vorfand, wiesen Ascoli und Riva (16) wie auch Donath und Landsteiner (17) nach, indem sie im stande waren, durch Injektion von Lymphdrüsensubstanz Antikomplemente zu erzeugen, weshalb erstgenannte Autoren ihre Experimente zwar als Beweis für die Komplemententstehung aus Leukocyten betrachten, während die letzteren daraus folgern, daß „der lymphatische Apparat nicht nur an der Bereitung der bei der Immunisierung entstehenden, sondern auch an der Produktion der normalen, physiologisch wirksamen Bestandteile des Blutserums beteiligt ist und daß demgemäß die lymphatischen Organe in die Reihe derjenigen Organe gehören, die durch ihre innere Sekretion für den Körper wichtig sind“.

Daß nämlich den „blutbereitenden Organen“ eine große Bedeutung für die Bildung der immunisierenden Stoffe zukomme, hatten schon vorher Wassermann für Typhus (18) und Pneumokokken (19), Pfeiffer und Marx (20) für die Cholera vibriolen, Deutsch (21) wiederum für Typhusbacillen nachgewiesen, indem Extrakte daraus sich zu einer Zeit schon wirksam zeigten, zu der das Blutserum noch keine präventiven Eigenschaften besaß. Auch über die Antikörperbildung bei der Hühnerspirillose liegen diesbezügliche Untersuchungen von Levaditi (22) vor, die in mehrfacher Hinsicht Interesse bieten. Unter anderem brachte dieser Forscher Blut, welches diese Spirillen enthielt, mit verriebenen, in Kochsalz aufgeschwemmten Lymphdrüsen von mit den Spirillen vorbehandelten Kaninchen zusammen und prüfte die Virulenz der so behandelten Mikroben durch Verimpfung an „Dominos, Capucins“ und jungen Hühnern. Erst nachdem er diesen Proben Cytase (aktives Blutserum normaler Kaninchen) zugesetzt hatte, blieben die so infizierten Vögel am Leben, einmal sogar in einem Falle, wo das sonst immer ebenfalls wirksame Blutserum sich ohne jeden Schutz erwies. Er schließt daraus, daß die leukocytenbereitenden Organe, worunter er Milz, Knochenmark und Lymphdrüsen versteht, die Antikörper gegen die Hühnerspirillose bilden und meint, daß ein Unterschied bestehe zwischen den jungen „Leukocyten“ in diesen Organen und den „Leukocyten“ des Blutes, indem vor allem den jugendlichen Zellen die Bildung der Schutzstoffe zukomme, die sie rasch ans Plasma abgäben. Auch Manfredi und Viola (23) sprechen sich für die Bedeutung der Lymphdrüsen bei der Immunisierung gegen Milzbrand und Typhus aus, indem sie dadurch eine raschere und nachhaltigere Immunisierung erzielten als durch irgend welche andere Mittel, was sie speziell den biologischen Eigenschaften der Lymphdrüsen zuschreiben.

Ein besonderes Interesse speziell mit Rücksicht auf die Ergebnisse unserer Arbeit verdienen die umfassenden Untersuchungen von Brieger, Kitasato und Wassermann (24) über die antitoxische Wirksamkeit lymphatischer Organe. Sie extrahierten Organbreie von Thymus und Rinderlymphdrüsen und auch Fischsperma mit destilliertem Wasser, sterilisierten dann den kolierten Auszug, indem sie zur Verhütung der Eiweißkoagulation etwas kohlenensaures Natron und noch mehr Wasser zusetzten und fällten daraus mittels Essigsäure Stoffe, die sie in zahlreichen Experimenten auf ihre Beeinflussung von Tetanus-, Cholera-, Diphtherie-, Typhus-, Erysipel-, Milzbrand- und Schweine-rotlaufferregern untersuchten. Dabei stellte sich heraus, daß diese Substanz, den Bouillonkulturen zugesetzt, das Wachstum der Bakterien

zwar unbehindert ließ, dafür aber die Wirkung der Toxine sowohl wie auch der Endotoxine in hohem Maße aufhob. Immunisierungsversuche mit derart entgifteten Bakterien hatten ein außerordentlich rasches Eintreten und einen hohen Grad von Immunität zur Folge, woraus sie auf eine grundsätzliche Verschiedenheit des toxischen und immunisierenden Prinzipes schließen. Ueber ähnliche Resultate dem Tetanus allein gegenüber berichtet auch Kondratjeff (25); denn es gelang ihm, aus der Milz und Nebenniere normaler Pferde Stoffe darzustellen, welche weiße Mäuse in 50 Proz. der Fälle gegen eine unbedingt tödliche Dosis von Tetanustoxin zu schützen vermochten. Ja, selbst gegen Gifte pflanzlicher Natur konnte Römer (26) die Antitoxinbildung in der Milz seiner Versuchstiere nachweisen. Auf dieser giftbindenden Fähigkeit von in Lymphocyten enthaltenen Stoffen mag es auch beruhen, daß die von Carrière und Vauverts (27) aus der Milz von Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen gezüchteten Coli-Bacillen, Strepto-, Staphylo- und Diplokokken, welche nach ihrer Angabe darin häufig normalerweise enthalten sein sollen, entweder gar keine oder eine sehr abgeschwächte Virulenz besaßen. Auch Metschnikoff (28) spricht ja gerade den Makrophagen, zu denen er auch die Lymphocyten rechnet, trotz ihres Mangels an phagocytärer Tätigkeit die Antitoxinbildung zu, indem er sagt: „Die Makrophagen stellen wahrscheinlich die Hauptbildungsstätte der Antitoxine vor. Tatsächlich besitzt das Blut deutlich antitoxische Eigenschaften, wenn die Bakterien speziell von den Makrophagen gefressen werden, z. B. bei der Pest, deren Bacillen besonders von diesen Zellen aufgenommen werden“.

Unberücksichtigt lassen wir hier die Arbeiten jener Autoren, die durch Splenektomie und das Verhalten entmilzter Tiere bei künstlich gesetzten Infektionen einen Schluß auf die Bedeutung dieses Organes für den infizierten Organismus ziehen wollen, wie Bardach (29), Courmont et Duffau (30), Blumreich und Jacobi (31), Georgiewsky (32) u. A., weil durch diesen Eingriff viel zu komplizierte Verhältnisse geschaffen werden, sie sich kaum übersehen lassen. Daraus erklären sich wohl auch zur Genüge die divergierenden Resultate dieser Versuche. Auch die Arbeiten, die sich mit der Bedeutung der Lymphdrüsen und lymphocytärer Organe für die Agglutininbildung beschäftigen, können wir hier füglich übergehen, da ja durch vielfache Untersuchungen erwiesen ist, daß ein Parallelismus zwischen Krankheitsschutz und Agglutinationsvermögen nicht besteht, wie es in jüngster Zeit speziell für die Tuberkulose von Kraus (33) und Jürgens (34) betont wird.

Was nun speziell den Tuberkelbacillus in seinem Verhältnis zu den Lymphdrüsen betrifft, so liegen auch hierüber Angaben vor, die auf eine Beeinflussung desselben durch diese Organe hindeuten. So schließen Manfredi und Frisco (35) aus der anatomischen Struktur der Lymphdrüsen, daß diese gleichsam als Filter dienen und so das Fortschreiten der Bacillen gegen die anderen Teile des Organismus verzögern und aufhalten, sodann dadurch schützend wirken, daß die Bacillen, wenn sie lange im Drüsengewebe bleiben, der auflösenden und langsam keimtötenden Einwirkung dieser Organe erliegen. Freilich bemerkt Baumgarten in einer Fußnote dazu, daß er diese letztere Annahme für rein hypothetisch und zur Erklärung der beobachteten Erscheinungen nicht für notwendig halte. Sie stützen sich nämlich bei ihren Schlußfolgerungen darauf, daß Infektionen auf endolymphatischem Wege — in die vordere Augen-

kammer, durch die Scheidenschleimhaut und durch die äußere Haut — viel günstiger verlaufen und die letale Dosis dabei viel größer ist als subkutaner Injektion. Schon vorher hatte auch Buttersack (36) die Bedeutung der Integrität des lymphatischen Apparates für den erfolgreichen Kampf des Organismus gegen die Tuberkelbacillen eindringlich hervorgehoben, während Cornet (37) im gleichen Jahre (1900) sich folgendermaßen äußert: „Wie weit ferner in den Lymphdrüsen die Anwesenheit zahlreicher Lymphkörper im Metschnikoffschen oder in einem anderen Sinne, der Antitoxinbildung etc., von Einfluß ist, läßt sich noch nicht ermessen“. Marfan (38) wollte ferner daraus, daß die Träger einer wirklich geheilten lokalen Drüsentuberkulose fast nie von Lungentuberkulose befallen würden, schließen, daß gerade in den Lymphdrüsen sich die Schutzstoffe gegen Tuberkulose bilden; doch wird diese auf falschen Voraussetzungen beruhende Angabe von Cornet und Mayer (39) widerlegt. Für die Bedeutung der Lymphdrüsen im Kampf gegen die Tuberkulose könnten endlich noch die Ausführungen Weleminskys (40) herangezogen werden, wonach diese Organe nur einmal zu Beginn der Tuberkuloseinfektion affizierbar seien, dann aber dem Tuberkulosegift gegenüber eine Immunität erlangen sollen.

Experimentell suchte Arloing (41) dieser Frage näherzutreten, indem er skrofulöse Drüsen und Produkte lokaler und allgemeiner Tuberkulose des Menschen an Meerschweinchen und Kaninchen verimpfte, wobei er konstatieren zu können glaubte, daß die in den skrofulösen Drüsen enthaltenen Bacillen auf natürlichem Wege stark abgeschwächt seien. Seine Resultate sind aber auch durch die geringe Zahl der darin enthaltenen Bacillen erklärbar und daher nicht einwandfrei. Dasselbe trifft für analoge Versuche Moores (42) zu. Auch die Ansichten von d'Arrigo (43) und Denis (44), daß die Lungentuberkulose durch virulente, die Knochen-, Gelenks- und Lymphknotentuberkulose durch wenig virulente Tuberkelbacillen bedingt werde, entbehren wohl des experimentellen Beweises, zumal Krompecher und Zimmermann (45) durch Vergleich der Wirksamkeit ihrer aus Lymphdrüsen gezüchteten Kulturen mit jener der Kulturen von Vagedes (46), die aus Lungenherden gewonnen worden waren, zum Schlusse kommen, daß die bei der chirurgischen Tuberkulose vorhandenen Tuberkelbacillen annähernd gleich virulent seien.

Von ganz besonderem Interesse sind aber die Arbeiten Manfredis und seiner Schüler (Perez, Viola, Frisco) über diesen Gegenstand, deren italienische Originalarbeiten uns leider nicht zugänglich waren, worüber aber Manfredi selbst zusammenfassend in Virchows Archiv (47) berichtet. Diese Autoren beschäftigen sich eingehend mit der die Virulenz abschwächenden Bedeutung der Lymphdrüsen den verschiedensten Infektionserregern gegenüber, darunter auch gegenüber dem Tuberkelbacillus und stellen auch darüber Versuche an, ob sich die Lymphdrüsen prophylaktisch gegen die Tuberkulose verwenden ließen. Um die Virulenz vermindernde Fähigkeit der Lymphdrüsen zu erweisen, impfte Perez (1) verschiedene Tiere mit Tuberkelbacillen. Die Impftiere wurden dann 1 Monat nachher getötet und Milz und Lymphdrüsen derselben an weitere Tiere verimpft. Nach der dritten Passage, beim Hunde schon nach der ersten, hatte die Virulenz der Tuberkelbacillen speziell in den Lymphdrüsen, viel weniger in der Milz, bedeutend gelitten, so daß es nur mehr zu chronisch verlaufenden mächtigen Lymphdrüsenanschwellungen, stellenweise mit Verkalkung der Herde, kam. Eine

gänzliche Aufhebung der Tuberkelbacillenwirkung, wie wir sie in unseren Versuchen beobachteten, gelang ihm nicht.

Trotzdem also nach Analogie mit den anderen Infektionserregern auf Grund oben erwähnter Arbeiten vieles dafür spricht, daß gerade bei der Tuberkelbacilleninvasion mit ihrer exquisit lymphogenen Ausbreitung speziell den Lymphdrüsen eine besondere Aufgabe bei Bekämpfung der in Rede stehenden Infektion zukommen müsse, ist aber nach dem vorliegenden Material ein voller Beweis dafür noch keinem Forscher gelungen.

Aus den an anderer Stelle von Bartel (48) angeführten Untersuchungsergebnissen ergibt sich aber, daß es ein Stadium im Infektionsverlauf der Tuberkulose gebe, wo bei Anwesenheit von lebenden Tuberkelbacillen in lymphatischen, nicht spezifisch tuberkulös veränderten Organen durch Verimpfung derselben an Meerschweinchen keine oder nur eine an die Impfstelle gebundene Tuberkulose entsteht. Des weiteren erhellt aus den gleichen Arbeiten, daß lediglich lymphoid hyperplastische Lymphdrüsen lange Zeit wirksam gegen die eingedrungenen Tuberkelbacillen ankämpfen, schließlich auch eine Ueberwindung der gesetzten Infektion in diesem Stadium bewirken können.

Deshalb suchten wir auch in vitro experimentelle Belege für diese Wirksamkeit der lymphatischen Organe, speziell der Lymphocyten, zu erbringen und unternahmen daher die nun folgenden Versuche.

Eigene Versuche.

Ausgangspunkt für alle Versuche bildete derselbe Tuberkelbacillenstamm (dessen IX.—XII. Generation auf Glycerinagar, die verwendeten Kulturen bis 8 Wochen alt), der aus einer Bronchiallymphdrüse eines Sektionsfalles mit chronischer Lungentuberkulose beim Menschen auf Glycerinkartoffel gezüchtet worden war.

Im Texte und in unseren Tabellen bedienen wir uns folgender Abkürzungen:

M. = Meerschweinchen. K = Kaninchen. Hd. = Hund. + u. — = auf spezifisch tuberkulöse Veränderungen bezogen (Gewichtszahlen vorangesetzt für Zu- resp. Abnahme, während = Gewichtszahlen vorangesetzt bedeutet, daß ein Gewicht gleich geblieben ist). Ag. = Anfangsgewicht. Eg. = Endgewicht. Gd. = Gewichts-differenz zwischen Anfangs- und Endgewicht. % Gd. : Ag. bedeutet die Verhältnisprozentzahl der Gewichts-differenz zum Anfangsgewicht (je nach der Ab- oder Zunahme des Gewichtes ist dieser Prozentzahl ein — oder + vorangesetzt). Dz. = Durchschnittszahl. T. a. u. T. z. = Tagesabnahme resp. Tageszunahme (stets als Durchschnittszahl ausgerechnet). ver. u. get. = verendet resp. getötet. Pr. = Probe. Die einzelnen Proben sind mit I, II, III etc. bezeichnet, je nachdem sie sofort (I) oder nach längeren Zeiten verimpft wurden. fr. Pr. = frische d. i. sofort verimpfte Probe. h = Stunde. Tg. = Tag. K. = Kochsalzlösung (stets 0,9 Proz.). a. S. u. i. S. = aktives resp. inaktives Serum. sbc. u. ip. = subkutane resp. intraperitoneale Impfung. Impfungen wurden stets an der rechten Unterbauchseite vorgenommen, daher die rechtseitigen Inguinaldrüsen die regionären Lymphdrüsen bildeten. Impftiere wurden genau beobachtet und anfangs alle Wochen imal, später wöchentlich 2mal gewogen. g. M. = geimpftes Meerschweinchen. Tb. = Tuberkelbacillen.

Bei den Obduktionsbefunden wurden lediglich makroskopisch sichtbare Veränderungen berücksichtigt. Gelegentliche mikroskopische Untersuchungen sind besonders vermerkt.

I. Reihe.

Beginn derselben am 28. Jan. 1905. Ausgangspunkt derselben bildete eine zart getrübe Aufschwemmung von Tb. in K. Dieselbe wurde in gleichen Quantitäten

1) Kochsalzlösung,
2) einer Emulsion von mit Kochsalzlösung verriebenen Mesenteriallymphdrüsen vom normalen Kaninchen zugesetzt.

Sofort nach der Mischung wurden je 2 Meerschweinchen subkutan geimpft, so

zwar, daß jedes Meerschweinchen die gleiche Menge der ursprünglichen Tb.-Aufschwemmung injiziert erhielt. Die Impftiere wurden wöchentlich 1mal gewogen.

verimpfte Proben	ver.	Verhalten des g. M. nach den Gewichtszahlen Ag., Eg., Gd.	% Gd. : Ag.	T. a. auf 100 gerechnet	T. z. auf 100 gerechnet
1) Tb. + K.	M ₁	24. Tg. 215 Ag. — 195 + 208 — 205 = 205 Eg. 205 Gd. — 10	— 4,0 %	0,18	0,90
	M ₂	31. „ 185 Ag. + 190 — 185 + 202 — 190 = 190 Eg. Gd. + 5	+ 2,7 %		
2) Tb. + Ldr.	M ₁	35. „ 240 Ag. — 230 + 257 + 264 — 235 — 202 — 185 Eg. 185 Gd. — 55	— 23 %	0,66	
	M ₂	42. „ 245 Ag. = 245 = 245 + 262 — 245 + 250 — 230 Eg. 230 Gd. — 15	— 8,2 %	0,20	

Bei der Obduktion erhoben wir bei allen Impftieren einen gleichen Befund. Neben tuberkulösen Infiltraten der Impfstellen fanden sich typische Veränderungen tuberkulöser Natur der zunächst gelegenen regionären Lymphdrüsen, ferner Tuberkulose mit Verkäsung der retroperitonealen und bronchialen Lymphdrüsen, Tuberkulose der Lungen, Leber und Milz. Kulturergebnisse wurden nicht erzielt (es wurden nur je 2 Nährböden mit Material besetzt).

Es sind demnach alle 4 Impftiere an allgemeiner Tuberkulose zu Grunde gegangen und ergibt sich ein Unterschied nur insofern, als die mit Lymphdrüsen + Bacillen geimpften Tiere eine längere Lebensdauer zeigten.

II. Reihe.

Beginn derselben am 8. Febr. 1905. Ausgangsmaterial derselben bildete eine zur getriebene Tb.-Aufschwemmung in K. Gleiche Quantitäten derselben wurden

1) mit Bouillon

2) mit einer Emulsion in Bouillon verriebener Mesenteriallymphdrüsen von normalen Meerschweinchen gemischt und sofort nach der Mischung an Meerschweinchen verimpft, wobei wiederum jedes Meerschweinchen die gleiche Menge der ursprünglichen Aufschwemmung erhielt.

Sowohl die mit der Bouillon wie die mit der Ldr.-Mischung geimpften Tiere gingen gleichzeitig an allgemeiner Tuberkulose gleichen Grades zu Grunde.

III. Reihe.

Beginn derselben am 24. März 1905. Ausgangsmaterial zu derselben bildete eine Tb.-Aufschwemmung in i. S. vom Hd. Gleiche Mengen dieser Aufschwemmung wurden zusetzt

1) i. S. vom Hund,

2) a. S. vom Hund,

3) mit i. S. vom Hund verriebenen Mesenteriallymphdrüsen derselben Tierart.

Bei der sofort an je 3 Meerschweinchen vorgenommenen Impfung wurde darauf geachtet, daß jedes Impftier die genau gleiche Menge der ursprünglichen Tb.-Aufschwemmung injiziert erhielt. Die Impftiere wurden wöchentlich 2mal gewogen.

Bei allen Tieren dieser Reihe zeigte der Obduktionsbefund neben typischen Veränderungen der Impfstellen und der zunächst gelegenen regionären Lymphdrüsengruppe Tuberkulose der retroperitonealen und bronchialen Lymphdrüsen annähernd gleichen

Art der Mischung		ver.	Verhalten des g. M. nach den Gewichtszahlen Ag. vorn, Eg. am Schluß, dann Gd.	% Gd.: Ag.	T. a. auf 100 umgerechnet	Dz.
1) Tb. + i. S.	M ₁	31. Tg.	620 = 620 - 600 + 610 - 600 - 475 + 480 = 480 = 480 - 140	- 23 %	0,78	Dz. der Lebensdauer: 27 ² / ₃ Tg. längste Lebensdauer: 31 Tg.
	M ₂	24. "	540 = 540 + 545 - 530 - 510 - 450 - 380 - 340 - 200	- 37 %	1,54	Dz. der % Zahlen der Gd.: 30 % % Zahl d. Tagesverlustes: 1,13
	M ₃	28. "	455 - 450 = 450 - 435 - 420 - 355 + 365 - 335 - 320 - 135	- 30 %	1,07	
2) Tb. + a. S.	M ₁	33. "	645 - 600 - 595 + 600 + 610 - 525 - 470 - 440 + 460 - 415 - 230	- 35 %	1,06	Dz. der Lebensdauer: 30 ² / ₃ Tg. längste Lebensdauer: 33 Tg.
	M ₂	28. "	545 - 520 - 495 + 510 - 480 - 445 - 390 + 400 - 365 - 180	- 33 %	1,17	Dz. der % Zahlen der Gd.: 35 % % Zahl d. Tagesverlustes: 1,17
	M ₃	31. "	495 - 490 - 470 + 480 - 455 - 435 - 385 - 365 - 355 - 310 - 185	- 37 %	1,29	
3) Tb. + Ldr.	M ₁	26. "	650 - 570 + 610 + 625 + 635 - 610 - 550 - 525 - 460 - 190	- 29 %	1,11	Dz. der Lebensdauer: 34 ² / ₃ Tg. längste Lebensdauer: 41 Tg.
	M ₂	41. "	555 - 515 + 520 - 485 + 490 - 480 - 425 + 430 + 470 - 435 - 405 + 430 - 125	- 23 %	0,56	Dz. der % Zahlen d. Gd.: 23 ¹ / ₃ % % Zahl d. Tagesverlustes: 0,71
	M ₃	37. "	520 + 540 - 530 + 540 - 515 - 455 - 435 - 430 + 460 - 420 + 425 - 95	- 18 %	0,48	

Grades, wie auch in allen Fällen die inneren Organe Bildung von zahlreichen Tuberkeln aufwiesen. Die Milz war bei allen Tieren vergrößert, die Tuberkel zum Teil konfluierend und dann infarktähnlich, die Knötchen der Lungen, bis hanfkorngroß, waren ziemlich gleichmäßig verteilt. Auffällig war bei den Leberbefunden neben den meist konfluierenden verkäsenden Tuberkeln das Auftreten cirrhotischer Veränderungen. Das am 26. Tg. verendete Lymphdrüsenimpfmer M₁ zeigte bald nach der Impfung einen perforierten Abscess der Impfstelle und danach eine ausgedehnte Geschwürsbildung der Bauchhaut, welcher Prozeß nach der Untersuchung auf eine Mischinfektion sich zurückführen ließ. (Im Gram-Präparat aus dem Eiter fanden sich massenhaft grampositive Bacillen.) Kulturell wurden keine Resultate erzielt.

Es lehrt uns die Uebersicht dieser Fälle, daß die Meerschweinchen, welchen Tuberkelbacillen injiziert wurden, die mit in inaktivem Hundeserum aufgeschwemmter Lymphdrüsensubstanz vermischt waren, durchschnittlich die längste Lebensdauer sowie den geringsten Gewichtsverlust in toto und pro Tag aufwiesen. Wenn daher auch sämtliche Tiere an allgemeiner Tuberkulose erlagen, so ist danach doch eine Beeinflussung der Tuberkelbacillen durch Hundelymphocyten in stärker abschwächendem Sinne als durch aktives und inaktives Serum des gleichen Tieres unverkennbar, soweit man schon aus diesen spärlichen Versuchen ein Urteil ziehen kann, das allerdings mit Rücksicht auf die späteren Resultate an Berechtigung gewinnt. Ein geringerer Einfluß von aktivem

und inaktivem Serum dürfte in den cirrhotischen Prozessen der Leber seinen Ausdruck finden.

I. Tabelle: i. S. + Tbc.-Aufschwemmung (subkutane Impfung).

Zeit der Verarbeitung der Proben	ver.	get.	Verhalten des Impftieres nach den Gewichtszahlen Ag. vorn, Eg. am Schluß, dann Anführung der Gd.	% Gd. : Ag.	Z. p. d. auf 100	A. p. d. auf 100	Tb.-Kultur	Obduktionsbefund der Impftiere
I. sofort	M ₁	61. Tg.	215 + 185 = 185 + 220 + 230 — 215 — 210 + 230 — 210 = 210 — 205 — 185 + 200 = 200 — 190 — 150 + 160 = 160 — 55	26 %	0,42	—	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Cirrhotischer Leber, peritonealer Erguß (Infiltrat der Impfstelle durchgebrochen)
	M ₂	39. "	155 + 185 = 185 — 180 — 175 + 190 — 180 + 190 — 175 + 190 — 150 — 140 — 15	10 %	0,26	—	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung
IV. am 22. Tg.	M ₁	36. "	520 — 490 — 480 + 490 — 480 + 510 — 480 — 460 — 420 — 375 — 320 — 305 — 215	41 %	1,14	—	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Fettleber, pleurale Adhäsionen rechtsseits
	M ₂	92. "	175 + 180 = 180 + 185 + 190 + 200 = 200 — 190 — 180 + 200 + 210 — 200 + 210 — 200 + 210 + 230 — 220 — 210 + 230 — 220 = 220 + 230 — 220 + 225 + 270 — 240 + 65	37 %	0,40	—	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Cirrhotischer Leber, peritonealer Erguß
V. am 47. Tg.	M ₁	49. "	410 — 380 = 380 + 420 — 380 — 370 — 310 + 320 = 320 — 300 + 320 — 310 = 310 — 280 + 290	29 %	0,59	—	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Cirrhotische Leber, Peritonitis
	M ₂	20. "	190 — 170 — 150 — 140 + 150 = 150 — 130 — 60	32 %	1,60	—	—	Impftuberkulose mit Ausbreitung auf die Lymphdrüsen und die Leber

2. Tabelle: a. S. + Tbc.-Aufschwemmung (subkutane Impfung).

Zeit der Verimpfung der Proben	ver.	get.	Verhalten des Impftieres nach den Gewichtszahlen Ag. vorn, Eg. am Schluß, dann Anführung der Gd.	% Gd.: Ag.	Z. p. d. (Dz.)	A. p. d. (Dz.)	Tb.-Kultur	Obduktionsbefund der Impftiere
M ₁	40. Tg.		220 + 225 = 225 + 230 + 240 - 235	7 %		0,17 g	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Cirrhose der Leber
			- 230 + 240 - 225 - 215 - 195 + 200 + 205					
M ₄	39. "		200 + 215 - 200 + 220 - 210 + 215	10 %		0,25 "	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Cirrhose der Leber
			- 200 + 220 - 190 = 190 - 170 + 180 - 20					
M ₁	36. "		425 + 500 + 505 - 480 - 470 - 465	6 %		0,17 "	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Cirrhose der Leber, peritonealer Erguß
			- 420 - 395 - 380 + 390 + 420 - 400 - 25					
M ₂	39. "		175 + 180 + 185 - 180 - 170 = 170	31 %		0,79 "	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung
			= 170 - 165 - 150 + 160 + 170 - 160 - 140 - 120 - 55					
M ₁	64. "		370 = 370 - 360 = 360 - 350 + 390	13 %		0,20 "	—	Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Cirrhose der Leber
			- 340 + 380 - 370 - 360 + 380 - 350 = 350 - 330 + 340 + 360 + 375 - 335 - 320 - 50					
M ₂	80. "		160 - 140 - 130 + 160 - 140 = 140	31 %	0,39 g		—	Impftuberkulose mit Ausbreitung auf das Lymphsystem, die Lunge und Leber. Cirrhose der Leber, Milztumor, Höhlenbildung der Lunge
			- 130 + 150 - 140 + 145 + 160 = 160 - 150 + 170 + 180 + 190 = 190 - 185 - 180 + 200 - 180 + 230 - 210 + 50					

IV. Reihe.

Beginn derselben am 27. April 1905. Ausgangsmaterial zu derselben bildete eine zart getrübe Aufschwemmung von Tb. in i. S. vom Hd. Gleiche Mengen derselben wurden mit gleichen Mengen i. u. a. S. vom Hd. gemischt, in Proben abgeteilt und teils an je 2 Meerschweinchen sofort nach der Mischung verimpft, teils in die Brutkammer gebracht, um nach 22. Tg (IV. Probe) resp. nach 47. Tg. (V. Probe) gleichfalls an je 2 Meerschweinchen verimpft zu werden. Andererseits wurde ein gleiches Quantum der

3. Proben der mit Tbc.-Aufschwemmung injizierten

Zeit der Verimpfung der Probe	ver.	get.	Verhalten des Impftieres nach den Gewichtszahlen Ag. vorn, Eg. am Schluß, dann Anführung der Gd.
I. sofort	M ₁	42. Tg.	460 - 447 - 385 - 380 + 410 - 405 - 390 - 385 - 350 - 340 - 330 + 370 + 375 - 85
	M ₂	42. „	205 + 225 - 215 - 200 + 205 + 210 - 205 + 210 - 185 - 180 - 170 + 180 - 170 - 35
II. nach 4 Tg.	M ₁	34. „	610 + 615 - 550 + 570 - 560 - 510 = 510 - 495 - 460 - 420 + 435 - 175
	M ₂	56. „	380 + 395 - 370 + 395 = 395 - 360 + 370 - 365 + 370 - 350 + 370 - 320 - 310 - 300 + 310 + 335 - 270 - 110
III. nach 10 Tg.	M ₁	46. „	720 - 710 + 765 + 785 - 650 - 570 + 610 + 625 + 640 - 620 - 570 = 570 - 510 - 500 + 510 - 210
	M ₂	36. „	210 - 190 + 225 - 220 + 230 - 225 - 210 = 210 - 195 + 220 - 190 - 160 - 50
IV. nach 22 Tg.	M ₁	87. Tg.	510 - 500 + 520 + 530 - 500 + 510 = 510 + 530 - 520 - 510 - 500 + 530 - 500 - 480 + 515 + 520 - 515 + 540 - 510 + 520 - 490 + 520 + 570 - 560 + 570 - 555 + 580 = 580 + 70
	M ₂	111. „	215 - 200 + 220 - 210 - 200 + 240 - 210 = 210 - 190 = 190 - 185 + 200 = 200 = 200 + 225 - 220 + 230 + 260 - 240 + 280 - 260 = 260 + 310 - 320 = 320 + 340 + 355 - 350 + 360 + 400 - 390 + 420 + 205
V. nach 47 Tg.	M ₁		285 - 280 + 290 - 280 + 290 + 300 - 260 + 310 = 310 - 300 + 320 - 310 + 350 - 330 + 345 + 360 - 355 + 360 = 360 + 375 - 370 + 85
	M ₂		175 - 150 + 170 = 170 = 170 + 180 - 170 - 155 - 150 - 130 + 150 + 160 + 190 - 180 + 190 + 205 + 220 + 230 + 235 + 260 - 240 + 65

Von den beiden Impftieren der IV. Probe wurden Stückchen der unveränderten Meerschweinchen verimpft, und zwar mit negativem Resultat. Aus dem an die beiden Meerschweinchen die Kultur von Tuberkelbacillen, welche

Tb.-Aufschwemmung, mit einer großen Menge i. S. vom Hd. verdünnt, einem eben getöteten Hd. nach Eröffnung des Thorax von der absteigenden Aorta aus abdominalwärts injiziert. Hierauf wurde das Abdomen eröffnet, Mi. und Ms. rasch herauspräpariert und Probestückchen hiervon sofort verimpft, während annähernd gleich große Proben in Eprovetten mit reichlichen Mengen von i. S. vom Hd. in die Brutkammer bei 37° C gestellt wurden. Letztere Proben wurden nach 4 (II. Pr.), 10 (III. Pr.), 22 (IV. Pr.), 47 (V. Pr.), bei der Mi. auch nach 64 Tg. (VI. Pr. an 1 Tier) an je 2 Meerschweinchen verimpft. Die klar bleibenden Proben wurden zunächst zu Impf-

Mesenteriallymphdrüsen (subkutane Impfung).

$\frac{\%}{100}$ Gd.: Ag.	Z. p. d. (Dz.)	A. p. d. (Dz.)	noch lebend am	Obduktionsbefund der Impftiere
18 %		0,43 g		Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung. Cirrhose der Leber, peritonealer, pleuraler und perikardialer Erguß.
17 %		0,40 „		Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung.
29 %		0,85 „		Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung. Lebercirrhose.
29 %		0,52 „		Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, cirrhotische Fettleber, miliare Tuberkel der Niere.
29 %		0,63 „		Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung. Netztuberkulose (offenbar war etwas Material in die Peritonealhöhle injiziert worden).
24 %		0,67 „		Impftuberkulose mit Ausbreitung auf das Lymphsystem und die Lunge, Netztuberkulose (intraperitoneal injiziertes Material).
14 %	0,16 g			Beide Impftiere zeigten bei der Obduktion keine Spur von Tuberkulose. M ₂ wies lediglich Follikelschwellung in der kaum vergrößerten Milz auf.
95 %	0,86 „			
30 %	0,43 „		70. Tg.	
37 %	0,53 „		70. „	Beide Impftiere zeigten weder Infiltratbildung an der Impfstelle noch Veränderungen der regionären Ldr. Ihr klinisches Verhalten war der Norm gegenüber unverändert. Die Tiere wurden zu weiteren später zu berichtenden Versuchen verwendet

Organe (Milz, Leber, Mesenteriallymphdrüsen und Lungen) an eine Reihe von Meer-Tiere M₁ und M₂ der IV. Probe verimpften Material gelang auf Gly-auffallend schlank, blaßrot gefärbt und segmentiert sich erwiesen.

4. Proben der mit der Tbc-Aufschwemmung

Zeit der Verimpfung der Proben	ver.	gef.	Verhalten des Impftieres nach den Gewichtszahlen Ag. vorn, Eg. am Schluß, dann Anführung der Gd.
I. sofort	M ₁	64. Tg.	$ \begin{aligned} &455 - 420 + 460 - 410 + 445 + 450 = 450 \\ &+ 460 - 415 - 410 = 410 + 420 - 400 - 370 \\ &- 360 = 360 + 370 + 380 - 370 \\ &\quad\quad\quad - 80 \end{aligned} $
	M ₂	41. "	$ \begin{aligned} &205 - 200 + 210 - 195 = 195 - 180 + 195 \\ &= 195 - 170 - 150 + 160 + 180 - 175 \\ &\quad\quad\quad - 30 \end{aligned} $
II. nach 4 Tg.	M ₁	35. "	$ \begin{aligned} &675 - 655 - 595 + 630 - 625 + 640 \\ &- 615 - 575 - 520 - 460 - 390 \\ &\quad\quad\quad - 285 \end{aligned} $
	M ₂	34. "	$ \begin{aligned} &285 + 295 - 260 + 280 - 250 = 250 \\ &+ 260 - 255 - 250 = 250 - 245 \\ &\quad\quad\quad - 40 \end{aligned} $
III. nach 10 Tg.	M ₁	123. Tg.	$ \begin{aligned} &600 - 505 + 590 + 610 = 610 = 610 = 610 = 610 \\ &- 600 + 620 - 590 + 630 + 640 - 600 + 650 - 600 \\ &+ 650 - 600 + 610 = 610 + 620 + 630 = 630 - 600 \\ &+ 630 + 660 - 650 + 665 = 665 + 700 - 680 + 690 \\ &+ 695 - 690 = 690 \\ &\quad\quad\quad + 90 \end{aligned} $
	M ₂	37. "	$ \begin{aligned} &180 + 185 + 190 + 210 - 200 + 210 - 200 \\ &- 185 - 180 - 170 - 160 \\ &\quad\quad\quad - 20 \end{aligned} $
IV. nach 22 Tg.	M ₁	111. "	$ \begin{aligned} &520 - 510 + 535 - 530 - 500 + 530 - 480 + 510 \\ &- 490 - 470 - 460 + 470 + 510 - 490 - 460 - 450 \\ &+ 500 + 530 - 500 = 500 + 520 - 510 - 490 - 480 \\ &+ 500 + 570 - 560 + 565 - 550 - 540 - 530 \\ &\quad\quad\quad + 10 \end{aligned} $
	M ₂	61. "	$ \begin{aligned} &180 = 180 + 200 - 190 - 185 + 200 - 190 = 190 \\ &- 180 = 180 = 180 + 190 + 200 - 190 - 170 = 170 \\ &- 140 \\ &\quad\quad\quad - 40 \end{aligned} $
V. nach 47 Tg.	M ₁	21. "	$ \begin{aligned} &265 - 260 = 260 - 240 - 230 + 240 - 180 \\ &\quad\quad\quad - 85 \end{aligned} $
	M ₂		$ \begin{aligned} &190 - 180 - 170 + 200 = 200 - 180 = 180 \\ &+ 230 = 230 + 235 + 240 + 250 + 280 - 270 \\ &+ 290 = 290 = 290 + 305 + 325 + 350 + 340 \\ &\quad\quad\quad + 150 \end{aligned} $

Mikroskopisch zeigte die Leber des Impftieres M₁ der IV. Probe mit Cirrhose aus IV. Probe wurden Organstücke (Milz, Leber, Mesenteriallymphdrüsen und Lunge)

und Kulturzwecken benutzt, einzelne verunreinigte Proben (durchwegs *Staphylococcus pyogenes albus*) nach 47 resp. 64 Tg. verimpft. Mit i. u. a. S. wurden stets gleiche Bacillennengen verimpft, während solches naturgemäß bei den Mi- und Ldr.-Proben nicht der Fall sein konnte. Die Impftiere wurden wöchentlich 2mal gewogen.

Nach diesen Befunden kann man, wie wir noch später begründen werden, wohl aus dem Auftreten der cirrhotischen Prozesse der Leber der Impftiere auf eine geringe Abschwächung der Tuberkelbacillenwirkung schließen. Eine Steigerung dieser abschwächenden Wirkung jedoch konnte in merkbarer Weise auch durch langen Aufenthalt in inaktivem Serum vom Hund (bis zu 47 Tg.) nicht erzielt werden. Es gingen alle Impftiere an allgemeiner Tuberkulose zu Grunde und lassen auch die Gewichtskurven und Verlustziffern keine diesbezüglichen Schlüsse zu. (2. Tabelle p. 527.)

Diese Befunde zeigen gegen die der Versuchsreihe mit inaktivem Serum vom

injizierten Milz (subkutane Impfung).

% Gd.: Ag.	Z. p. d. (Dz.)	A. p. d. (Dz.)	noch lebend am	Obduktionsbefund der Impftiere
18 %		0,29 g		Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung. Cirrhose der Leber, peritonealer, pleuraler und perikardialer Erguß.
15 %		0,36 „		Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung. Cirrhose der Leber.
42 %		1,20 „		Desgl.
14 %		0,41 „		Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung.
15 %	0,12 g			Milzfollikel deutlich vergrößert, hirsekorngroßes, derbes Knötchen an der Unterseite der Leber (peripher fibröses Knötchen mit mono- und polynukleären Leukocyten im Zentrum, an der Peripherie sind dem Herde 2 kleine Knötchen aus Lymphocyten angelagert). Keine Zeichen von Tuberkulose.
11 %		0,30 „		Keine Zeichen von Tuberkulose.
2 %	0,02 „			Milz mit geschwellenen Follikeln, ein Lappen der Leber klein, nach Art einer Muskatnußleber gezeichnet, sonst in der Leber verstreute, an der Oberfläche prominente und scharfe, rundliche, hellere Herde, Mesenteriallymphdrüsen geschwollen, markig, ebenso Bronchiallymphdrüsen. Keine Zeichen von Tuberkulose.
22 %		0,36 „		An keiner Stelle des Körpers Zeichen von Tuberkulose. Marasmus, braune Atrophie der Organe.
32 %		1,52 „		Fettige Degeneration d. Leber. Marasmus, braune Atrophie v. Herz, Milz u. Nieren. Keine Zeichen v. Tuberkulose.
79 %	1,13 „		70. Tg.	Dieses Tier zeigte weder Infiltratbildung der Impfstelle noch Veränderungen der regionären Ldr. Es verhielt sich bis zum 70. Tg. normal u. wurde zu weiteren Versuchen verwendet, über die später berichtet werden soll.

heilende nekrotische Herde der Leber. Von den Impftieren M₁ der III. Probe und M₁ der an eine Reihe von Meerschweinchen verimpft, und zwar mit negativem Erfolge.

Hund keine wesentlichen Differenzen. Ein Unterschied tritt insofern zu Tage, als bei 47-tägiger Einwirkung von aktivem Serum die längere Lebensdauer der Impftiere doch auf eine erfolgte weitere Abschwächung der Bacillenwirkung hindeutete, wofür auch das Verhalten der Gewichtskurven ein Beleg zu sein scheint.

Es erfuhren daher die Tuberkelbacillen durch die Einwirkung der Mesenteriallymphdrüsensubstanz eine Abschwächung, die sich vornehmlich in cirrhotischen Prozessen der Leber äußerte. Bei 22-tägiger Einwirkung jedoch zeigte es sich, daß die Bacillen vollkommen avirulent geworden waren, die Impftiere ein normales Verhalten zeigten. Dabei waren jedoch die Bacillen sicher noch lebensfähig, da es gelang, sie aus dem zur Verimpfung gelangten Material zu züchten.

Aus dem Material, mit welchem die Tiere IV. M₁ und IV. M₂ geimpft wurden, gelang auf Glycerinkartoffel die Kultur von Tuberkelbacillen. Dieselben waren nur schwach rot färbbar, schlank, oft stark segmentiert.

Es machte sich daher auch bei dieser Reihe, analog wie bei der vorhergehenden, eine Abschwächung der Tuberkelbacillen bemerkbar, die schließlich von 22-tägiger Einwirkung der Milzsubstanz auf die Tuberkelbacillen an eine völlige Aufhebung ihrer Wirkung ergab. Zweimal fanden sich Zeichen an der Leber, die auf eine wohl von der Impfstelle direkt auf dem Blutwege erfolgte, aber ausgeheilte Infektion derselben schließen lassen. Das positive Kulturergebnis bei Probe IV beweist, daß noch lebende Tuberkelbacillen zur Verimpfung gelangten.

Im allgemeinen sei bemerkt, daß als cirrhotisch bezeichnete Leberveränderungen am deutlichsten an der Unterseite ausgeprägt waren, während die Oberfläche zumeist nur fein granuliert war. Fast regelmäßig fand sich hierbei am Hilus eine tuberkulöse Lymphdrüse. Zugleich zeigte sich Tumorbildung der Milz, sowie in vielen Fällen Flüssigkeitserguß in die serösen Höhlen. Die Lebern waren zumeist fettig entartet, einzelne braunrot. Die Nieren zeigten makroskopisch nur einmal Tuberkelbildung. Jene Impftiere, die bei der Obduktion einen negativen Befund boten, zeigten im klinischen Verlaufe weder Infiltratbildung der Impfstellen noch auch Veränderungen der regionären Lymphdrüsen. Ueber die Veränderungen, die bis zur Resorption des implantierten Impfmateriales sich an der Impfstelle abspielten, können wir dermalen keinen Aufschluß geben und müssen dieses späteren Untersuchungen überlassen.

Ergebnisse.

Unsere Ergebnisse zusammenfassend, können wir also sagen, daß sich der Einfluß von inaktivem und aktivem Serum der Wirkung der Lymphdrüsen und Milz gegenüber zwar als unzureichend erwies, immerhin müssen aber die cirrhotischen Leberveränderungen im Sinne eines teilweisen Ausheilungsbestrebens der Leber und einer mehr oder weniger wirksamen Reaktion dieses Organs gegen die Tuberkelbacilleninvasion betrachtet werden. Dafür spricht namentlich der Befund des Tieres M, welches mit Tuberkelbacillen geimpft wurde, die 22 Tage der Milzeinwirkung ausgesetzt waren. Denn bei diesem fand sich Cirrhose eines Leberlappens mit ausheilender Nekrose und einzelnen Riesenzellen, ohne daß die Weiterimpfung an Meerschweinchen virulente Bacillen hätte nachweisen lassen. Anfangs freilich waren wir geneigt, diese cirrhotischen Leberveränderungen auf die Wirkung des artfremden Serums zurückzuführen. Ghedini (49) aber, welcher eingehend die histologischen Veränderungen studierte, wie sie durch Injektion artfremder Gewebsbestandteile entstehen, die monatelang, jeden zweiten oder dritten Tag, in einer Menge von 20—30 ccm subkutan injiziert wurden, beobachtete nur parenchymatös-degenerative Leberentzündung mit kleinzelligen, perivaskulären und ausgebreiteten Infiltraten und Resten von diffusen Hämorrhagieen, wobei die Art des injizierten Gewebes vollständig gleichgültig war und sich keine spezifische Cytolysinwirkung zeigte. Dagegen berichtet derselbe Autor in einer anderen Arbeit (50), daß er durch intraperitoneale Injektion von 0,2 g Vogel-tuberkelbacillen, die er 2—3 Monate lang an Meerschweinchen und jungen Tauben in steigenden Dosen wiederholte, interstitielle Hepatitis erzeugen konnte. Auch Brieger (51) erwähnt schon 1879, daß „man“ durch Injektion von Tuberkelmateriale an Kaninchen und Meerschweinchen öfter Cirrhose der Leber gefunden habe und Grancher, Martin et Ledoux-Lebard (52) führen an, daß sie bei Verimpfung minimalster Mengen virulenter oder größerer Dosen durch Wärme, Austrocknung, Licht oder langsame Oxydation abgeschwächter Bacillen die

Leber der Versuchstiere teils gesund, teils „muscadé“ (i. e. cirrhotisch) fanden. Wir müssen daher annehmen, daß es sich auch in unseren Fällen um eine Wirkung der Tuberkelbacillen handle als Zeichen ihrer geringen Virulenz. Einen gewissen Grad von Beeinflussung durch Hundeserum konstatierte ja auch Link (53) in seinen Versuchen, ganz abgesehen von den günstigen Berichten von Héricourt et Richet (54) darüber und von Veröffentlichungen von Baradat (55) und Bertin et Picq (56) über die Bedeutung des normalen Ziegenserums.

Bedeutend dagegen erwies sich der Einfluß der Lymphdrüsen- und Milzsubstanz und zwar vor allem mit Rücksicht auf die Bindung der Tuberkelbacillengifte, ganz analog dem, was Brieger, Kitasato und Wassermann von der Wirkung aus lymphoiden Organen hergestellter Stoffe auf verschiedene andere Infektionserreger gefunden hatten, indem Tuberkelbacillen, die 22 Tage unter den oben angeführten Bedingungen damit vermischt gehalten waren, bei den Impftieren nicht einmal eine lokale Reaktion der Impfstelle, geschweige denn eine zur Propagation gelangende Tuberkulose hervorzurufen vermochten, die Infektion also vollständig von den geimpften Meerschweinchen überwunden wurde.

Dabei taucht freilich die Frage auf, ob wir diese Wirkung Stoffen zuschreiben sollen, die schon normalerweise in den Lymphocyten enthalten sind oder ob diese Körper erst durch Autolyse dieser Zellen sich bilden, im lebenden Organismus also erst bei Gewebszerfall und Nekrose auftreten, eine Frage, die um so berechtigter erscheint, als die Schutzwirkung erst nach 22 Tagen in Erscheinung trat. In Schnitten aus dem verimpften Materiale konnten wir noch gut erhaltene Lymphocyten mit färbbaren Kernen sehen, wo Bindegewebskerne völlig nekrotisch geworden waren. Gerade nach den Untersuchungen Conradis (14) nun wirkt der durch Autolyse freiwerdende Körper, den er als ein „hydrolytisches Spaltungsprodukt der Proteinsubstanz, zum aromatischen Komplex des Eiweißmoleküls gehörend“, anspricht, durchaus nicht spezifisch, auch nicht antitoxisch, sondern bakterizid und tötet in gleicher Weise alle untersuchten Mikrobenarten. In unseren Versuchen aber war in zwei Proben *Staphylococcus albus* üppig gewuchert, woraus wir also schließen müssen, daß bei den von uns beobachteten Kautelen (Aufheben im arteigenen Serum ohne Zusatz irgendwelcher antiseptischer Substanzen) dieses bakterizide autolytische Spaltungsprodukt sich nicht in dem Maße gebildet haben dürfte. Und in der Tat haben Untersuchungen von Baer und Loeb (57) aus neuester Zeit erwiesen, daß bei genügendem Serumzusatz die Autolyse von Organen völlig aufgehoben wird, wofür sie eine antifermentative Wirkung des Albumins verantwortlich machen. Auch die später zu veröffentlichenden Befunde über Leukocytenwirkung (58) sprechen dagegen. Denn diese waren im großen Uebermaße vorhanden und in späteren Proben sicher gänzlich zerfallen, wie die mikroskopische Untersuchung ergab. Aus den Untersuchungen Conradis wissen wir aber ebenfalls, daß alle Organe, lymphocytenhaltige, wie Lymphdrüsen, Thymus, Milz, und leukocytenhaltige, wie das Knochenmark, dann auch parenchymatöse Organe, wie Leber, Niere, Hoden, Nebennieren u. s. w., sich völlig gleich wirksam erwiesen. Da nun autolytierte Leukocyten diese Wirkung nicht äußerten, halten wir uns für wohlberechtigt, daß ein den Lymphocyten spezifisch

zukommender Stoff es ist, der diese auffällige Wirkung auf Tuberkelbacillen ausübt. Ja, nach den Beobachtungen, die Bartel (59) bei seinen Fütterungsversuchen und wir zusammen bei unseren Inhalationsversuchen (60) machten, daß nämlich sicher in den betreffenden Lymphdrüsen anzunehmende Bacillen durch den Impfversuch nicht nachgewiesen werden konnten, wobei diese Lymphdrüsen weder Epitheloidzellenbildung noch Nekrose, sondern nur lymphoide Hyperplasie im Sinne Bartels (61) zeigten, spricht direkt dafür, daß diese Substanz auch in normalen, i. e. lebenden, im Körper der Tiere verbleibenden lymphatischen Organen zur Wirkung kommt.

Welche diese Substanz ist, wie sie sich gegen höhere Temperaturen verhält, ob es etwa die Nukleinsäure ist, die nach den Beobachtungen von Kossel (62) ja gerade aus lymphoiden Organen besonders leicht zu erhalten und auch in geringen Konzentrationsgraden mikrobentötend ist, oder ob es der von Brieger, Kitasato und Wassermann (24) dargestellte Körper ist, mit dem er in seiner Wirkung so viele Analogien zeigt, müssen weitere Untersuchungen lehren. Daß in unseren Versuchen eine Virulenzabschwächung vorliegt, steht wohl außer Zweifel. Denn selbst wenn eine große Menge von Bacillen einfach abgetötet worden wäre und man die positiven Kulturresultate durch den Umstand erklären wollte, daß gerade einige der wenigen überlebenden Bacillen zu Kolonien auswuchsen, mußten sie doch vorher stark abgeschwächt sein. Denn durch die vielen Untersuchungen über die Wirkung toter Tuberkelbacillen, namentlich aber durch Krompechers (63) Beobachtungen wissen wir ja, daß auch tote Bacillen je nach ihrer Virulenz verschieden starke lokale Veränderungen hervorrufen. In unseren Fällen trat bei Mengen, welche in den frischen Proben die Tiere innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit töteten, nach längerer Lymphocytenwirkung lokal gar keine Veränderung auf, wie die stetige Kontrolle der Impfstelle ergab. Auch andere Einflüsse können diese Wirkungen nicht bedingt haben. Denn die Proben waren mit Ausnahme von zweien steril geblieben und wurden unter denselben Bedingungen gehalten wie unsere Tuberkelbacillenstämmen. Selbst den in den erwähnten zwei Proben massenhaft gewucherten Staphylokokken können wir keinen Einfluß zuschreiben, weil dieselbe Bakterienvegetation sich auch bei einer Probe mit inaktivem Serum zeigte, ohne daß eine Beeinflussung der Bacillen aufgetreten wäre. Das lehren ja auch die Untersuchungen von Ramond et Ravand (64), welche zeigten, daß mitverimpfte andere Mikroben die Wirkung der Tuberkelbacillen eher steigern, wenn sie auch in der Kultur deren Wachstumsfähigkeit etwas beeinträchtigen.

Ob die durch im Organismus vorhandenen Zellelemente — speziell hier durch Lymphocyten, deren Eigenschaften und Produkte — auf natürliche Weise entgifteten Tuberkelbacillen analog den Untersuchungen von Brieger, Kitasato und Wassermann andere Bakterien im stande sind, eine hohe und rasch einsetzende aktive Immunität zu erzeugen, die sich zu kurativen Zwecken verwenden ließe, muß freilich unseren weiteren Versuchen überlassen bleiben. Ebenso bleibt weiteren Versuchen unsererseits vorbehalten, inwieweit vielleicht schon sogar das giftbindende Prinzip des Lymphocyten allein zu den letztgenannten Zwecken in Erwägung zu ziehen ist. Nach unseren bisherigen, allerdings leider noch sehr spärlichen Versuchen, über die Bartel (65) bereits kurz berichtete, haben wir allen Grund, auch darauf unser Augenmerk zu richten. Darin werden wir ferner bestärkt durch

die Untersuchungen Löwensteins (66) aus jüngster Zeit, die erst nach Abschluß unserer Arbeit erschienen, wonach beim Menschen der Intoxikation mit den Tuberkelgiften die Hauptrolle zufalle, so daß er sagt: „Die Therapie muß darauf abzielen, den Tuberkelbacillen ihre Pathogenität zu nehmen und sie zu einfachen Parasiten zu machen“, was wir gerade durch unsere Versuche erreicht haben. Auch die günstigen Berichte über die Durante'sche Jodjodkalibehandlung bei Tuberkulose könnten für die Bedeutung der Lymphocyten sprechen; denn ihre Erfolge sollen nach Gianasso (67) darauf beruhen, daß es im Anschluß an die Jodjodkaliinjektionen vorwiegend zu einer Lymphocytose komme. Andererseits beobachteten Manfredi und Frisco (68) relativ gutartigere Tuberkulose ihrer Impftiere bei gleichzeitiger einmaliger subkutaner Injektion von Tuberkelbacillen und Lymphdrüsensubstanz, die von Tieren stammte, welche mit Tuberkelbacillen vorbehandelt waren.

Literatur.

- 1) Perez, G., Del modo di compotarsi del sistema ganglionare linfatico rispetto ai microorganismi. (Annali d'Igiene sperim. Vol. VII. Fasc. 3 e Vol. VIII. Fasc. 1. Zit. nach Baumgartens Jahresberichten. 1897. p. 894 u. 1898. p. 830. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXIII. 1898. p. 404.)
- 2) Haan, Essai sur le rôle protecteur du ganglion lymphatique dans certaines infections. (Normandie médicale. 1898. Zit. nach Baumgartens Jahresber. 1898. p. 832.)
- 3) Besançon et Labbé, Etude sur le mode de réaction et le rôle des ganglions lymphatiques dans les infections expérimentales. (Arch. de méd. expér. 1898. p. 318.)
- 4) Albrecht, Bemerkungen über die Bedeutung der follikulären Apparate des Darmtraktes, insbesondere des Wurmfortsatzes. Vortrag, gehalten in der gynäkologischen Gesellschaft zu München am 16. November 1904. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 50.)
- 5) Schwarz, Ueber das Verschwinden von Mikroorganismen aus dem strömenden Blute. (Zeitschr. f. Heilk. Bd. XXVI. 1905. Heft 7.)
- 6) Hankin, On the conflict between the organism and the microbe. (Brit. med. Journ. 1890. Vol. I. Zit. nach Bitter, Zeitschr. f. Hyg. 1892. p. 329.)
- 7) — —, A bacteria-killing globuline. (Proc. Royal Soc. London. Vol. XLVIII. Zit. nach Courmont et Duffan, Arch. de méd. expér. 1898. p. 437.)
- 8) — —, Ueber den schützenden Eiweißkörper der Ratte. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IX. 1891. p. 336 u. 372.)
- 9) Bitter, Ueber die bakterienfeindlichen Stoffe tierischer Organe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XII. 1892. p. 328.)
- 10) de Christmas, Etude sur les substances microbicides du sérum et des organes d'animaux à sang chaud. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891. p. 487.)
- 11) Livingood, A study of the growth of bacteria upon media made from animal organs. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 981, 1002, 1043.)
- 12) Wauters, Sur la repartition des substances bactéricides dans les organes etc. (Arch. de méd. expér. 1898. p. 751.)
- 13) Cheesmann and Meltzer, An experimental study of the direct inoculation of bacteria into the spleen of living animals etc. (The Journ. of exper. med. Vol. III. 1898. 1 A.)
- 14) Conrad, Ueber Bildung bakterizider Stoffe bei der Autolyse. (Hofmeisters Beiträge. Bd. I. 1901. p. 193.)
- 15) v. Dungere, Beitrag zur Immunitätslehre. (Münch. med. Wochenschr. 1900. p. 577.)
- 16) Ascoli und Riva, Ueber die Bildungsstätte der Lysine. (Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 1343.)
- 17) Donath und Landsteiner, Ueber antilytische Sera und die Entstehung der Lysine. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903. p. 552.)
- 18) Wassermann, Weitere Mitteilungen über „Seitenkettenimmunität“. (Berl. klin. Wochenschr. 1898. p. 209.)
- 19) — —, Pneumokokkenschutzstoffe. (Dtsche med. Wochenschr. 1899. p. 141.)
- 20) Pfeiffer und Marx, Die Bildungsstätte der Choleraschutzstoffe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898. p. 272.)

- 21) Deutsch, Contribution à l'étude de l'origine des anticorps typhiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIII. 1899. p. 689.)
- 22) Levaditi, Les anticorps contre les spirilles de la septicémie des poules. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1904. p. 511.)
- 23) Manfredi e Viola, Influenza dei gangli linfatici nella produzione dell'immunità. (Annali d'Igiene sperim. Vol. VIII. Fasc. 4. p. 456—489. Zit. nach Baumgartens Jahresber. 1891. p. 831.) — Der Einfluß der Lymphdrüsen bei der Erzeugung der Immunität gegen ansteckende Krankheiten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. 1899. p. 64.)
- 24) Brieger, Kitasato und Wassermann, Ueber Immunität und Giftfestigkeit. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XII. 1892. p. 137.)
- 25) Kondratjeff, Archiv f. exper. Pathologie u. Pharmakologie. Bd. XXXVII und Wratsch. 1896. No. 4—7. Zit. nach Kondratjeff, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXI. 1897. p. 407.
- 26) Römer, Archiv f. Ophthalm. Bd. LII. 1901. p. 72. Zit. nach Metschnikoff. Immunität bei Infektionskrankheiten. 1902. p. 323.)
- 27) Carrière et Vauverts, Etudes sur les lésions produites par la ligature expérimentale des vaisseaux de la rate. (Arch. de méd. expér. T. XI. 1899. p. 498.)
- 28) Metschnikoff, Immunität bei Infektionskrankheiten. Uebersetzt von Mayer. Jena 1902. p. 322.)
- 29) Bardach, Recherches sur le rôle de la rate dans les maladies infectieuses. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890 u. 1891.)
- 30) Courmont et Duffau, Du rôle de la rate dans les infections. (Arch. de méd. expér. 1898. p. 431.)
- 31) Blumenreich und Jacobi, Experimentelle Untersuchungen über Infektionskrankheiten nach Milzexstirpation. (Berl. klin. Wochenschr. 1897. p. 444.)
- 32) Georgiewsky, Bolnitsch. gaz. Botkina. 1895 u. 1896. Zit. nach Courmont et Duffau, l. c.
- 33) Kraus, Immunität bei Tuberkulose. (Zeitschr. f. Tuberkulose u. Heilstättenwesen. Bd. VII. 1905. Heft 3.)
- 34) Jürgens, Tuberkulinbehandlung und Tuberkuloseimmunität. (Berl. klin. Wochenschrift. 1905. p. 39.)
- 35) Manfredi e Frisco, I gangli linfatici nella difesa dell' la tubercolosi. (Il Policlinico sez. chir. Anno IX. Vol. IX. Fasc. 6, 7, 8. N. 37, 48, 52. Zit. nach Baumgartens Jahresberichte. Bd. I. 1902. p. 474. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXII. 1902.)
- 36) Buttersack, Wie erfolgt die Infektion des Darmes? (Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenwesen. Bd. I. 1900. Heft 5.)
- 37) Cornet, Die Skrofulose. Wien 1900.
- 38) Marfan, Arch. gén. de méd. T. I. 1896. p. 423. Zit. nach Cornet und Mayer in Kolle und Wassermann, 1904. IV, II. p. 822.
- 39) Cornet und Mayer, Immunität bei Tuberkulose. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. 1904. IV, II.)
- 40) Weleminsky, Zur Pathogenese der Lungentuberkulose. (Berl. klin. Wochenschr. 1905.)
- 41) Arloing, Revue de méd. 1887. Zit. nach Gärtner, Zeitschr. f. Hyg. 1893. p. 119.
- 42) Moore, Scrofulous lymphadenitis. (Journ. of Pathol. and Bact. Vol. VI. p. 98. Zit. nach Baumgartens Jahresber. 1899. p. 459.)
- 43) d'Arrigo, Ueber die Gegenwart und über die Phasen des Kochschen Bacillus in den sogenannten skrofulösen Lymphdrüsen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. p. 122.)
- 44) Denis, Tuberculose pulmonaire à bacille atténués. [Thèse de Lyon.] 1894. Zit. nach Krompecher und Zimmermann.
- 45) Krompecher und Zimmermann, Untersuchungen über die Virulenz der aus verschiedenen tuberkulösen Herden des Menschen gereinigten Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. 1901. p. 580.)
- 46) Vagedes, Experimentelle Prüfung der Virulenz von Tuberkelbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVIII. 1898. p. 276.)
- 47) Manfredi, Ueber die Bedeutung des Lymphgangliensystems für die moderne Lehre von der Infektion und der Immunität. (Virchows Arch. Bd. CLV. 1899. p. 325.)
- 48) Bartel, Lymphatisches System und Tuberkuloseinfektion. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 34.)
- 49) Ghedini, Untersuchungen über die Wirkung einiger Organextrakte. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 721.)
- 50) —, Della epatite interstiziale tubercolare. (Annali dell' Istituto Maragliano. Vol. I. 1904. Ottobre.)

- 51) Brieger, Beiträge zur Lehre von der fibrösen Hepatitis. (Virchows Arch. Bd. LXXV. 1894. p. 85.)
- 52) Graucher, Martin et Le Doux-Lebard, Recherches sur la tuberculose expérimentale. (Compt. rend. de la soc. de biol. T. XLIII. 1891. p. 111. Taf. III, IX.)
- 53) Link, Wird bei Kaninchen und Meerschweinchen experimentell hervorgerufene Tuberkulose durch Injektion von Hundeblytserum beeinflusst? (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXIX. 1904. Heft 3 u. 4.)
- 54) Héricourt et Richet, Nouvelles expériences sur les effets des injections de sérum dans la tuberculose. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1891. Séance 16 mai p. 335.)
- 55) Baradat, Zeitschr. f. Tuberk. Bd. II. 1901. p. 303. Zit. nach Cornet u. Mayer in Kolle u. Wassermann. 1904. IV, II. p. 833.
- 56) Bertin et Picq, De la transfusion du sang de chèvre, comme traitement de la tuberculose. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1890. p. 719.)
- 57) Baer und Loeb, Ueber die Bedingungen der autolytischen Eiweißspaltung in der Leber. (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. LIII. 1905. Heft 1.)
- 58) Bartel und Neumann, Leucocyt und Tuberkelbacillus. (Diesem Centralbl. eingesendet.)
- 59) Bartel, Die Infektionswege bei der Fütterungstuberculose. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 15. 1905. No. 7; Klin. Jahrb. 1905.)
- 60) Bartel und Neumann, Ueber experimentelle Inhalationstuberculose beim Meerschweinchen. (Im Erscheinen.)
- 61) Bartel, Lymphatisches System und Tuberkuloseinfektion. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 34.)
- 62) Kossel, Ueber Lymphzellen. (Dtsche med. Wochenschr. 1894. p. 164.)
- 63) Krompacher, Recherches sur la trètement des animaux tuberculeux par la méthode de Lãnderer et sur le virulence des bacilles tuberculeux. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1900. p. 735.)
- 64) Ramond et Revand, Action des microbes sur le développement du bacille de la tuberculose. (Arch. de méd. expér. T. XI. 1899. p. 494.)
- 65) Bartel, Die Bedeutung der Lymphdrüse als Schutzorgan gegen die Tuberkuloseinfektion. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 41.)
- 66) Löwenstein, Ueber Septikämie bei Tuberkulose. (Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenwesen. Bd. VII. 1905. Heft 6.)
- 67) Gianasso, Ueber den Einfluß der Durantischen Jodjodkalilösung auf die Blutmischung bei Tuberkulose. (Riforma med. 1905; Ref. Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 41.)
- 68) Manfredi e Frisco, Zit. nach Manfredi. Virchows Arch. Bd. CLV.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bedeutung der Leukocyten bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweinchens mit Typhusbacillen.

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

Von Dr. Alfred Pettersson.

Welche Rolle die Leukocyten bei der Infektion spielen, gehört zu den am meisten umstrittenen Fragen auf dem Gebiete der Bakterienimmunität. Während Metschnikoff und seine Mitarbeiter bekanntlich die Ansicht vertreten, daß die eingeführten Keime durch die Wirksamkeit der Leukocyten vernichtet werden, sind R. Pfeiffer und seine Schüler der Meinung, daß die Bakterien durch die Wirkung der in den Körpersäften befindlichen bakteriolytischen Substanzen eingehen.

Um die Bedeutung der Leukocyten näher studieren zu können, wäre es wünschenswert, sowohl die Menge der anwesenden Leukocyten als auch den Zeitpunkt ihrer Wirkung willkürlich bestimmen zu können.

Außerdem möchte man gern die Beeinflussung der Versuche durch die bakteriolytischen Substanzen des Versuchstieres so viel als möglich ausschalten. Dies läßt sich offenbar nicht erzielen, wenn man die eigenen Leukocyten des infizierten Tieres als Untersuchungsgegenstand benutzen will. Besonders wenn man kleinere Dosen des Infektionsstoffes benutzt, dürfte es manchmal sehr schwierig sein, zu entscheiden, was der Wirkung der Leukocyten und was der der Bakteriolyse zuzuschreiben ist.

Unter solchen Umständen habe ich vorgezogen, die Leukocyten des Versuchstieres unberücksichtigt zu lassen und statt dessen die Leukocyten eines fremden Tieres der Untersuchung zu unterziehen, die gleichzeitig oder nach der Infektion dem Versuchstiere einverleibt wurden. Theoretisches Bedenken auf Grund der Vermutung, daß diesen Leukocyten etwa die Möglichkeit benommen sein könne, im fremden Organismus ihre physiologische Funktion zu entfalten, konnte man nicht hegen, da es mit wenig Schwierigkeit verbunden ist, die Lebenstätigkeit der weißen Blutkörperchen auch außerhalb des Tierorganismus zu erhalten. Daß die Leukocyten durch die Gewinnungsmethode in höherem Grade beschädigt werden könnten, war auch nicht sehr wahrscheinlich. Ueberhaupt scheint man die Lebenslänge und die Resistenz vom Körper getrennter Zellen manchmal bedeutend unterschätzt zu haben. So konnte Ljunggren (1) nachweisen, daß von der Haut getrennte Epidermstreifen bei sterilem Aufbewahren in Ascitesflüssigkeit bisweilen noch nach 30 Tagen zur Transplantation brauchbar waren. Ochsenleukocyten können, wie Nakanishi (2) nachgewiesen hat, nach 10 Tagen noch lebendig sein.

Die Leukocyten wurden in gewöhnlicher Weise durch Aleuronat-injektion, meistens in die Bauchhöhle, erhalten. Um dem Gerinnen des Exsudats und dem dadurch hervorgerufenen Zusammenballen der Leukocyten vorzubeugen, wurde der Kochsalzlösung, mit der die Bauchhöhle ausgespült wurde, etwa 0,8 pro Mille Natriumoxalat zugesetzt. Nach dem Zentrifugieren wurden die Leukocyten mit gewöhnlicher Kochsalzlösung gewaschen. Vor dem letzten Zentrifugieren wurde die Aufschwemmung kurze Zeit zum Sedimentieren gestellt oder auch eine kleine Weile mit geringer Umdrehungsgeschwindigkeit zentrifugiert, um Reste von Aleuronat und Klumpen von Leukocyten zu entfernen. In dieser Weise behandelt, waren die Leukocyten nach Aufschwemmen in der Injektionsflüssigkeit fast immer gut isoliert und konnten ohne Schwierigkeit mit einer nicht allzu engen Spritzen Spitze injiziert werden. Von fremden Beimengungen waren nur einzelne Oxalatkristalle zu sehen.

Von den zu den Versuchen benutzten fünf virulenten Typhusstämmen stammten zwei, K. und J., aus Stockholm, drei, Spr., M. und 20, aus der Königsberger Sammlung. Die kleinste tödliche Dosis war von Typhusstamm Spr., $\frac{1}{18}$ — $\frac{1}{20}$ Oese, von Typhusstamm M. $\frac{1}{12}$ Oese, und von den übrigen $\frac{1}{10}$ Oese. Außerdem kam ein avirulenter Stamm K. zur Anwendung. Von den Immunseris stammte das eine, H. 7, von einem mit Typhusstamm H. vorbehandelten Hunde. Sein Titre war 0,01. Die beiden anderen, K. 68 und K. 71, waren Kaninchensera mit Titre 0,005 und 0,001. Serum K. 68 war 6 Monate alt, die anderen beim Anfang der Untersuchung frisch genommen. Durch die Untersuchungen von Wassermann (3), Friedberger und Moreschi (4) und mir (5) ist in Bezug auf den Typhusbacillus festgestellt worden, daß verschiedene Typhusstämmen ganz verschiedene antikörperbildende Fähigkeit besitzen. Es dürfte nun bezüglich der folgenden Unter-

suchungen vielleicht nicht ohne Bedeutung sein, daß die benutzten Sera im Verhältnis zu der recht langen Immunisierungszeit und der Menge injizierter Kultur einen verhältnismäßig niedrigen Titre hatten.

Bei den Versuchen wurden die Bacillen in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und sodann vor der Injektion Bacillenaufschwemmung und Leukocyten gut gemischt. Die injizierte Menge überstieg fast nie 3 ccm und hatte gewöhnlich die Konsistenz dicken Eiters. Keine Exsudate mit reichlicherer Beimengung von roten Blutkörperchen wurden zu den Versuchen benutzt, da fast immer nur schlechte Resultate damit erhalten wurden.

Der Kürze halber und um in den Tabellen hauptsächlich nur die für jedes Tier wichtigen Details angeben zu brauchen, mag hier zuerst der allgemeine Gang der Versuche skizziert werden. Das vom Meerschweinchen erhaltene Exsudat besteht zum größten Teil aus polynukleären, eosinophilen Leukocyten von etwas verschiedener Größe; außerdem kommen große mononukleäre, plasmareiche Zellen nicht allzu spärlich vor. Beide besitzen die Fähigkeit, Bacillen aufzunehmen. In meinen Versuchen war aber die Anzahl der in den letztgenannten Zellen gefundenen Bakterien weit geringer als in den polynukleären Leukocyten. Schließlich enthält das Exsudat auch Lymphocyten in kleiner Menge. Bei diesen habe ich Phagocytose nie beobachtet.

Die sofort nach der Injektion herausgenommenen Proben des Bauchhöhleninhaltes waren gleichmäßig trüb. Die darin befindlichen Leukocyten waren fast immer gut isoliert und gut färbbar. War die Bacillenaufschwemmung erst gleich vor dem Injizieren mit dem Immunserum gemischt worden, so waren auch die Bacillen gleichmäßig verteilt. Nach kurzer Zeit, oft schon nach 10 Minuten, fingen die Leukocyten an, sich zu Klumpen und Haufen zusammenzuballen, so daß die Proben des Peritonealinhaltes schon makroskopisch deutlich flockiges Aussehen darboten. Diese Verklumpung trat im allgemeinen am stärksten zu Tage bei den Tieren, denen größere Mengen Bacillen ohne Immunserum injiziert worden waren. Die herausgeholtten Proben enthielten dann nach einiger Zeit nur wenige Zellen, von denen die Lymphocyten einen großen Anteil ausmachten. Bei der Sektion wurden die Leukocyten zusammengeballt als fibrinähnliche Fetzen zwischen den Gedärmen und am Netze wiedergefunden. Die Zellen ließen sich dann oft schlecht färben. Entartete Leukocyten waren immer mehr oder weniger zahlreich zu sehen. Waren die Zellen nur wenig verklumpt, schien die Phagocytose dadurch nicht sehr beeinflußt zu werden. Diese verlief nicht immer gleich rasch. Bisweilen war der allergrößte Teil der Bacillen von Zellen schon aufgenommen worden, ehe die Agglutination überhaupt begonnen hatte. In anderen Fällen wurden die Bacillen erst nach mehr oder weniger vollständiger Agglutination von den Freßzellen verschluckt. Der Unterschied scheint von der Beschaffenheit der Immunsera herzurühren. War die Phagocytose vollständig, so daß alle oder fast alle injizierten Bacillen von den Leukocyten aufgenommen wurden, war von einer Granulabildung nichts oder sehr wenig zu sehen. Bei unvollständiger Phagocytose traten Granula dagegen mehr oder weniger reichlich auf. Der Ausgang der Infektionsversuche ließ sich bei diesem Infektionsmodus, wenn es sich um mittelgroße Dosen des Infektionsstoffes handelte, von der Intensität der Phagocytose vorhersagen. Wurden die Bakterien vollständig von den Leukocyten aufgenommen, kamen die Tiere mit dem Leben davon. Bei unvollständiger Phagocytose trat nach einigen Stunden Ver-

mehrung der freien Bakterien ein und die Tiere gingen mit zahlreichen Bacillen in der Peritonealfüssigkeit zu Grunde. Wurden dagegen große Mengen, 15—20 Oesen, Bacillen injiziert, gingen die Meerschweinchen mehrmals ein, ohne daß freie Bakterien in der Bauchhöhle zu finden waren. Die Leukocyten enthielten aber öfters einzelne gut erhaltene, färbare Stäbchen. Bei den Tieren, die Leukocyten bekommen hatten, trat schon in der ersten Stunde ein bedeutender Temperaturabfall ein, der 4—5 Stunden dauerte bei den Tieren, die sich später erholten.

Tabelle I.

Versuche mit Meerschweinchenleukocyten.

Meerschweinchen 280 g. 1,0 g Leukocyten + 0,15 ccm Serum K. 68 + 7 Oesen Spr. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde. Die Bakterien agglutiniert, wenige frei, beweglich, keine Granula; viele Leukocyten enthalten einige Bacillen. Nach 1 Stunde. Die Leukocyten wenig verklumpt, die Phagocytose schreitet fort, einzelne Granula. Nach 2 Stunden. Sehr wenige freie Bakterien, meist in kleinen Haufen bei und zwischen den Leukocyten, die fast alle mit Bakterien vollgeproft sind; wenige Granula. Nach 4 Stunden. Nur einzelne freie Bakterien, keine Granula. Die in den Leukocyten eingeschlossenen Stäbchen teilweise weniger deutlich. Das Meerschweinchen geht nach 5 Tagen ein, ohne Bacillen.

Meerschweinchen 270 g. 1,5 g Leukocyten + 0,2 ccm Serum K. 68 + 10 Oesen Typhus Spr. Verlauf ungefähr wie beim vorigen. Nach 1 Stunde. Die anfangs massenhaft vorhandenen freien Bakterien haben bedeutend abgenommen, doch sind noch kleine Haufen und wenige bewegliche zurück, wenige Granula. Die meisten Leukocyten enthalten zahlreiche Stäbchen. Nach 2 Stunden. Fast keine freien Bakterien, kaum mehr Granula als nach 1 Stunde. Die meisten Leukocyten sind ganz voller Bakterien. Tier bleibt am Leben; nahm in den ersten Tagen 30 g ab, erholte sich aber rasch.

Meerschweinchen 280 g. 1,6 g Leukocyten + 0,18 ccm Serum K. 68 + 12 Oesen Typhus Spr. Sofort. Massenhaft Bakterien, teils bewegliche, teils unbewegliche, in kleinen Haufen; Leukocyten gut isoliert, rote Blutkörperchen in geringer Zahl. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde. Große lockere Haufen von Bakterien, wenige freie, bewegliche solche. Leukocyten wenig verklumpt, viele von ihnen enthalten mehrere Bakterien. Keine Granula. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden. Das Tier sichtbar schwer krank. Die freien Bacillen haben an Zahl bedeutend abgenommen; im Verhältnis zu den Bakterien sehr wenige Granula. Die meisten Leukocyten enthalten zahlreiche Bakterien; mehrere Leukocyten entartet. Nach 3 Stunden. Die Leukocyten nur zum Teil in Klumpen, fast alle Zellen vollgeproft mit Stäbchen, nur sehr wenige freie Bacillen einzeln oder in Haufen von 2—3; keine Granula. Nach 6 Stunden. Keine freien Bacillen. In den Phagocyten kommen neben gut erhaltenen Stäbchen schlecht färbare solche und Granula vor. Das Tier bleibt am Leben, Gewichtsabnahme 40 g, erholt sich ziemlich rasch.

Meerschweinchen 250. 2,6 g Leukocyten + 0,04 ccm Serum K. 71 + 15 Oesen Typhus Spr. Sofort. Massenhaft nicht agglutinierte Bakterien und reichlich ziemlich gut isolierte Leukocyten. Nach 10 Minuten. Keine Agglutination, Leukocyten wenig verklumpt, bedeutende Phagocytose, viele Zellen enthalten 8—10 und mehr Bakterien. Nach 30 Minuten. Wenige freie Bakterien, teils isoliert und beweglich, teils in kleinen Haufen, wenige Granula, die Leukocyten sind fast alle ganz voller Bakterien, an mehreren Stellen sieht man Bakterien dicht an isolierten Leukocyten gelagert, offenbar im Begriff, aufgenommen zu werden. Nach 1 Stunde. Fast keine freien Bakterien, sehr wenige Granula, die Leukocyten mäßig verklumpt, vollgeproft von Bakterien. Das Tier erholt sich.

Meerschweinchen 275 g. 0,6 g Leukocyten + 1 Oese Typhus Spr. Nach 1 Stunde. Die Bakterien gut beweglich, fast ebenso zahlreich wie sofort nach der Injektion. Einzelne Leukocyten enthalten 1—2 Bacillen. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden. Die Leukocytose wenig fortgeschritten. Nach 3 Stunden. Die Bakterien sind deutlich zahlreicher als anfangs. Das Tier geht in der Nacht ein. Dünnes Exsudat mit sehr zahlreichen Bakterien und Fetzen von verklumpten, teils entarteten, teils gut färbaren Leukocyten, einzelne von ihnen enthalten wenige Bacillen.

Meerschweinchen 280 g. 0,5 g Leukocyten + 0,1 ccm Serum K. 68 + 5 Oesen Typhus Spr. Nach 2 Stunden. Viele Leukocyten voll mit Bakterien, wenige Granula. Nach 4 Stunden. Nur einzelne freie Stäbchen. Fast alle Leukocyten enthalten mehr oder wenig reichlich Bakterien. Das Tier bleibt am Leben, Gewichtsabnahme geringer als 10 g.

Meerschweinchen 280 g. 0,06 ccm Serum K. 68 + 3 Oesen Typhus Spr. Nach 1½ Stunden. Die Bakterien vollständig agglutiniert, spärliche Granula, wenige Leukocyten in kleinen Klumpen, einzelne enthalten 1—3 Bakterien. Nach 3 Stunden. Die Bakterien vermehrt, ein großer Teil von ihnen gut beweglich. Das Tier, mit reichlich Bakterien im Peritonealexsudate, geht in der Nacht ein.

Nach dem günstigen Ausfall der Versuche mit Meerschweinchenleukocyten wurden ähnliche Versuche auch mit Kaninchenleukocyten angestellt. Das Resultat wurde dasselbe, die Kaninchenleukocyten zeigten sich auch in der Meerschweinchenbauchhöhle in hohem Grade befähigt, Bakterien aufzunehmen. Das Exsudat vom Kaninchen enthält dieselben Zellentypen wie das vom Meerschweinchen. Die großen mononukleären, plasmareichen Leukocyten sind aber etwas zahlreicher vertreten. Schließlich wurden auch einige Versuche mit Katzenleukocyten gemacht.

Tabelle II.

Versuche mit Kaninchen- und Katzenleukocyten.

Meerschweinchen 280 g. 1,0 g Kaninchenleukocyten + 0,15 ccm Serum K. 68 + 7 Oesen Typhus Spr. Nach ½ Stunde. Bakterien in großen Haufen, wenige vereinzelt, beweglich. Die Leukocyten wenig verklumpt, viele von ihnen enthalten zahlreiche Bakterien. Keine Granula. Nach 1½ Stunden. Einzelne kleine Haufen von Bakterien, wenige isolierte solche, wenige Granula. Fast alle Leukocyten enthalten Bakterien, die meisten sind ganz voll davon. Nach 3 Stunden. Die freien Bakterien noch spärlicher, sehr wenige Granula. Nach 6 Stunden. Keine freien Bakterien. Die in den Phagocyten eingeschlossenen Bacillen fangen an, undeutlich zu werden. Das Tier blieb am Leben, bekam aber einen Rektalprolaps und wurde deshalb am dritten Tage getötet.

Meerschweinchen 265. 2,0 g Kaninchenleukocyten + 0,2 ccm Serum K. 68 + 10 Oesen Typhus Spr. Nach ½ Stunde. Große Haufen von Bakterien, wenige isolierte bewegliche, keine Granula, beginnende Phagocytose. Nach 1½ Stunden. Die freien Bakterien haben bedeutend an Anzahl abgenommen, die meisten Leukocyten sind dagegen voll von Stäbchen, sehr wenige Granula. Nach 3 Stunden. Fast alle Leukocyten vollgepfropft von Bacillen, nur einzelne freie Stäbchen werden aufgefunden. Das Tier war nie sichtbar krank, magerte jedoch etwas ab, erholte sich aber rasch.

Meerschweinchen 280 g. 2,3 g Kaninchenleukocyten + 0,3 ccm Serum K. 68 + 15 Oesen Typhus Spr. Der Verlauf des Infektionsversuches entsprach völlig dem vorigen. Die Phagocytose setzte nach etwa einer halben Stunde ein und nach 3 Stunden waren fast alle Bakterien von den Leukocyten aufgenommen. Granula waren sehr wenige zu sehen. Das Tier war deutlich krank, erholte sich aber rasch; die Gewichtsabnahme betrug nur 20 g.

Meerschweinchen 275 g. 2,0 g Kaninchenleukocyten + 0,02 ccm Serum K. 71 + 12 Oesen Typhus Spr. Nach 10 Minuten. Keine Agglutination, Leukocyten wenig verklumpt, die freien Bakterien schon bedeutend weniger zahlreich als anfangs, da eine bedeutende Phagocytose stattgefunden hat. Nach 20 Minuten. Fast alle Leukocyten enthalten mehrere Bakterien. Keine Granula. Nach 30 Minuten. Sehr wenige freie Bakterien, keine Granula. Die Leukocyten vollgepfropft mit Bacillen. Nach 1 Stunde. Nur einzelne freie Bakterien, keine Granula. Das Tier bleibt am Leben, war nicht sichtbar schwer krank.

Meerschweinchen 275 g. 1,1 g Kaninchenleukocyten + 0,03 ccm Serum K. 71 + 15 Oesen Typhus H. Sofort. Leukocyten nicht ganz isoliert, die Bakterien in beginnender Agglutination. Nach 10 Minuten. Leukocyten mäßig verklumpt. Die freien Bakterien nur halb so zahlreich als sofort nach der Injektion, etwa die Hälfte von Leukocyten aufgenommen, keine Granula. Nach 30 Minuten. Nur wenige freie Bakterien, die Leukocyten dagegen ganz voll von solchen. Keine Granula. Nach 1½ Stunden. Einzelne freie Bakterien und wenige Granula zwischen den verklumpten Leukocyten, sonst sind freie Bakterien kaum zu sehen. Das Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen 260 g. 4,5 g nicht ganz blutfreier Kaninchenleukocyten + 0,04 ccm Serum K. 71 + 20 Oesen Typhus 20. Sofort. Die Leukocyten nicht vollständig isoliert. Nach 10 Minuten. Sehr viele Bakterien von den Leukocyten aufgenommen, die freien Bakterien öfters in lockeren Haufen, keine Granula. Nach 30 Minuten. Die meisten Leukocyten enthalten zahlreiche, oft 20—30 Bakterien, keine Granula. Nach 1 Stunde. Wenige freie Bakterien, einzelne Granula. Die Leukocyten sind alle voll Bakterien, in einzelnen Zellen können bis zu 60 Bacillen

gezählt werden. Nach 6 Stunden. Noch einzelne freie, aber unbewegliche Stäbchen. Das Meerschweinchen war sehr krank, erholte sich und nahm Futter, ging aber nach 3 Tagen ein ohne Bacillen. Gewicht 230 g.

Meerschweinchen 300 g. 1,5 g Katzenleukocyten + 0,02 ccm Serum vom Hunde 7 + 12 Oesen Typhus H. Nach 15 Minuten. Keine Agglutination, die freien Bakterien merkbar weniger zahlreich als sofort nach der Injektion, die meisten Leukocyten enthalten mehrere, 8—12 Bacillen. Nach 30 Minuten. Keine Agglutination. Die Anzahl der freien Bakterien bedeutend kleiner als anfangs, intensive Phagocytose, viele Zellen enthalten 30—40 und mehr Bakterien. Einzelne Granula. Nach 1 Stunde. Wenige freie Bakterien, fast alle Leukocyten vollgepfropft mit Bakterien, sehr wenige Granula. Nach 2 Stunden. Nur einzelne freie Stäbchen. Das Tier sah sehr wenig krank aus und erholte sich in kürzester Zeit.

Meerschweinchen 280 g. 1,0 g Kaninchenleukocyten + 3 Oesen Typhus 20. Nach 15 Minuten. Unbedeutende Phagocytose, eine Minderzahl Leukocyten enthalten je 4—5 Bakterien. Keine Granula. Nach 1 Stunde. Die freien Bakterien weniger zahlreich als sofort nach der Injektion, die Phagocytose nur wenig fortgeschritten, die Leukocyten recht stark verklumpt. Mäßig reichlich Granula. Nach 2 Stunden. Die freien Bakterien haben nicht weiter abgenommen. Nach 6 Stunden. Fortwährend sehr viele freie Bakterien, nicht allzu wenige Granula. Die Phagocytose hat wenig Fortschritte gemacht. Das Tier geht in der Nacht ein. Der Peritonealinhalt ist flüssig, mit Fetzen verklumpter Leukocyten und zahlreichen Bakterien.

Meerschweinchen 265 g. 0,01 ccm Serum K. 71 + 3 Oesen Typhus 20. Nach 1½ Stunden. Aeußerst reichlich Bakterien, wenige Granula. Einzelne Lymphocyten. Nach 6 Stunden. Zahlreiche Bakterien, wenige Leukocyten, meistens mit vielen, 6—10 Bakterien. Das Meerschweinchen geht in der Nacht ein, mit massenhaften Bakterien in dem flüssigen Exsudate.

Aus den vorstehenden Versuchen geht deutlich hervor, daß beim Zusammenwirken von Serum und Leukocyten ein Einfluß auf die Infektion erreicht wird, den keine der beiden Substanzen allein im stande ist hervorzurufen. Die Menge Meerschweinchenleukocyten, die mit Serum sicher gegen 5 Oesen Typhusbacillen schützt, kann sogar allein gegen 1 Oese versagen. Die Kaninchenleukocyten sind wirksamer, aber auch diese sind allein nicht im stande, weniger als die Hälfte der Dosis zu vernichten, gegen welche Leukocyten und genügende Menge Serum sicher schützen. Schon daraus folgt, daß das Serum für die Bakterienauflösung notwendig ist. Allein ist aber auch das Serum gegen größere Mengen des Infektionsstoffes unzureichend. Von diesen virulenten Typhusstämmen vertrag bei meinen Versuchen kein Meerschweinchen mit nur Serum mehr als 7 Oesen und dann erst bei Injektion ganz großer Mengen Serums. Beim Verwenden von Leukocyten und Serum kann man, wie die Versuche mit Serum K. 71 zeigen, mit 1½—2mal des Multiplums von Serum auskommen, das unter Berücksichtigung der Virulenz aus dem Titre berechnet wird.

In den wiedergegebenen Versuchen habe ich immer mit hohen Multipla der unter gewöhnlichen Umständen tödlichen Dosen des Infektionsstoffes gearbeitet. Von Typhus Spr. wurde mehrmals 300mal die einfache, durch Infektion tötende Dosis injiziert; ohne tödlichen Ausgang des Versuchstieres. Die Vorzüge dieses Vorgehens liegen hauptsächlich darin, daß man die Wirkung der eigenen Schutzkräfte des Versuchstieres besser ausschließen kann. Dies ist um so vorteilhafter, als sie nicht gemessen werden können. Besonders beim Hervorrufen einer Ansammlung Leukocyten des Versuchstieres in der Bauchhöhle vor der Infektion dürfte die Menge der anwesenden Immunkörper nicht allzu gering sein.

Daß die Tiere von den giftigen Substanzen dieser großen Bakterienmassen nicht akut vergiftet werden, beruht offenbar auf der phagocytären Wirkung der anwesenden Leukocyten. Sobald die Bakterien in diesen eingeschlossen worden sind, dürften andere empfindlichere Zellen vor

der Giftwirkung geschützt sein, wenn ein Zerfall der Phagocyten nicht in größerem Maße stattfindet. Wird die Zelle aber beschädigt, so ist zu fürchten, daß die Gifte entfesselt werden. Es ist nicht wahrscheinlich, daß die Leukocyten einige Substanzen enthalten, die etwa wie Antitoxine wirken. Es gelang nämlich nicht mit Leukocytenextrakten oder gefrorenen Leukocyten, dieselbe Wirkung zu erreichen wie mit den lebenden Zellen. In dem Zerfalle zahlreicher Phagocyten liegt wohl auch die Erklärung, daß bei höheren Bakteriodosen die Tiere öfter eingingen, obwohl auch bei diesen die Phagocytose ein rasches Verschwinden der freien Bacillen bewirkte. Es kann auch nicht wundernehmen, wenn Leukocyten, die 50–60 Typhusbacillen aufgenommen haben, schließlich entarten und zerfallen.

Wurden nun die Leukocyten ohne Immunserum injiziert, so war von ihrer Schutzwirkung wenig zu sehen. Freilich nahm auch dann die injizierte Bakterienmenge ab, im allgemeinen aber nur recht mäßig und nur in den ersten 2–3 Stunden. Die Verminderung der Anzahl freier Bakterien dürfte übrigens in gleich hohem Grade durch extracelluläre Auflösung zu stande kommen, als durch Phagocytose, die immer verhältnismäßig gering war. Es war deshalb wahrscheinlich, daß die Anwesenheit von Immunserum die Phagocytose förderte. Um dieser Frage näherzutreten, wurden mehrmals Aufschwemmungen von Leukocyten und Bakterien in Reagierröhrchen sowohl mit als ohne Immunserum nach verschieden langem Belassen bei $+ 37^{\circ} \text{C}$ untersucht. Mit Staphylokokken erreicht man in dieser Weise oft gute Resultate. Bei dem Typhusbacillus versagte die Methode fast immer, es fand meistens keine Phagocytose statt. Die Versuche wurden deshalb in der Meerschweinchenbauchhöhle fortgeführt (Tabelle III).

Es leuchtet ein, daß das Immunserum die Phagocytose in hohem Grade begünstigt. Freilich nehmen die Leukocyten auch bei Abwesenheit von Immunserum Bakterien auf, aber bedeutend langsamer und nie in so großer Zahl. Das fördernde Moment scheint nicht das Zusammenballen der Bakterien durch die Agglutination zu sein, denn bei recht energischer Phagocytose werden fast alle Bakterien von den Freßzellen aufgenommen, ehe etwas von Agglutination zu sehen ist. Eine Konkordanz zwischen der agglutinierenden und der die Phagocytose fördernden Wirkung der Sera scheint nicht zu bestehen. Das Serum K. 71 rief eine so intensive Phagocytose hervor, daß alle injizierten Bakterien vor dem Auftreten der Agglutination von Zellen aufgenommen wurden, während beim Verwenden von Serum K. 68 die Phagocytose öfters erst nach der Agglutination einsetzte.

Dieser Einfluß des Immunserums auf die Phagocytose ist längst von Metschnikoff hervorgehoben. Er glaubt die Sache so erklären zu können, daß das Serum gewisse Stoffe enthält, von ihm Stimuline genannt, die einen Reiz auf die Leukocyten zur stärkeren Phagocytose ausüben. Inzwischen ist eine solche Wirkung von Wright und Douglas (6) auch bei dem Normalserum aufgefunden. Diese beiden Forscher nehmen an, daß die Substanzen der Bakterien, welche das Aufnehmen derselben durch die Leukocyten verhindern, durch gewisse Stoffe des Serums, die sie Opsonine benennen, unschädlich gemacht werden. Durch Vorbehandeln mit Bakterien verlor nämlich das Serum diese Eigenschaft. In der Tat ist das Typhusimmunserum nach dem Behandeln mit Typhusbacillen auch in dieser Hinsicht unwirksam. Es scheint mir zweifelhaft, ob diese Substanzen durch einfaches Waschen

Tabelle III.

A. Ohne Immunserum.	B. Mit Immunserum.
<p>Meerschweinchen 265 g: 0,5 g Meer-schweinchenleukocyten + 5 Oesen Ty-phus M. Sofort. Gut isolierte Leukocyten und Bak-terien. Nach 45 Minuten. Zahlreiche freie Bak-terien, mäßig reichliche Granula, ein-zelne Leukocyten enthalten 1—2 Bakte-rien. Die Leukocyten mehrmals schlecht gefärbt.</p>	<p>Meerschweinchen 250 g. 0,5 g Meer-schweinchenleukocyten + 0,01 ccm Se-rum K. 71 + 5 Oesen Typhus M. Sofort. Wie bei A. Nach 45 Minuten. Wenige freie Bakte-rien, einzelne Granula, die meistens gut gefärbten Leukocyten enthalten fast alle je 6—8 Bakterien.</p>
<p>Meerschweinchen 270 g. 1,7 g Kaninchen-leukocyten + 15 Oesen Typhus H. Sofort. Bakterien und Leukocyten gut isoliert und gleichmäßig verteilt. Nach 10 Minuten. Bakterien nicht agglu-tiniert, Leukocyten sehr wenig ver-klumpt, einzelne von ihnen enthalten 4 bis 5 Bakterien. Nach 20 Minuten. Keine Agglutination. Die Phagocytose hat nur unbedeutenden Fortschritt gemacht. Nach 1 Stunde. Die Phagocytose ist ein wenig fortgeschritten, immerhin enthal-ten nur wenige Leukocyten Bakterien und nie in größerer Zahl. Mäßig reich-liche Granula. Die freien Bakterien scheinen fast ebenso zahlreich zu sein als anfangs. Nach 3 Stunden. Die freien Bakterien deutlich zahlreicher als sofort nach der Injektion.</p>	<p>Meerschweinchen 270 g. 1,7 g Kaninchen-leukocyten + 0,03 ccm Serum + 15 Oesen Typhus H. Sofort. Wie bei A. Nach 10 Minuten. Keine Agglutination. Die freien Bakterien haben bedeutend abgenommen an Zahl. Die meisten Leukocyten enthalten zahlreiche, 15 bis 20, Bakterien, in einzelnen Zellen kann man bisweilen mehr als 50 Bakterien zählen. Nach 20 Minuten. Keine Agglutination, nur wenige freie Bakterien, die Leuko-cyten ganz voll Bacillen, keine Gra-nula. Nach 1 Stunde. Einzelne freie Bakterien, keine Granula. Nach 1½ Stunden. Freie Bakterien sind kaum zu entdecken.</p>
<p>Meerschweinchen 270 g. 1,0 g Kaninchen-leukocyten + 10 Oesen Typhus 20. Sofort. Leukocyten gut isoliert, keine Ag-glutination. Nach 10 Minuten. Keine Phagocytose. Nach 30 Minuten. Die freien Bakterien fast ebenso zahlreich wie anfangs; nur wenige Leukocyten enthalten einige Stäb-chen.</p>	<p>Meerschweinchen 260 g. 1,0 g Kaninchen-leukocyten + 0,02 ccm Serum K. 71 + 10 Oesen Typhus 20. Sofort. Wie bei A. Nach 10 Minuten. Keine Agglutination, die freien Bacillen sind deutlich weniger zahlreich als sofort nach der Injektion. Viele Bacillen sind von den Leukocyten aufgenommen. Nach 30 Minuten. Sehr wenige freie Bak-terien. Die Leukocyten sind dagegen vollgepfropft mit Bacillen.</p>

den Bakterien entnommen werden können. Solchenfalls müßten gründlich mit Kochsalzlösung gewaschene Bacillen sich zu den Leukocyten etwa wie avirulente Typhusbakterien verhalten, die viel leichter von den Phagocyten aufgenommen werden als die virulenten. Meine Ver-suche, die freilich nicht zahlreich waren, zeigten nun keinen Unterschied zwischen den gewaschenen und den gewöhnlichen Bakterien. Mit den erstgenannten behandeltes Serum hatte auch seine Eigenschaft, die Phagocytose zu fördern, eingebüßt.

Die Anwesenheit der Leukocyten bei den Versuchen in der Meer-

schweinch-Peritonealhöhle hatten außer dem Unschädlichmachen der Giftstoffe noch einen Effekt als Erfolg. Wie aus den zwei ersten Tabellen zu ersehen ist, werden von Leukocyten und Serum weit größere Mengen Bakterien vernichtet als von Serum allein. Es mußte also untersucht werden, worauf sich diese Erscheinung gründet. Es waren theoretisch drei Möglichkeiten denkbar: 1) die Leukocyten enthalten besondere bakterizide Substanzen, 2) die Leukocyten spenden zu dem eingebrachten Immunkörper passendes Komplement, 3) die Leukocyten bewirken ein stärkeres Zuströmen von Komplement bezw. Komplement und Immunkörper zu der Bauchhöhle aus dem Blute.

Alle Versuche, gegen Typhusbacillen wirksame bakterizide Substanzen bei den Meerschweinchenleukocyten direkt nachzuweisen, sind bis jetzt gescheitert. Ich halte es für unnötig, diesbezügliche Tabellen auch hier wieder anzuführen, da ich diese Frage in einer anderen eben erschienenen Arbeit behandelt habe (7). Nun ist aber in einer unlängst erschienenen Arbeit von Bail (8) ein Versuch gemacht worden, ihre Existenz auf indirektem Wege zu beweisen. Von Hoke (9) ist nachgewiesen worden, daß beim Kaninchen die Körperorgane die Fähigkeit besitzen, das auf die Typhusbacillen wirkende Bakteriolytin zu absorbieren und die Serumbakterizidie im Reagierröhrchen aufzuheben. Diese Eigenschaft soll nun auch den Meerschweinchenleukocyten in der Bauchhöhle zukommen. Das Auflösen der Bakterien durch die lytischen Substanzen des Serums würde infolgedessen nur in dem speziellen Falle stattfinden, daß die Bauchhöhle frei von Leukocyten wäre. Da aber auch bei reichlicher Anwesenheit von Leukocyten die Bakterienvernichtung nicht nur nicht aufgehoben ist, sondern sogar noch besser von statten geht als ohne Leukocyten, so würde daraus folgen, daß die Meerschweinchenleukocyten selbst im stande wären, die Bacillen umzubringen.

Die Absorptionsfähigkeit der Leukocyten wurde sowohl im Reagiergläschen als in der Meerschweinchenbauchhöhle untersucht.

Tabelle IV.

Frisches aktives Serum und gewaschene Leukocyten von einem normalen Meerschweinchen. Der Untersuchung unterzogen wurden: Unverändertes Serum; $\frac{1}{2}$ Stunde bei $+ 37^{\circ} C$ mit $\frac{1}{4}$ g Leukocyten pro Kubikcentimeter behandeltes und danach zentrifugiertes Serum; Mischung von Serum und Leukocyten.

Einsaat	Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 2 Stdn.	Nach 5 Stdn.
Typhus Spr.	1 ccm aktives Meerschweinchenserum	27 856	3879	536
" "	1 " $\frac{1}{2}$ Std. bei 37° behand. Meerschw.-Ser.	23 154	560	162
" "	1 " akt. Meerschw.-S. + $\frac{1}{2}$ g Leukocyten	29 955	1462	264
" K.	1 " " "	12 020	21	3
" "	1 " " " + $\frac{1}{2}$ g Leukocyten	12 974	34	7

Weitere Versuche fielen in derselben Weise aus. Die Leukocyten waren nie im stande, die bakterizide Wirkung des Meerschweinchenserums auf die Typhusbacillen aufzuheben. Nun sind diese Versuche freilich mit Normalserum angestellt worden, da das Immuserum wegen der Agglutinationsfähigkeit sich für Untersuchungen mit der Plattenmethode nicht eignet. Es liegt aber kein Grund vor, anzunehmen, daß die Leukocyten dem Immuserum gegenüber sich anders verhalten würden. Es fehlt folglich die experimentelle Grundlage für die Annahme, daß die Leukocyten in der Bauchhöhle dieselbe Rolle spielen wie die

Tabelle V.

2½ g gewaschene Meerschweinchenleukocyten wurden in 3 ccm aktives normales Meerschweinchenserum aufgeschwemmt und in die Bauchhöhle eines Normalmeerschweinchens von 310 g injiziert. Nach einer Stunde wurde das Tier durch Nackenschlag getötet, der Peritonealinhalt aufgesaugt und zentrifugiert. Statt der injizierten 3 ccm Serum wurden 4 ccm klare Flüssigkeit erhalten. Einsaat: Typhus K.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 3 Stdn.	Nach 5 Stdn.
1 ccm Meerschweinchenserum	13 356	36	7
1 " " "		51	8
1 " " "	21 369	83	13
1 " " "		68	6
1 " behandeltes Meerschweinchenserum	14 882	3	4
1 " " "		10	9
1 " " "	20 415	29	4
1 " " "		18	2

Organmasse in dem Reagiergläschen. Der Vergleich des Verlaufes der Serumbakterizidie in der leukocytenreichen Bauchhöhle mit der nach Injektion von Leberbrei ist nur ein scheinbarer. In der Tat sind die Prozesse grundverschieden. Ein Beweis für das Vorkommen gegen Typhusbakterien wirkender, keimtötender Substanzen der Meerschweinchenleukocyten ist nicht erbracht worden, und in Anbetracht der Leichtigkeit, mit welcher solche Stoffe sonst nachgewiesen werden können, ist ihre Existenz nicht wahrscheinlich.

Wenn nun die Leukocyten auch keine eigenen bakteriziden Stoffe besitzen, so würden sie jedoch die Bakteriolyse wesentlich fördern, wenn es sich zeigte, daß sie Komplement abscheiden. In Bezug auf Typhusbacillen ist ein solcher Nachweis aber nicht gelungen. In der Vermutung, daß die Leukocyten, die vielleicht beim Waschen alles Komplement abgeben, längere Zeit brauchen, um neues solches zu produzieren, wurden die Leukocyten eine ganze Nacht im inaktiven Serum bei + 37° C belassen. Das Resultat war aber immerfort negativ.

Tabelle VI.

Serum und Leukocyten eines normalen Meerschweinchens. Die während der Nacht bei + 37° C aufbewahrte Aufschwemmung von Leukocyten in inaktiviertem Serum wurde am Morgen zentrifugiert und vor dem Verwenden auf Sterilität untersucht. Auf den angelegten Kulturen gingen keine Kolonien auf. Einsaat: Typhus K.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 3 Stunden
1 ccm aktives Meerschweinchenserum	5246	29
1 " inaktiviertes "	6232	Vermehrung
1 " mit Leukocyten behandeltes Meerschweinchenserum	6042	8013

Unter solchen Umständen muß man annehmen, daß die durch die Anwesenheit der Leukocyten hervorgerufene stärkere Abtötung der Typhusbakterien auf einer reichlicheren Zufuhr von Komplement aus dem Blute beruht. Die Leukocyten scheinen schon unter sonst normalen Verhältnissen, d. h. ohne daß Bakterien anwesend sind, die Transsudation aus den Gefäßen zu erhöhen. Wird einem Meerschweinchen eine Mischung von Serum und Leukocyten in die Bauchhöhle injiziert, so ist die nach 1 Stunde beim Aufsammeln und Zentrifugieren des Bauchhöhleninhaltes erhaltene Menge Flüssigkeit gewöhnlich größer als die des injizierten Serums (siehe Tabelle V!), während beim Injizieren

von Serum allein das Gegenteil fast Regel ist. Beim infizierten Tiere kommt außerdem der Umstand in Betracht, daß die Leukocyten durch das Unschädlichmachen giftiger Bakterienprodukte die Exsudationsverhältnisse sicherlich ändern.

Will man auf Grund unserer jetzigen Kenntnisse sich eine Vorstellung machen über den Vorgang beim Absterben der Typhusbacillen in den Phagocyten des Meerschweinchens, so bleibt nichts anderes übrig als anzunehmen, daß dies eine Folge der Einwirkung der an den Bacillen angelagerten Serumbakteriolysine, h. e. Immunkörper und Komplemente ist. Die Phagocytose ist in Bezug auf die Keimvernichtung irrelevant, nicht aber die Wirkung der Bakteriolysine, wie Metschnikoff es annimmt. Bei größeren Mengen virulenter Bakterien wird eine ausgiebigere Phagocytose erst durch das Serum ermöglicht. Allein von dem Auftreten der Phagocytose kann nichts gefolgert werden in Bezug auf die Stoffe, welche die Keimvernichtung hervorrufen. Ebenso wenig kann man von dem Auftreten bezw. Ausbleiben der Granulabildung in dieser Hinsicht einige Schlußfolgerungen ziehen. Wenn die Phagocytose so rasch verläuft, daß schon in einer halben Stunde der allergrößte Teil der Bacillen von den Leukocyten aufgenommen worden ist, so kann von einer Granulabildung ganz natürlich nichts zu sehen sein, da bei virulenten Typhusbacillen diese regelmäßig längere Zeit in Anspruch nimmt. Werden dagegen die Bacillen langsam von den Phagocyten aufgenommen, wird die Granulabildung wohl nie vermißt. In meinen Versuchen war sie inzwischen öfters auffallend gering im Verhältnis zu den injizierten großen Bacillenmengen. Es liegt sehr nahe, anzunehmen, daß die gegen die Bakteriolysine am wenigsten widerstandsfähigen Bacillen als die am wenigsten virulenten von den Leukocyten am schnellsten aufgenommen werden.

Die Ergebnisse der vorstehenden Untersuchung können in folgende Punkte zusammengefaßt werden:

Es ist möglich, die von einem Tiere gewonnenen Leukocyten zu Versuchen über ihre Funktion bei einem anderen Tiere zu verwenden. Es ist nicht durchaus notwendig, daß die beiden Tiere derselben Art angehören.

Bei intraperitonealer Infektion des Meerschweinchens mit Typhusbacillen wird die größte Schutzwirkung durch das Zusammenwirken von Immunserum und Leukocyten erreicht.

Die Bakterienvernichtung ist der Wirkung der Serumbakteriolysine zuzuschreiben, auch wenn sie innerhalb der Phagocyten zu stande kommt.

Die Leukocyten des Meerschweinchens enthalten keine auf Typhusbacillen wirksamen bakteriziden Stoffe, scheinen auch der Fähigkeit, Komplement zu bilden, zu entbehren.

Durch die Aufnahme der Bakterien durch die Leukocyten werden die empfindlicheren Zellen des Körpers vor der Giftwirkung der Zerfallsprodukte derselben geschützt.

Das Immunserum enthält Substanzen, welche das Aufnehmen der Bakterien durch die Leukocyten in hohem Grade fördern.

Die Anwesenheit der Leukocyten in der Bauchhöhle scheint eine erhöhte Sekretion von Komplement bezw. Immunkörper und Komplement aus den Gefäßen zu veranlassen.

Literatur.

- 1) Ljunggren, Dtsche Zeitschr. f. Chir. Bd. XLVII. 1898.
- 2) Nakanishi, Münch. med. Wochenschr. 1899.
- 3) Wassermann, A., Feestschrift, Robert Koch gewidmet.
- 4) Friedberger, E. und Moreschi, C., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX.
- 5) Pettersson, Alfred, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII.
- 6) Wright and Douglas, The Lancet. 1904. Vol. II. p. 1138.
- 7) Pettersson, Alfred, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX.
- 8) Bail, O., Arch. f. Hyg. Bd. LII.
- 9) Hohe, E., Zeitschr. f. Heilk. 1904.

Nachdruck verboten.

Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik.

[Aus der I. deutschen medizinischen Klinik in Prag
(Vorstand: Hofrat Prof. Pribram).]

Von **Viktor Kafka.**

(Schluß.)

Der Einfachheit halber wollen wir zunächst von der Verdünnung des Serums sprechen. Sind größere Mengen desselben verfügbar, dann verdünnt man das Serum in gewünschtem Grade mit Hilfe von graduierten Pipetten; stehen dagegen nur geringe Mengen zu Gebote, dann wählt man die Tropfenverdünnung. Das erstere Verfahren ist ohne weiteres klar: man zieht bis zu einer bestimmten Marke der Pipette das Serum auf, bringt die abgemessene Menge in irgend ein Gläschen, wäscht die Pipette und setzt dann zu der vorher abgemessenen Menge von Serum je nach dem Grade der gewollten Verdünnung 9 Teile (= $\frac{1}{10}$ Verdünnung), 19 Teile (= $\frac{1}{20}$ Verdünnung) u. s. w. Wasser oder Kochsalzlösung hinzu. Auf ähnliche Weise bewirkt man die Verdünnung mittels der Tropfenmethode: mit Hilfe irgend einer beliebigen graduierten Pipette oder einer über einer Flamme ausgezogenen, kapillar endenden Glasröhre, was mit Rücksicht auf den geringen Serumbedarf noch am meisten zu empfehlen ist, bringt man bei senkrechter Haltung der Pipette einen Tropfen Serum in ein Gläschen, wäscht sie, da man mit derselben Pipette (in derselben Stellung) die Verdünnung vornehmen muß und setzt dann die nötige Anzahl Tropfen der Verdünnungsflüssigkeit hinzu. Ist nun das Serum verdünnt, so kann die Titrierung auf zweierlei Weise — wie oben dargestellt — erfolgen. Abfüllung von gleichen Kultur- und Diagnosticummengen und Zusatz abgestufter Mengen einer oder mehrerer Verdünnungen des Serums erlaubt eine Titrierung in nur sehr engen Grenzen; das zweite Verfahren — Zusatz einer Serumverdünnung in verschiedenen Mengen zu in gewissen Grenzen steigenden Kulturmengen — bietet nach der quantitativen Seite hin einen viel weiteren Spielraum und wird deshalb bei uns ausschließlich geübt.

Das wichtigste Instrument der heute in unserem Laboratorium geübten Agglutinationstechnik besteht in einer „Serumpipette“, die aus einer beliebigen, etwa 5 mm im Durchmesser haltenden Glasröhre dargestellt wird. Sie läuft kapillar aus und ist empirisch derart geeicht.

daß sie in $\frac{1}{2}$ ccm bei senkrechter Haltung genau 40 Tropfen faßt. Die Abfüllung der Kulturen oder Diagnostica wird mit einer 5 oder 10 ccm-Pipette vorgenommen. Wurden nun in je ein Standgläschen auf diese Weise $\frac{1}{2}$, 1 und $2\frac{1}{2}$ ccm abgefüllt und in jedes aus der „Serumpipette“ bei senkrechter Haltung je ein Tropfen zugesetzt, dann resultieren die Verdünnungen 1 : 40, 1 : 80 und 1 : 200. Auf diese Weise wird die erste Titrierung vorgenommen. Sind noch höhere Verdünnungen notwendig, dann wird je nach der Raschheit und Stärke der im ersten Versuche beobachteten Agglutination des Serums auf $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{40}$, $\frac{1}{100}$ u. s. w. verdünnt. Das so verdünnte Serum wird wieder mit der „Serumpipette“, die Kulturen resp. Diagnostica hingegen mit der gewöhnlichen graduierten 10 ccm-Pipette abgefüllt. Tabellen, die zu Ermittlungen des obersten Titre ausgerechnet sind, geben die Höhe der absoluten Verhältnisse für jede Serumverdünnung an. Zwecks völliger Klarstellung unserer Arbeitsweise soll hier beispielsweise das relative und absolute Verhältnis für drei verschieden starke Verdünnungen des Serums angeführt werden.

Für eine $\frac{1}{10}$ Verdünnung stellen sich die Werte:

8 Tropfen Serum :	0,5 ccm Kultur	= 1 :	50
4 " " :	0,5 " "	= 1 :	100
2 " " :	0,5 " "	= 1 :	200
1 " " :	0,5 " "	= 1 :	400
1 " " :	1,0 " "	= 1 :	800
1 " " :	1,5 " "	= 1 :	1200
1 " " :	2,0 " "	= 1 :	1600
1 " " :	2,5 " "	= 1 :	2000

Für eine $\frac{1}{40}$ Verdünnung:

8 Tropfen Serum :	0,5 ccm Kultur	= 1 :	200
4 " " :	0,5 " "	= 1 :	400
2 " " :	0,5 " "	= 1 :	800
1 " " :	0,5 " "	= 1 :	1600
1 " " :	1,0 " "	= 1 :	3200
1 " " :	1,5 " "	= 1 :	4800
1 " " :	2,0 " "	= 1 :	6400
1 " " :	2,5 " "	= 1 :	8000

Für eine $\frac{1}{100}$ Verdünnung:

4 Tropfen Serum :	0,5 ccm Kultur	= 1 :	1000
2 " " :	0,5 " "	= 1 :	2000
1 " " :	0,5 " "	= 1 :	4000
1 " " :	1,0 " "	= 1 :	8000
1 " " :	1,5 " "	= 1 :	12000
1 " " :	2,0 " "	= 1 :	16000
1 " " :	2,5 " "	= 1 :	20000
1 " " :	3,0 " "	= 1 :	24000
1 " " :	3,5 " "	= 1 :	28000
1 " " :	4,0 " "	= 1 :	32000
1 " " :	4,5 " "	= 1 :	36000
1 " " :	5,0 " "	= 1 :	40000

Mengen von mehr als 5 ccm Kultur werden aus oben genannten Gründen niemals abgefüllt; agglutiniert nämlich das Serum noch immer in der stärksten aufgestellten Verdünnung, dann wird zum Zwecke der Ermittlung des obersten Titers des Serums noch weiter je nach Bedarf auf $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{400}$, $\frac{1}{800}$, ja, wie es sich öfters bei tierischen Immunseris als nötig herausstellt, auf $\frac{1}{1000}$ verdünnt¹⁾.

1) Mit Rücksicht auf eventuelle Nachprüfungen sei hier erwähnt, daß alle in den letzten Jahren aus dieser Klinik hervorgegangenen, die Agglutination betreffenden Untersuchungen mit Hilfe der in dieser Publikation beschriebenen Technik ausgeführt wurden.

Zu der voranstehenden genauen Beschreibung unserer Agglutinationstechnik sei bemerkt, daß die Notwendigkeit nicht besteht, an jeder der angegebenen Einzelheiten festzuhalten. Bei Titrierung von hochwertigen Immunseris und manchen ebenso beschaffenen menschlichen Seris wird sich wohl kein Verfahren finden lassen, das einfacher, rascher und verlässlicher ist; für praktisch-diagnostische Zwecke hingegen läßt sich das Vorgehen, je nach der zur Verfügung stehenden Serummenge und den vorhandenen Behelfen, in verschiedener Weise vereinfachen. Besitzt man z. B. im ganzen nur wenige Tropfen Serum, dann ist es zweckmäßig, auf die Titration mit konzentriertem Serum von vornherein zu verzichten, die wenigen Tropfen auf $\frac{1}{10}$ zu verdünnen und die erste Untersuchung mit dieser Verdünnung vorzunehmen. Besitzt man für die Abfüllung der Diagnostica keine graduierten Pipetten, so läßt sich aus jeder beliebigen Glasröhre eine Pipette darstellen, die ein genaues quantitatives Arbeiten ermöglicht. Denn hat man bei seiner Pipette die Stelle ermittelt, bis zu welcher z. B. 50 Tropfen enthalten sind, so saugt man Kultur resp. Diagnosticum bis zu dieser Marke auf, welche Menge dann mit 1 Tropfen Serum die Verdünnung von 1 : 50 gibt; man kann 2mal, 4mal u. s. w. aufsaugen und so Verdünnungen von 1 : 100, 1 : 200 herstellen, oder, um sich die Arbeit zu vereinfachen, und wenn die Pipette groß genug ist, eicht man sie von Anfang auf 50, 100, 200 Tropfen. Da es ja auf genaues quantitatives Arbeiten ankommt und verschieden große Ausflußöffnungen verschieden große Tropfen erzeugen, ist es notwendig, daß das Serum mit derselben Pipette zugesetzt wird. Will man sich aber die Mühe ersparen, seine Pipette empirisch nach Tropfen zu eichen, so kann man sich auch mit graduierten Pipetten aushelfen. Man bestellt solche, deren Spitze möglichst fein ist und deren Skala möglichst weit unten beginnt, um den Serumverbrauch gering zu machen. Vor dem Gebrauch wird bis zur Marke 0 Wasser aufgezogen und man zählt bei senkrechter Haltung der Pipette, wie viele Tropfen sich im Kubikcentimeter befinden. Hat man nun z. B. die Anzahl von 30 Tropfen in 1 ccm gefunden, so kann man die gebräuchlichsten Verdünnungen 1 : 40, 1 : 80, 1 : 200 herstellen, indem man in das erste Gläschen $1\frac{1}{2}$ ccm abfüllt (45 Tropfen), in das zweite 3 ccm (90 Tropfen), in das dritte 6 ccm (180 Tropfen); für den Ausfall und die Bewertung der Reaktion ist bei einer Beobachtungszeit von 8 Stunden (lebende Kulturen) und einer solchen von ca. 18 Stunden (Diagnostica) von untergeordneter Bedeutung, ob 1 : 40 oder 1 : 45, 1 : 80 oder 1 : 90 genommen wurde. Jene Pipetten sind natürlich die geeignetsten, die in 1 ccm möglichst viele Tropfen enthalten. Der Einfachheit halber füllt man die Kulturflüssigkeiten nicht mit 1 ccm-, sondern 5 oder 10 ccm-Pipetten ab.

Nun wollen wir uns dem Beobachtungsmodus zuwenden. Anfangs traten die allermeisten Autoren, wie Widal¹⁾, Gruber²⁾, C. Fraenkel³⁾, Stern⁴⁾, Fischer⁵⁾ und Oordt⁶⁾ für die mikroskopische Untersuchungsweise ein, während nur Mesnil de Rochemont⁷⁾ sich voll für die makroskopische einsetzte. Die Anschauungen

- 1) Widal, l. c.
- 2) Gruber, l. c.
- 3) Fraenkel, l. c.
- 4) Stern, l. c.
- 5) Fischer, l. c.
- 6) Oordt, l. c.
- 7) Mesnil de Rochemont, l. c.

haben sich indessen gründlich geändert: im Laufe von sehr zahlreichen Untersuchungen hat man die Mängel der ursprünglich vorzugsweise geübten mikroskopischen Beobachtungsweise kennen gelernt und an ihre Stelle wurde fast allgemein die makroskopische gesetzt. Einzelne Autoren, wie Stern und seine Schüler¹⁾, ziehen bis auf den heutigen Tag die mikroskopische Untersuchung vor. Aus diesem Grunde erachten wir es für geboten, an dieser Stelle genauer auf die Vor- und Nachteile beider Beobachtungsweisen einzugehen.

Bei Beurteilung derselben kann in erster Linie nicht die Umständlichkeit der einen oder Einfachheit der anderen und ebensowenig die Anzahl der zur Ausführung nötigen Behelfe den Ausschlag geben. Bestimmend für die Wahl der einen oder anderen Beobachtungsweise kann sich nur die Verlässlichkeit der mittels der einen oder anderen erhaltenen Resultate gestalten. Als Maß der letzteren können unseres Erachtens nur folgende zwei Umstände angesehen werden: erstens die positive Reaktion an und für sich, zweitens die Höhe des Titers. Jene Methode, welche bei ein und demselben Serum bereits positive, und selbstverständlicherweise unbedingt verlässliche Agglutinationen zum Vorschein bringt, während eine andere noch negative Resultate liefert, ist selbstverständlich die bessere.

Es unterliegt nun keinem Zweifel, daß die mikroskopische Beobachtung in einer viel kürzeren Zeit positive Resultate bringen kann, als eine makroskopische oder Lupenbetrachtung. Dies wird man am ehesten wahrnehmen können, wenn die Beobachtungsdauer 2 Stunden nicht überschreitet, eine Tatsache, die natürlich der mikroskopischen Beobachtungsweise den unbedingten Vorrang einräumen würde — wenn sie nicht große Nachteile in sich schlösse. Bei Verlängerung der Beobachtungsdauer auf 8 Stunden gleicht sich nämlich der Unterschied, der zu Ungunsten der makroskopischen Beobachtung bei einer Beobachtungszeit von 2 Stunden besteht, bis auf einen sofort zu nennenden Fall vollkommen aus. Bis daher wären beide Methoden gleichwertig. Nur in einem Falle scheint die mikroskopische Beobachtung einen Vorteil zu bieten: wenn das Serum sehr geringe, bei makroskopischer Beobachtung durch 8 Stunden 1 Ag.-E. nicht erreichende Agglutinationskräfte besitzt. In diesem Falle können sich die beiden Parallelproben verschieden verhalten, indem die makroskopische sich negativ gestaltet, während die mikroskopische positiven Ausschlag zeigt. Nun ist aber in solchen Fällen auch im hängenden Tropfen die Reaktion nur partiell eingetreten; man findet dort eine nur geringe Anzahl von Häufchen neben zahlreichen einzelnen, mehr oder weniger beweglichen Bacillen. In diesem scheinbaren Vorteile birgt sich nun eine der wichtigsten Fehlerquellen der mikroskopischen Beobachtungsweise. Es gibt nämlich Bakterienstämme, die an und für sich bei längerem Stehen kleine Häufchen bilden. Das mikroskopische Bild ist dann von demjenigen einer „schwach positiven“ Reaktion nicht zu unterscheiden. Man könnte glauben, daß Kontrollpräparate gegen diese Fehlerquellen einen genügenden Schutz gewähren. Dies trifft aber aus dem Grunde nicht zu, weil Stämme, die bei längerem Stehen spontan Häufchen bilden, bereits unter Wirkung von normalem Serum eine starke Agglutination erleiden. Mikroskopische Präparate dieser Stämme ohne jeglichen Serumzusatz haben somit gar keinen Kontrollwert und solche, die mit einem anderen Normalserum beschickt wurden, nur einen ganz unsicheren, da

1) Korte und Steinberg, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 21.

sich in dieser Richtung verschiedene Normalsera verschieden verhalten: das betreffende Serum kann zufälligerweise — besonders wenn es eine geringe, makroskopisch noch nicht wahrnehmbare Beimengung von Gallebestandteilen enthält, wie es bei Sepsis oft der Fall ist — gerade ein stärker agglutinierendes Normalserum darstellen. Das Voranstehende wurde nicht einfach auf theoretischem Wege erschlossen, sondern nach einer Reihe von unangenehmen Ueberraschungen als Tatsache erkannt. — Wenn wir noch hinzufügen, daß die in Rede stehenden ganz geringen, am Schwellenwerte der Spezifität liegenden Agglutinationskräfte eines Serums nach früheren Auseinandersetzungen gar keine Beweiskraft für eine bestehende Erkrankung besitzen, so muß die mikroskopische Beobachtungsweise als reicher an Fehlerquellen und infolgedessen auch als weniger verläßlich bezeichnet werden.

Das zweite, die Leistungsfähigkeit einer Methode bestimmende Moment wurde in der Höhe des mittels derselben erreichbaren obersten Titers erblickt. Da es sich hierbei um vergleichende Untersuchung einiger Arten mit Hilfe derselben Methode handelt, ist dieser Umstand für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden belanglos.

Auch die Lupenvergrößerung ist bei längerer Beobachtungsdauer nicht notwendig, da im Laufe dieser Zeit die im Anfange kleinsten Flöckchen größer und nach Ablauf einer Anzahl von Stunden ohne Zuhilfenahme von Apparaten mit bloßem Auge sichtbar werden. Nachteilig, besonders bei starker Beleuchtung, wird die Lupenbetrachtung dadurch, daß feinste Stäubchen, die sich in der Bouillonkultur oft bilden und die mit Agglutination nichts zu tun haben, ein positives Resultat vortäuschen können, freilich gilt dies nicht für die Diagnostica, die klar und nur leicht opaleszierend erscheinen; doch können diese infolge des Gehaltes an Karbolsäure ohne weiteres durch 24 Stunden beobachtet werden, machen also die Lupenbetrachtung entbehrlich.

Aus allen diesen Gründen ist die makroskopische Beobachtungsweise als die einfachste, verläßlichste und sicherste zu betrachten. Hier entschließt man sich erst dann zur Annahme einer positiven Reaktion, wenn sie gröbere Formen: eine mit bloßem Auge wahrnehmbare, also unzweifelhafte Flockenbildung, angenommen hat. Freilich, würde man die Beobachtung auf die Dauer von 1—2 Stunden beschränken, so erhielte man oft dort negative Resultate, wo die mikroskopische Methode positive ergibt. Für eine kurze Beobachtungszeit liegt aber kein triftiger Grund vor; denn auch der scheinbare Vorteil einer Zeitersparnis ist nicht vorhanden; dem praktischen Arzt und auch dem Laboratoriumsforscher wird es eher möglich sein, seine Beobachtungen auf eine längere Zeit auszudehnen und jede Stunde oder alle zwei Stunden nachzusehen, als im Laufe einer Stunde alle zehn Minuten die Proben kontrollieren zu müssen. Berücksichtigt man noch, daß das quantitative Arbeiten heute Grundforderung ist, man also auch bei der Untersuchung im hängenden Tropfen vorher seine makroskopischen Verdünnungen herstellen muß, dann erscheint es einleuchtend, daß der mikroskopischen Methode heute unbedingt die makroskopische vorzuziehen ist. Tatsächlich bedient sich auch heute die überwiegende Mehrzahl der besteinrichtungen, also alle technischen Behelfe für eine mikroskopische Untersuchung reichlich besitzenden Laboratorien der ersteren. Für den praktischen Arzt aber ist die makroskopische Beobachtung um so mehr zu

empfehlen, als sie keine besonderen Apparate und kein Mikroskop verlangt, dabei aber — wie oben ausgeführt — einwandfreie Resultate liefert und subjektive Fehlerquellen ausschließt. Es erübrigt noch, hinzuzufügen, daß man selbstverständlicherweise auch bei der makroskopischen Arbeitsmethode Kontrollgläser von womöglich denselben Dimensionen, wie sie die Versuchsgläser aufweisen, aufzustellen hat.

Was die Beobachtungsdauer selbst anbelangt, finden wir in der Literatur sehr differente Angaben. Sie richten sich vor allem danach, ob die Beobachtung mikroskopisch oder makroskopisch erfolgt. Für die erstere Beobachtung gilt wohl die Angabe von 2 Stunden als Maximum, sie wird empfohlen von Fischer¹⁾, Koelzer²⁾, Stern³⁾, Proescher⁴⁾, von denen einzelne schon nach 1 Stunde die Untersuchung abschließen. Eine noch kürzere Zeit der Beobachtung wurde oder wird noch geübt von Widal⁵⁾, Grünbaum⁶⁾, Bensaude⁷⁾, Gruber⁸⁾, Mesnil de Rochemont⁹⁾, C. Fraenkel¹⁰⁾ und Kolle¹¹⁾. Für die makroskopische Reaktion werden 24 Stunden von den meisten als Grenze der Beobachtung gesetzt, so von Widal⁵⁾, Bensaude⁷⁾, Haedke¹²⁾, während Breuer¹³⁾ maximal 12 Stunden, C. Fraenkel¹⁰⁾ 12—14 Stunden, Scheffer¹⁴⁾ 14—18 Stunden und Zupnik¹⁵⁾ 8 Stunden beobachtet. Zu diesen Angaben muß bemerkt werden: eine Beobachtungszeit von wenigen, z. B. 2—3, Stunden ist deswegen von Nachteil, weil bei Ausdehnung der Beobachtungszeit um einige weitere Stunden sich ein positives Resultat ergeben kann und dasselbe Serum in dem einen Falle ein negatives, im anderen ein positives Resultat liefert. Für lebende Kulturen können wir mehr als 8 Stunden Beobachtungsdauer nicht zugeben, weil es bei nicht sterilem Arbeiten nach Ablauf dieser Zeit zu einer Entwicklung der sekundär hineingeratenen Keime und infolgedessen zu einer neuen, feine Flöckchen der positiven Reaktion verdeckenden Trübung kommen kann. Für die Diagnostica kann die Zeit der Beobachtung auf 24 Stunden ausgedehnt werden.

Dem Einfluß der Temperatur auf den Verlauf der Reaktion hat man seit jeher Aufmerksamkeit geschenkt. Widal¹⁶⁾ empfahl 37⁰, ihm schließen sich u. a. an Gruber¹⁷⁾, Mesnil, de Rochemont¹⁸⁾, Proescher¹⁹⁾, Stern²⁰⁾, Kolle²¹⁾, Scheffer²²⁾,

- 1) Fischer, l. c.
- 2) Koelzer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 75.
- 3) Stern, l. c.
- 4) Proescher, l. c.
- 5) Widal, l. c.
- 6) Grünbaum, l. c.
- 7) Bensaude, l. c.
- 8) Gruber, l. c.
- 9) Mesnil de Rochemont, l. c.
- 10) Fraenkel, l. c.
- 11) Kolle, l. c.
- 12) Haedke, l. c.
- 13) Breuer, Berl. klin. Wochenschr. 1897. No. 47/48.
- 14) Scheffer, *ibid.* p. 224.
- 15) Zupnik, Zeitschr. f. Heilk. 1901.
- 16) Widal, l. c.
- 17) Gruber, l. c.
- 18) Mesnil de Rochemont, l. c.
- 19) Proescher, l. c.
- 20) Stern, l. c.
- 21) Kolle, l. c.
- 22) Scheffer, l. c.

Laubenheimer¹⁾, Stäubli²⁾. — Breuer³⁾, Haedke⁴⁾, Pfuhl⁵⁾, Fischer⁶⁾, Libman⁷⁾, Rostoski⁸⁾ lassen die Reaktion bei Zimmertemperatur vornehmen. Diese Frage hat größeres Interesse gewonnen, da in jüngster Zeit Weil⁹⁾ die Temperatur von 55° als Optimum für den Verlauf der Reaktion sowohl für lebende Kulturen als auch für das Fickersche Diagnosticum angab, was durch die Mitteilung von Stadler¹⁰⁾ bestätigt wurde. Weil gab ferner an, daß eine Vorwärmung der Bakterien auf 55° die Reaktion in Bezug auf Schnelligkeit und Deutlichkeit günstig beeinflusse. Diese Angaben machten wir zum Gegenstand ausgedehnter Untersuchungen. Die letzteren gingen dahin, lebende Kulturen verschiedener Bakterienarten und die drei Diagnostica in verschiedenen Verdünnungen der Wirkung von Blutserum Typhus- und Paratyphuskranker auszusetzen und gleichwertige Proben in drei Temperaturen reagieren zu lassen: bei Zimmertemperatur. Brutwärme (37°) und 55°. Zur Zimmertemperatur sei bemerkt, daß es in unserem Laboratorium üblich ist, im Winter bei größeren Agglutinationen der Zimmer höher zu temperieren, so daß die Temperatur an solchen Tagen ca. 22° C beträgt.

Der Mitteilung der erhaltenen Resultate schicken wir die Bemerkung voraus, daß bei Beurteilung der praktischen Leistungsfähigkeit verschiedener Temperaturen dieselben oben angeführten Kriterien geltend zu machen sein werden. Demnach wird jene Temperatur eine größere diagnostische Leistungsfähigkeit besitzen, welche erstens unter sonst gleichen Bedingungen eine in Bezug auf die Krankheitsdauer zeitlich frühere Reaktion hervorrufen und zweitens höhere Werte als obersten Titer erzeugen wird; das erste Moment würde es eventuell ermöglichen, die Art der Erkrankung um einige Tage früher zu ermitteln, das zweite könnte bei sonst gleich hohem Titer desselben Serums für zwei verschiedene Arten der Typhusgattung eine sichere Differentialdiagnose bringen.

Die Technik unserer Untersuchungen gestaltete sich folgendermaßen: Die nötigen Quantitäten der Bakterienkultur resp. des Diagnostikums wurden in drei Parallelreihen in gleich breite Gläschen (diesmal schmale Eprouvetten) abgefüllt und zu allen mittels derselben „Serumpipette“ das konzentrierte Serum resp. eine Verdünnung desselben zugesetzt. Nach dem Serumzusatz wurde jede Probe, in der bei uns üblichen Weise absteigend, gründlich geschüttelt und sofort danach in bereitstehende, mit entsprechend vorgewärmtem Wasser (37° und 55° C) zum Teil gefüllte Bechergläser gebracht. Die für die Zimmertemperatur bestimmte Reihe wurde auf dem Arbeitstische belassen, die zweite wurde in den Brutschrank und die dritte in ein großes, zuvor auf 55° temperiertes Wasserbad gestellt. Die Untersuchung jeder einzelnen Probe

1) Laubenheimer, l. c.

2) Stäubli, l. c.

3) Breuer, l. c.

4) Haedke, l. c.

5) Pfuhl, l. c.

6) Fischer, l. c.

7) Libman, Remarks upon some experiences with the Widal reaction. (Med. News. 1902. March.)

8) Rostoski, l. c.

9) Weil, Ueber den Einfluß der Temperatur auf spezifische und nicht spezifische Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVI. Heft 5 u. Bd. XXXVII. Heft 1.)

10) Berl. klin. Wochenschr. 1904.

erfolgte nach einer halben, dann nach einer, nach zwei, nach vier, fünf und schließlich nach acht Stunden. In jenen Fällen, in welchen vorerwärmte Kultur oder vorerwärmtes Diagnostikum zur Untersuchung kam, wurde die betreffende bakterienhaltige Flüssigkeit Tags zuvor durch 3—5 Stunden bei 55° gehalten.

Untersucht wurden auf diese Weise drei menschliche Typhus- und Paratyphussera; von Bakterien wurden geprüft lebende Kulturen der Eberth'schen, Schottmüller'schen und Brion-Kayser'schen Bacillen und die drei Fickerschen Diagnostika.

Das erhaltene Resultat ist bei jedem Falle tabellarisch angeführt.

Tabelle I¹⁾.
Typhusserum: Welechovsky.

Verdünnung	Stamm Hromadko			Coleman und Buxton		
	Zimmert.	37°	55°	Zimmert.	37°	55°
	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.
1: 50	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
1: 100	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	1
1: 200	1	1	$\frac{1}{2}$	3	1	⊕
1: 400	3	3	⊕	5	8	⊕
1: 800	8	8	⊕	8	8	⊕
1: 1200	⊕	8	⊕	⊕	⊕	⊕

Das erste Typhusserum Welechovsky (siehe Tabelle I) entstammte einem im Beginne befindlichen Typhusfall, bei dem die Agglutination verhältnismäßig noch geringe Werte aufwies. Wir ließen dasselbe mit lebenden 18-stündigen Bouillonkulturen, Stamm Hromadko und Coleman und Buxton²⁾, zusammentreten. Die Tabelle zeigt nun, daß bei allen drei Temperaturen beide Stämme bereits nach kurzer Zeit ($\frac{1}{2}$ Stunde) agglutiniert wurden; während alle Proben nach Verlauf diese Zeit bis 1:100 positive Agglutination aufweisen, erreicht Coleman und Buxton bei 55° diesen Titre erst nach einer Stunde. Im weiteren Verlaufe zeigen sich bedeutende Differenzen, indem die bei 55° eingestellten Proben in dem einen Falle nur bis 1:200, im anderen nur bis 1:100 agglutiniert werden, während bei 37° der Stamm Hromadko in unserer Beobachtungszeit den obersten Titre von 1:1200 erreicht, die anderen Proben aber auf gleicher Stufe (1:800) bleiben. Das Serum, das hier zur Untersuchung gelangte, war auf das Zehnfache verdünnt.

Das Typhusserum Leidl (siehe Tabelle II) war von einem Rekonvaleszenten gewonnen. Wir ließen es auf die beiden Stämme Hromadko und Coleman und Buxton sowie auf das Typhusdiagnostikum Ficker (letzteres auch vorerwärmt) einwirken. Ein Blick auf die Tabelle lehrt, daß die lebenden Bakterien in allen Proben schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde bis 1:200 agglutiniert wurden, daß aber bei 55° der Stamm Hromadko in der Verdünnung von 1:800, der Stamm Coleman und Buxton sogar bei 1:400 nicht mehr reagierte. Im Bruttofen erreichte Hromadko denselben Titer wie bei Zimmertemperatur, Coleman und Buxton blieb bei 37° in der Agglutination gegen

1) Die in den Tabellen angeführten Stundenzahlen geben den Zeitpunkt des Auftretens der positiven Reaktion an. Null (⊕) bedeutet: auch nach 8 (lebende Bac.) bzw. 24 Stunden (Diagnostika) negativ.

2) Dieser Stamm wurde als Paratyphuserreger angesehen und hat sich im Laufe unserer weiteren Untersuchungen als Eberth'scher Bacillus entpuppt.

Tabelle II.
Typhusserum: Leidl.

Stämme	Hromadko			Coleman und Buxton			Typhusdiagnostikum Ficker						
	nicht vorerwärmt			vor erwärmt			nicht vorerwärmt			vor erwärmt			
Verdünnung	Zimmer-temperat.	37°	55°	Zimmer-temperat.	37°	55°	Verdünnung	Zimmer-temperat.	37°	55°	Zimmer-temperat.	37°	55°
	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.		Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.
1: 100	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1: 50	2	1/3	1/2	19	5	+
1: 200	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1: 100	3	1	1	+	8	+
1: 400	1/2	1/2	1	1/2	1/2	+	1: 200	8	3	+	+	+	+
1: 800	1	5	+	3	+	+	1: 400	+	5	+	+	+	+
1: 1600	8	8	+	8	+	+	1: 800	+	+	+	+	+	+
1: 2400	+	+	+	+	+	+							
1: 3200	+	+	+	+	+	+							

Zimmertemperatur zurück. Das nicht vorerwärmte Diagnostikum (vom vorerwärmten soll später die Rede sein) wird bei 55° bis 1: 100 agglutiniert und erreicht im Brutofen den höchsten Titer, während der bei Zimmertemperatur noch den bei 55° übertrifft. Das Serum war hier auf das Zwanzigfache verdünnt.

Tabelle III.
Typhusserum: Garnisonspital.

Typhusdiagnostikum nicht vorerwärmt						Typhusdiagnostikum vorerw.						Paratyphusdiagnostikum A nicht vorerwärmt						Paratyphusdiagnostikum A vorerw.						Paratyphusdiagnostikum B nicht vorerw.						Paratyphusdiagnostikum B vorerw.					
Verdünnung	Zimmer-temperat.	37°	55°	Zimmer-temperat.	37°	55°	Verdünnung	Zimmer-temperat.	37°	55°	Zimmer-temperat.	37°	55°	Verdünnung	Zimmer-temperat.	37°	55°	Zimmer-temperat.	37°	55°	Verdünnung	Zimmer-temperat.	37°	55°	Verdünnung	Zimmer-temperat.	37°	55°							
	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.		Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.		Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.		Std.	Std.	Std.		Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.			
1: 200	1/2	1/2	1/2	+	+	+	1: 50	+	5	+	+	19	+	5	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
1: 400	1/2	1/2	1/2	+	+	+	1: 100	+	+	+	+	+	+	+	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
1: 800	1	1/2	1/2	+	+	+	1: 200	+	+	+	+	+	+	+	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
1: 1600	5	1/2	+	+	+	+	1: 400	+	+	+	+	+	+	+	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
1: 3200	5	2	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—							
1: 4800	8	19	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—							

Das Typhusserum „Garnisonspital“ (siehe Tabelle III) entstammt dem Blute eines Kranken, der einige Tage vor der Blutentnahme bereits fieberfrei war. Geprüft wurde dieses Serum mit dem Typhusdiagnostikum Ficker sowie den beiden Paratyphusdiagnostica. Betrachten wir vor allem in der Tabelle das nicht vorerwärmte Typhusdiagnostikum, so finden wir, daß nach einer halben Stunde die Agglutination bei allen drei Proben bereits eingetreten ist; innerhalb dieser Zeit erreicht die bei 55° gehaltene Probe 1: 800, weist aber bei späterer Beobachtung keinen höheren Titer mehr auf, während dieser im Brutofen und bei Zimmertemperatur bis zu 1: 4800 steigt. Die nicht vorerwärmten Paratyphusdiagnostika zeigen in diesem Falle bei 55° überhaupt keine Agglutination, bei 37° C wird das Diagnostikum A bis zu 1: 50 und das Diagnostikum B bis zu 1: 400 agglutiniert. Das Serum war für das Typhusdiagnostikum Ficker auf das Vierzigfache, für die Paratyphusdiagnostika auf das Zehnfache verdünnt.

Tabelle IV.
Paratyphusserum: Žaba.

Paratyphusdiagnostikum B				Typhusdiagnostikum				Paratyphusdiagnostikum A			
Verdünnung	Zimmer-temp.		37°	55°	Verdünnung	Zimmer-temp.		37°	55°	Zimmer-temp.	
	Std.	Std.				Std.	Std.			Std.	Std.
1: 10 000	4	4	1		1: 50	5	5	θ	5	5	θ
1: 20 000	7	4	1		1: 100	7	7	θ	5	5	θ
1: 40 000	7	7	θ		1: 200	θ	7	θ	7	7	θ
1: 80 000	8	7	θ		1: 400	θ	7	θ	θ	θ	θ
1: 120 000	8	8	θ		1: 800	θ	7	θ	θ	θ	θ
1: 160 000	θ	22	θ		—	—	—	—	—	—	—
1: 200 000	θ	22	θ		—	—	—	—	—	—	—

Das Paratyphusserum Žaba (siehe Tabelle IV) wurde mit den drei Diagnosticis zusammengebracht. Die Tabelle zeigt, daß die Reaktion des Paratyphusdiagnostikums „B“ bei 55° schon nach einer Stunde bis zu 1 : 20 000 erfolgte, während die beiden anderen gleichwertigen Proben noch negativ waren. In diesen beiden Parallelreihen stellte sich die Reaktion später ein, erreichte aber positive Werte bis 1 : 200 000 (in 37° C), während der oberste, bei 55° C erreichbare Titer kaum $\frac{1}{10}$ dieses Wertes betrug. Das Paratyphusdiagnostikum A und das Typhusdiagnostikum zeigt bei 55° keinerlei Agglutination, in beiden anderen Temperaturen hingegen positive Werte bis zu 1 : 200 („A“) und 1 : 800 (Typhusdiagnostikum). Das Serum war zur Reaktion mit dem Paratyphusdiagnostikum B auf das Tausendfache, mit den beiden anderen Diagnosticis auf das Zehnfache verdünnt.

Tabelle V.
Paratyphusserum: Svoboda.

Paratyphusdiagnostikum B						Paratyphusdiagnostikum A				Typhusdiagnostikum				
nicht vorerwärmt			vorerwärmt			—		—		—		—		
Verdünnung	Zimmer-temp.		37°	55°	Zimmer-temp.		Verdünnung	Zimmer-temp.		Verdünnung	Zimmer-temp.			
	Std.	Std.			Std.	Std.		Std.	Std.					
1: 800	4	4	θ	θ	θ	θ	1: 40	4	2	θ	1: 40	θ	θ	θ
1: 1 600	4	4	θ	θ	θ	θ	1: 80	θ	θ	θ	1: 80	θ	θ	θ
1: 3 200	4	4	θ	θ	θ	θ	1: 200	θ	θ	θ	1: 200	θ	θ	θ
1: 6 400	4	4	θ	θ	θ	θ	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 4 600	θ	θ	θ	θ	θ	θ	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 12 800	θ	θ	θ	θ	θ	θ	—	—	—	—	—	—	—	—

Das Paratyphusserum Svoboda (siehe Tabelle V) wurde mit den drei Diagnosticis geprüft. Das nicht vorerwärmte Paratyphusdiagnostikum B wurde bei 55° überhaupt nicht agglutiniert, während bei 37° und Zimmertemperatur positive Werte bis zu 1 : 6 400 erreicht wurden. Das Paratyphusdiagnostikum A zeigte im Brutofen und bei Zimmertemperatur geringe Agglutination, das Typhusdiagnostikum überhaupt keine. Das Serum wurde für das Paratyphusdiagnostikum B auf das Fünzigfache verdünnt und zu den beiden anderen Diagnosticis unverdünnt zugesetzt.

Tabelle VI.
Paratyphusserum: Lahodna.

Paratyphusdiagnostikum B						
nicht vorerwärmt				vorerwärmt		
Verdünnung	Zimmer- temperatur	37°	55°	Zimmer- temperatur	37°	55°
	Std.	Std.			Std.	
1: 1 000	1	1/2	⊕	⊕	8	⊕
1: 2 000	2	1	⊕	⊕	⊕	⊕
1: 4 000	6	6	⊕	⊕	⊕	⊕
1: 8 000	6	6	⊕	⊕	⊕	⊕
1: 12 000	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
1: 16 000	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
1: 20 000	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕

Das Paratyphusserum Lahodna (siehe Tabelle VI) ließen wir nur auf das Paratyphusdiagnostikum B einwirken. Das nicht erwärmte zeigte bei 55° C überhaupt keine Agglutination; bei 37° C trat die Reaktion am schnellsten ein, die Höhe des Titers stellt sich bei beiden niedrigeren Temperaturen gleich. Das Serum war auf das Hundertfache verdünnt.

Betrachten wir die tabellarisch angeführten Resultate im Zusammenhang, so ist es sofort auffallend, daß die Reaktion bei 55° nur dann eintritt, wenn die Serumwirkung eine so starke ist, daß sie auch bei 37° und 18° schon nach 1/2 oder 1 Stunde auftritt. Dieses Resultat haben wir mit Ausnahme des auf Tabelle IV verzeichneten überall erhalten.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen ist also folgendes: In einer Temperatur von 55° C tritt die Agglutination nur bei kräftig wirkenden Seris auf; der oberste Titre stellt sich auch bei solchen Seris niedriger als in der Brüt- oder Zimmertemperatur. Stellt sich die Reaktion bei 55° C ein, dann tritt sie explosionsartig und mit großer Deutlichkeit auf. Der Umstand, daß die Reaktion nur in starken Konzentrationen — hier freilich schnell und klar — auftrat, so daß es nur kurzer Zeit bedurfte, um ein positives Ergebnis zu erhalten, brachte uns auf den Gedanken, daß bei den anderen Proben, die bei ihrer schwächeren Konzentration einer längeren Reaktionszeit bedurften, die längere Einwirkung der Temperatur von 55° schädliche Wirkung entfaltet. Um diese zu prüfen, haben wir in einer Reihe von Versuchen (Tabelle II, III, V, VI) die eine oder die andere der diagnostischen Flüssigkeiten vor dem Serumzusatz durch mehrere Stunden einer Temperatur von 55° C ausgesetzt und nachher Parallelreihen von erwärmter und nicht erhitzter Flüssigkeit mit demselben Serum beschickt. Wie die Tabellen zeigen, erhielten wir mit den vorerwärmten Diagnosticis überall sehr ungünstige Resultate, woraus die schädliche Einwirkung der Temperatur von 55° bei längerer Dauer erwiesen erscheint. Weil hat zu seinen Versuchen Sera genommen, die schon nach 15 Minuten stark agglutinierten, und hat nicht länger als 2 Stunden beobachtet. Auch wir haben innerhalb solcher kurzer Zeiten deutliche und rasche Agglutination gesehen. Aber bei länger dauernder Beobachtung nicht so hochwertiger Sera zeigten sich die in praktischer Beziehung so ungemein wichtigen Nachteile dieser Temperatureinwirkung deutlich und in allen Versuchen völlig übereinstimmend.

So dürfte nach unseren Untersuchungen die Temperatur des Brutofens (37 °) das Optimum für den Verlauf der Reaktion sowohl nach der qualitativen wie quantitativen Richtung darstellen; hier tritt die Agglutination nicht nur früh ein, sondern erreicht auch die höchsten Werte. Wie die Tabellen zeigen, sind jedoch die Differenzen zwischen dieser und der Zimmertemperatur so wenig ausschlaggebend, daß man die Agglutination bei Zimmertemperatur als völlig verlässlich und leistungsfähig, bedeutend leistungsfähiger jedenfalls als bei 55 ° C, bezeichnen muß.

Die Angabe von Asakava¹⁾, wonach sich durch das Gefrierenlassen der Proben der oberste Titer sofort nach dem Auftauen ermitteln läßt, haben wir keiner Nachprüfung unterzogen, weil man unter praktischen Verhältnissen auf diese Methode infolge ihrer großen Umständlichkeit schon von vornherein wird verzichten müssen.

Wir wollen noch kurz den Einfluß der Bewegung auf den Verlauf der Agglutinationsreaktion besprechen. Zu dieser Untersuchung sind wir durch jene Angaben bestimmt worden, welche Medizinalbeamten die Ausführung der Reaktion unterwegs empfehlen. Gelegenheitlich mancher Beobachtungen im Verlaufe unserer Untersuchungen hatten wir Grund anzunehmen, daß die permanente Bewegung die Agglutination schädige, indem sie die sich bildenden Flocken zerschüttelt. Zur experimentellen Prüfung dieser Einwirkung wurden zwei Parallelreihen derselben lebenden Kultur bezw. Diagnostikums abgefüllt, zu beiden dasselbe Serum resp. dieselbe Serumverdünnung zugesetzt und nachdem jede Probe für sich gründlich gemischt wurde, eine Reihe auf dem Tische belassen und die andere in einen Schüttelapparat, der durch einen Heißluftmotor gelind geschüttelt wurde, gebracht. Die Beobachtung der Proben erfolgte nach 1/2, 1 Stunde u. s. w. bis 8 Stunden. Die Resultate, die wir hier erhielten, sind in Tabelle VII zur Anschauung gebracht. Das erste Serum stellt ein Kaninchenimmenserum dar, das durch Injektionen des Fleischvergiftungsbacillus „Kaensche“ erzeugt wurde, das zweite entstammt einem Paratyphuskranken (der Schottmüllerschen Art) Namens „Winterblum“.

Tabelle VII.

Serum Kaensche 1/100			Serum Winterblum 1/20		
Bacillus Kaensche			Paratyphusdiagnostikum B		
Verdünnung	in Ruhe	im Schütteln	Verdünnung	in Ruhe	im Schütteln
1: 400	3 Stunden	1 Stunde	1: 100	4 Stunden	∅
1: 1000	3 "	1 "	1: 200	4 "	∅
1: 2000	3 "	1 "	1: 400	4 "	∅
1: 4000	3 "	3 Stunden	1: 800	4 "	∅
1: 8000	3 "	∅	1: 1600	4 "	∅
1: 12000	5 "	∅	1: 2400	4 "	∅
1: 16000	∅	∅	1: 3600	4 "	∅
1: 20000	∅	∅	1: 4000	4 "	4 Stunden
—	—	—	1: 4800	4 "	4 "

Bei Betrachtung dieser kleinen Tabelle hat es den Anschein, als ständen die bei beiden Versuchen erhaltenen Resultate in unlösbarem Widerspruche zueinander. Einmal deshalb, weil beim Serum Kaensche

1) Asakava, Ueber das Wesen der Agglutination und eine neue Methode, die Agglutination schnell zu beobachten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903. p. 93.)

die geschüttelten Proben rascher agglutiniert wurden, andererseits aus dem Grunde, weil beim zweiten Versuche gerade die letzten zwei Röhrchen, welche die stärkste Verdünnung enthielten, Agglutination zeigten. Demgegenüber ist zu bemerken, daß die schädliche oder fördernde Einwirkung der Bewegung in markanter Weise nur bei starker Verdünnung in Erscheinung treten kann. Agglutiniert ein Serum z. B. im Verhältnis von 1 : 200 000, so wird selbstverständlich die Verdünnung 1 : 40, ob bewegt oder in Ruhe, positive Agglutination zeigen. Nun haben wir aber in dieser Beziehung, d. h. bei Prüfung der Sera im Bereiche der Grenzzone ihrer Wirksamkeit, in beiden Versuchen ein übereinstimmendes Resultat, indem beim Serum Kaensche die zwei letzten Proben im Schüttelapparate überhaupt nicht agglutiniert wurden und beim zweiten Serum sich alle Proben, bis auf die sofort zu besprechenden beiden letzten, negativ verhielten. Bei Betrachtung dieser letzterwähnten zwei Proben ließen sich deutlich zwei Schichten unterscheiden. eine obere, die bis zum Abbruch des Versuches gleichmäßig trüb verblieb, und eine untere, die klar war und zahlreiche Flocken zeigte. Da diese beiden Proben die größte Flüssigkeitsquantität enthalten haben, war nur die obere Schicht (die trübe) in stärkerer Bewegung, während die untere in relativer Ruhe verharrte. So erklärt sich diese auffallende Erscheinung. Die Tatsache aber, daß die in Bewegung befindlichen Proben des ersten Versuches früher Agglutination zeigten als die ruhenden, beweist noch nichts für die größere Leistungsfähigkeit der Bewegung für die Agglutination, indem hier die Reaktion nur in starken Konzentrationen früher auftrat, welches Resultat durch die gelinde Erwärmung beim Reiben während der Bewegung oder dadurch, daß die hierzu benutzten Eprouvetten schmaler waren als die Standgläschen, und demzufolge rascher feine Flocken erkennen ließen, herbeigeführt worden sein konnte.

Mithin glauben wir aus dem Voranstehenden schließen zu dürfen, daß die Bewegung in allen jenen Fällen, in welchen das Serum an und für sich schwach agglutiniert — wenn z. B. der oberste Titre nur wenige Agglutinationseinheiten beträgt, auf den Verlauf der Reaktion hemmend wirkt.

Zum Schlusse sei kurz zusammengefaßt, wie sich nach dem Voranstehenden die Methodik der Agglutination, besonders für den praktischen Arzt am zweckmäßigsten gestaltet.

Es wird mit einem mehrere Millimeter breiten Skalpell ein Einschnitt in die Fingerbeere gemacht und es werden ungefähr 2 ccm Blut in einem nicht sterilen Gefäße von ca. 1 cm Durchmesser gesammelt. Das Koagulum wird nach 1—2 Stunden mit einem reinen Instrument von der Wand gelöst und das abgeschiedene Serum klar abgesehen bzw. zentrifugiert. Die drei Diagnostika werden in kleine, womöglich entsprechend geeichte Standgläschen in Mengen von $\frac{1}{2}$, 1 und $2\frac{1}{2}$ ccm abgefüllt. Dann setzt man mit der „Serumpipette“, deren Tropfengehalt im Kubikcentimeter man kennt, je einen Tropfen Serum zu den abgefüllten Flüssigkeitsmengen zu. Jede Probe wird durch dreimaliges Umkippen gründlich gemischt. Die Beobachtung kann auf 24 Stunden ausgedehnt werden. Zeigen innerhalb dieser Zeit alle drei oder zwei Diagnostika in den höchsten aufgestellten Verdünnungen (1 : 200) positive Reaktionen, so verdünnt man das Serum entsprechend mit physiologischer Kochsalzlösung und titriert nach oben, bis ein Diagnostikum die anderen in Höhe der Titrewerte übertrifft. Die Diagnosesstellung

erfolgt nach den in der letzten Publikation von Zupnik¹⁾ dargelegten Prinzipien.

Es ist klar, daß man zur Ausführung dieser Reaktion, die eine ätiologische Diagnosestellung sichert, mit den einfachsten Mitteln auskommt. Von vielen Seiten wurden für den praktischen Arzt Instrumentarien angegeben, unter anderen in jüngster Zeit von Martineck²⁾, welche es dem praktischen Arzte oder Medizinalbeamten ermöglichen sollen, alles bei der Hand zu haben und jederzeit, ja sogar unterwegs, die Reaktion vornehmen zu können.

Nun ist aber das Arbeiten mit den drei Diagnosticis, will man eine sichere Diagnose gewinnen, unbedingt notwendig, und in einer kleinen Schachtel lassen sich alle drei mit den nötigen Utensilien wohl nicht gut unterbringen; eine Besichtigung der Proben unterwegs, z. B. auf einer Eisenbahnfahrt, ist, schon von den Schwierigkeiten abgesehen, welche das Mitführen von mindestens 9 Einzelproben verursacht, vor allem aus dem Grunde nicht zu empfehlen, weil die Bewegung der Proben die Wirksamkeit schwacher Sera aufhebt. Im übrigen liegt aber überhaupt kein zwingender Grund vor, solche Maßnahmen während einer Reise zur schnellen Ausführung der Reaktion zu treffen. Denn der Typhus ist eine Erkrankung, bei deren richtiger Diagnose es in der Praxis nicht auf Stunden ankommt. Zeigt doch die größte Anzahl der Kranken in der ersten Krankheitswoche keine Agglutinationsreaktion, und es ist bei einer großen Anzahl von Fällen das Resultat auch in der zweiten Woche noch negativ; die Krankheit selbst stellt keine exquisit von Person auf Person übertragbare Seuche, wie es z. B. Pest, Rotz u. a. sind, dar; ein *periculum in mora* ist demnach, wenn dieser Aufschub in der Diagnosestellung nur Stunden beträgt, nicht vorhanden; des weiteren schreitet der Arzt erst dann zur Ausführung der Agglutination, wenn er Verdacht auf Typhus geschöpft hat; und dieser Verdacht wird ihn in der Behandlung weiter leiten müssen, auch wenn die Reaktion negativ ausfällt. Hat man also in einem verdächtigen Falle nur für eine richtige Behandlung der infektiösen Fäkalmassen und des Harns Sorge getragen, so wird die Sicherung der Diagnose durch die Agglutinationsreaktion in aller Ruhe und mit ruhigem Gewissen im Zimmer oder Laboratorium vorgenommen werden können. Die Verzögerung des Resultats um einen Tag oder Stunden wird keinen Schaden bringen.

Zum Schlusse gestatte ich mir, meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Hofrat Prof. Pribram, für die Unterstützung und Anregung bei der Abfassung dieser Arbeit, sowie für die gütige Ueberlassung des Materials meinen innigsten Dank auszusprechen.

1) Ueber die differential-diagnostische Bedeutung des Agglutinationstiter für Typhus und Paratyphen. (Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 44.)

2) Martineck, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 15.

Nachdruck verboten.

Ueber die Phänomene der Agglutination der Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institute der k. Universität zu Pisa
(Direktor: Prof. A. Di Vestea).]

Von Dr. Gino de' Rossi, Assistenten und Privatdozenten.

§ 1. Einleitung und Zweck der Arbeit.

In meiner ersten, über dasselbe Argument in diesem Blatte erschienenen Arbeit¹⁾ konnte ich über die von den Bakteriengeißeln bei der Agglutination gespielte Rolle folgende Tatsachen feststellen:

1) Die durch spezifische Sera verursachte Agglutination der beweglichen Bakterien wird durch keine Veränderung der Form, Anzahl oder Anordnung der Geißeln bezeichnet, welche die uns zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden beweisen können²⁾.

2) Im Serum von Versuchstieren kann man Agglutinine erhalten durch Inokulation der Geißeln allein (von den übrigen Teilen der Bakterienzellen isoliert) sowie auch durch Inokulation der geißellosen Bakterien.

3) Welches auch die Methode sei, die für die Agglutininproduktion angewendet wird (Injektion mit unversehrten Bakterien, oder mit Geißeln allein, oder mit geißellosen Bakterien), ihre Fixierung durch die Geißeln ist viel energischer als die Fixierung durch den Bakterienkörper.

4) Daher ist zu schließen, daß der ersichtliche Parallelismus zwischen Beweglichkeit und Agglutinierbarkeit der Bakterien der besonderen agglutininfixierenden Fähigkeit der Geißeln zuzuschreiben ist.

Diese Schlußfolgerungen wurden durch andere Untersuchungen bestätigt³⁾, durch welche ich beweisen konnte, wie die Geißeln des Bac.

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXXVI u. XXXVII. 1904.

2) Diese Tatsache, die ich als erster in der medizinischen Akademie zu Pisa am 23. März 1904 mitteilte, wurde von Hinterberger (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. 16. Juni 1904) bestätigt, und nach den zahlreichen Beweisen, welche die vorliegende Arbeit bringt, kann kein Zweifel darüber bestehen. Guastiarurù (Cronica medica di Lima. 15. Dez. 1904), der augenscheinlich von meinen Untersuchungen nichts wußte, ist zu entgegengesetzten Resultaten gelangt, indem er die Existenz von Substanzen annimmt, welche die Geißeln nicht nur in den spezifischen agglutinierenden Sera, sondern auch im normalen Serum zerstören könnten. Möge der Verf. meinen Dank entgegennehmen für seine günstige Beurteilung meiner Methode der Geißelfärbung, die an Sicherheit des Resultats, Einfachheit, Schnelligkeit und Dauerhaftigkeit alle anderen Methoden übertrifft; jedoch muß ich bekennen, daß seine Untersuchungen über die Geißeln der dem Einfluß der Sera unterworfenen Bakterien einen augenscheinlichen technischen Fehler zeigen, der seine Resultate erklärt und zu gleicher Zeit ihre Wertlosigkeit beweist. Um den Einfluß des normalen resp. spezifischen Serums zu untersuchen, mischte der Autor nämlich (so teilt er selbst mit) kleine Quantitäten einer 24-stündigen Agarkultur mit verschiedenen Verdünnungen dieser Sera; von diesen brachte er ein Tröpfchen auf ein Deckglas, das er der Färbung unterwarf. Zu gleicher Zeit brachte er auf dasselbe Glas ein in destilliertem Wasser emulsierte Bouillon enthaltendes Tröpfchen, das als Kontrolle dienen sollte. Es ist aber bekannt, daß die Anwesenheit von sehr kleinen Mengen irgend einer organischen, den Bakterien fremden Substanz ein sehr schweres Hindernis für die Färbung bildet. Kein Wunder daher, wenn in den hergestellten Präparaten die Färbung eine absolut negative war, sogar bei einer Serumverdünnung von $\frac{1}{1000}$ — $\frac{1}{2000}$, was den A. zu dem unrichtigen Schluß führte, daß sie vernichtet seien. Und in der Tat konnte der Verf. die Geißeln in den Präparaten beobachten, die er mit sehr verdünntem, normalem oder spezifischem Serum herstellte.

3) Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXXVII. 1904. p. 433.

subtilis und Typhusbacillus durch die neue Kerze Berkefeld V sehr leicht filtrieren (wo ihre Anwesenheit durch meine Färbungsmethode am leichtesten bewiesen werden kann), und, daß in den Filtraten dieselben Geißeln eine intensive agglutininbildende und agglutininfixierende Einwirkung ausüben; es ist höchst wahrscheinlich, daß man sie mit den sogenannten freien Rezeptoren von Neisser und Shiga identifizieren kann [autolytische Produkte anderer Autoren¹⁾].

Es wurde also die anscheinend absolute Integrität der Geißeln der agglutinierten Bakterien, sowie ihre große Wichtigkeit als Produktions- und Fixierungsmittel der Agglutinine bewiesen, und ich hielt es für angezeigt, zu untersuchen, welche Rolle die Geißeln im Mechanismus der Agglutination der beweglichen Bakterien spielen und wie man ihre Abwesenheit mit der weniger deutlichen, doch im allgemeinen klaren Erscheinung der Agglutination der unbeweglichen Bakterien vereinigen kann. Um dieses Problem zu lösen, schien es mir am geeignetsten, zu untersuchen, wie sich die Geißeln den Einflüssen gegenüber verhalten, welche Verlauf und Resultat der Agglutinationserscheinung modifizieren können; insbesondere der Hitze gegenüber (worüber in den letzten Zeiten verschiedene wichtige Mitteilungen erschienen sind).

Bordet²⁾, Nicolle³⁾, Eisenberg und Volk⁴⁾, Bail⁵⁾, Joos⁶⁾ u. A. haben in den Agglutininen die Existenz einer haptophoren, thermostabilen Gruppe und einer funktionellen thermolabilen, durch die Einwirkung der Temperatur von 65° zerstörten Gruppe bewiesen.

Durch Eisenberg und Volk⁴⁾ und Wassermann⁷⁾ ist festgestellt worden, daß in der agglutinierbaren Substanz der Bakterien eine haptophore, thermostabile Gruppe zu erkennen ist, welche das Agglutinin des Serums fixiert und eine funktionelle, thermolabile, für die sichtbare Erscheinung der Agglutination notwendige Gruppe (bei 65°) zerstört.

Nach den Untersuchungen von Joos⁸⁾ über den Einfluß des Aufwärmens der Kulturen auf die Produktion der agglutinierenden Sub-

1) Nach Bertarellis Meinung (Sperimentale. März—April 1905) konnte man autolytische Produkte mit agglutinogenen Fähigkeiten auch in Filtraten von Emulsionen unbeweglicher Bakterien und in durch Chamberlandsche Kerze F von beweglichen Bacillen filtrierten Flüssigkeiten, wo die Anwesenheit von Geißelfragmenten nicht beweisbar wäre, nachweisen. Was die unbeweglichen Keime anbetrifft, so scheint es etwas gewagt, die unbedeutende und unsichere Produktion von agglutinierenden Substanzen — die man durch Inokulation von mit den Keimen kurz in Berührung gewesenen Flüssigkeiten erhalten hat — (worauf ich schon in meiner früheren Mitteilung aufmerksam machte) mit dem wirklich imposanten Phänomen zu vergleichen, das man nach Inokulation von Flüssigkeiten beobachtet, die man durch Zentrifugation oder Berkefeld-Filtration aus Emulsionen von beweglichen Bacillen erhält. Bezüglich der Anwesenheit autolytischer Produkte von beweglichen Mikroorganismen in geißellosen Filtraten durch Chamberlandsche Kerze F muß ich schon jetzt erwähnen, ohne die Frage gründlich behandeln zu wollen, daß diese Tatsache meiner Behauptung nicht widerspricht, da aller Wahrscheinlichkeit nach solche autolytische Produkte nichts anderes sind als das Resultat der Geißelauflösung, die, wie ich in dieser Mitteilung beweise, bei einer Temperatur von 60—62° stattfindet.

2) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898.

3) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899.

4) Zeitschr. f. Hygiene. 1902.

5) Arch. f. Hygiene. Bd. XLII.

6) Zeitschr. f. Hygiene. 1901.

7) Zeitschr. f. Hygiene. 1903.

8) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII.

stanzen sollte die agglutinogene Substanz (des Typhusbacillus) aus zwei Körpern bestehen, dem thermolabilen Agglutinogen α (bei 60–62° zerstört) und dem thermostabilen Agglutinogen β , welche im Serum zwei verschiedene Agglutinine erzeugen sollten, und zwar ein thermostabiles Agglutinin a und ein thermolabiles Agglutinin b (bei 60–62° zerstört). Diese Schlußfolgerungen wurden, teilweise wenigstens, von Scheller¹⁾ und von Krause und Joachim²⁾ bestätigt, welche letztere in der agglutinogenen Substanz die Existenz der zwei Bestandteile (thermostabil und thermolabil) annehmen. Sie glauben jedoch, daß ihre relative Proportion in ein- und derselben Bakterienart ebenso wie die Produktion der beiden Agglutinine im Serum so sehr verschieden und so vielen Einflüssen unterworfen sein können, daß sich darüber nichts feststellen läßt; außerdem scheint es, als ob die verschiedenen Arten von Bakterien sich in dieser Beziehung sehr verschieden verhielten.

Endlich kommen Weils³⁾ Untersuchungen über den Einfluß, den hohe Temperaturen (niedriger jedoch als diejenigen, welche die thermolabilen Gruppen zerstören) auf den Verlauf der Agglutination ausüben. Nach diesen Untersuchungen wird die Agglutination beim Steigen der Temperatur bis auf 55–58° rascher und deutlicher; gegen 65° verschwindet die Agglutinierbarkeit, und wenn die Bacillen agglutiniert sind, findet eine plötzliche Desagglutination statt (nur für Typhus- und Cholerabacillen, denn der Staphylococcus agglutiniert sogar bei 100°). Die Hitze würde ihre Einwirkung auf die Bacillen, nicht auf das Serum ausüben, was den günstigen Einfluß der Temperaturen unter 60° anbetrifft. Die Desagglutination wird von Weil beim Typhusbacillus den von den Mikroorganismen erlittenen Modifikationen, beim Cholerabacillus einer Inaktivierung des Serums zugeschrieben.

Keiner von den erwähnten Autoren, noch von den anderen, die ihre Untersuchungen bestätigt haben, und obgleich alle fast ausschließlich bewegliche Bakterien benutzt haben (Typhus und Cholera), hat daran gedacht, die Einwirkung zu untersuchen, welche die verschiedenen Behandlungen auf den Geißelapparat der Mikroorganismen ausüben konnten.

Wie schon gesagt, habe ich dieser Untersuchung die beiden ersten Teile meiner Arbeit gewidmet, welche enthalten:

1) Die Untersuchung der durch die Erwärmung verursachten Modifikationen der Agglutinationserscheinung der beweglichen Bakterien in ihren Verhältnissen zu Vitalität, Beweglichkeit und event. Modifikationen des Geißelapparates (§ 2).

2) Die comparative Bestimmung der Einwirkung der Hitze auf die agglutininbildende und agglutininfixierende Funktion der vollständigen Bacillen, der geißellosen Bacillen und der Geißeln allein (§ 3).

In einem dritten Paragraphen teile ich die Resultate einiger Nebenuntersuchungen mit (§ 4); endlich stelle ich eine Hypothese über den Mechanismus der Agglutinationserscheinung bei den beweglichen oder unbeweglichen Bakterien auf, die nur als eine klare und natürliche Folge meiner Untersuchungen erscheint. Letztere begann ich im vorigen September und berichte über sie aus meinem Laboratoriums-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV u. XXXVI.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVI u. XXXVII.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVI u. XXXVII.

buch nicht in chronologischer Folge, sondern nach ihrer logischen Anordnung gruppiert.

§ 2. Einwirkung der Wärme auf die Bakterienagglutination in Beziehung zu ihrer Lebensfähigkeit, Beweglichkeit und der Geißelanwesenheit.

I. Experiment (27. Sept. 1904). Eine sehr bewegliche Bouillonkultur von *Bac. subtilis* (8 Stdn. alt bei 37°) wird in 5 Eprouvetten verteilt; eine davon behält man als Kontrolle, die anderen werden 1 Stunde lang im Wasserbad gehalten bei einer Temperatur von 40° resp. 50°, 60°, 70°. Bei diesem wie bei allen folgenden Experimenten wurden die Eprouvetten nicht direkt ins Wasserbad, sondern in ein ins Wasserbad eingetauchtes Glas getan, um ein langsames Steigen der Temperatur zu ermöglichen, das daher leicht zu kontrollieren ist. Die Temperatur wurde mit einem in das Wasser des Glases resp. in die Kulturflüssigkeit eingetauchten Thermometer gemessen. Die Kulturen sowie das Wasser wurden fortwährend vermengt. Nach Ablauf der schon angegebenen Zeit wurde die Untersuchung im hängenden Tropfen, um die Beweglichkeit zu kontrollieren, ausgeführt; nachher fügte man agglutinierendes, aus Kaninchen erhaltenes und sich in der Diluution 1:1500 als aktiv erwiesenes Serum — in der Proportion 1:500 — hinzu. Nach 1-stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37° beobachtete man, ob die Agglutination stattgefunden hatte, um nachher die Eprouvetten der Zentrifugation zu unterwerfen, bis die Bouillon klar und dann entfernt wurde. Der Bodensatz mit einem Tropfen destillierten Wassers aufgenommen, gab uns das Material von ersterer Diluution für die Geißelfärbung, indem man eine Oese davon mit ca. 1 ccm Wasser auf ein Uhrglas brachte und von der Mischung wieder eine Oese auf die dazu zubereiteten Deckgläschen. Ein für allemal sei bemerkt, daß die Geißelfärbung von den verschiedenen Materialien eines Experimentes auf einem und demselben Deckglas geschah, auf welches ich all die Tröpfchen der verschiedenen Verdünnungen brachte, und zwar stets mit einer konventionellen Anordnung, die jeden Irrtum unmöglich machte. Nur auf diese Weise ist es möglich, einen sicheren Vergleich über die Geißelanwesenheit in verschiedenen bakteriischen Präparaten zu machen. Die zahlreichen mit dieser Technik ausgeführten Untersuchungen bestätigten die absolute Integrität und Inalterabilität der Geißeln der agglutinierten Bacillen, und zwar in unbestrittener Weise. Das Experiment lieferte folgendes Resultat:

1) Die Beweglichkeit war in dem auf 50° erwärmten Material noch zu bemerken; bei 60° war sie verschwunden.

2) Die Agglutination war sehr evident (große Flockung und Klarheit der Bouillon) bis zu 60°, bei 70° blieb die Kultur trübe.

3) Die Bacillen hatten bis zu 60° sehr schöne, normale Geißeln; bei 70° waren die Bacillen geißellos und man konnte viele abgetrennte Geißeln sehen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Wirkungsmechanismus des Antiserums.

[Aus dem Kaiserl. Institut für Infektionskrankheiten in Tokio (Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato).]

Von

Dr. G. Shibayama
Abteilungsvorsteher am Institut,

und

H. Toyoda,
Assistenzarzt am Institut.

Die Antikörperbildung durch hämolytisches Serum haben zuerst Camus und Gley (1), sowie Kossel (2) im Aalserum gezeigt. Sie fanden, daß die Sera von Tieren, welche mit Aalserum immunisiert sind, im stände sind, die hämolytische Wirkung desselben aufzuheben. Aber diese Betrachtung blieb ohne weitere theoretische Deutung. Bordet (3) hat darauf hingewiesen, daß beim Einspritzen von hämolytischem Serum ein Antikörper entsteht, welcher sowohl gegen den Ambozeptor wie auch gegen das Komplement wirkt, also aus zwei verschiedenen Körpern, einem Antiambozeptor und Antikomplement, bestehen muß. Diese Erzeugung des Antikörpers von hämolytischem Serum ist Ehrlich und Morgenroth (4), sowie Müller (5) auf dem Wege der Immunisierung gelungen, und auch Antiambozeptoren sind im normalen Serum von den Autoren beobachtet worden. Der Wirkungsmechanismus der Antiambozeptoren besteht nach Ehrlich und Morgenroth (6) darin, daß sie in die cytophile Gruppe des Ambozeptors eingreifen und diese von den Blutkörperchen ablenken. Zum Nachweis und zur Erklärung dieses Vorganges haben die Autoren den Bindungsversuch angestellt. Mischt man nämlich inaktivierte Hämolsine und Antihämolsine, fügt nach gewisser Zeit die Blutkörperchen zu, digeriert und zentrifugiert, so zeigen die Blutkörperchensedimente bei reichlichem Komplementzusatz keine Auflösungsvorgänge, da die Blutzellen die bereits gebundenen Hämolsine nicht mehr verankern können. Dieser Bindungsversuch besagt aber nur, daß die Antihämolsine in die Hämolsine eingreifen, sagt dagegen nichts über den Modus dieses Eingreifens, so daß für uns die Frage entsteht, ob die Antihämolsine an die cytophile Gruppe oder die komplementophile Gruppe der Hämolsine herantreten. Auch der Bordetsche Versuch bringt über diese Frage keine Entscheidung. Bordet stellte folgende Versuche an:

- a durch Erhitzen inaktiviertes Hämolsin (enthält nur den Ambozeptor, kein Komplement)
- + b durch Erhitzen inaktiviertes Antihämolsin
- + c frisches Kaninchen Serum (enthält keinen Ambozeptor, nur Komplement)
- + d rote Blutkörperchen des Kaninchens.

Es trat keine Auflösung der Blutkörperchen ein, obwohl a + c eine Auflösung geben müssen. Da in b alle komplementartigen Körper unwirksam gemacht sind, so kann die Wirkung von b nur darauf beruhen, daß es in die cytophile Gruppe des Hämolsins eingreift (Antikörper)“ (7). Das Antihämolsin b ist allerdings durch Erhitzen inaktiviert, aber das ist für uns noch kein Beweis dafür, daß es in die cytophile Gruppe des Hämolsins eingreifen müsse.

Pfeiffer und Friedberger (8) haben zuerst gezeigt, daß sie Antikörper gegen die bakteriolytischen Immunkörper der Cholera erzeugen konnten. Die Autoren injizierten 2 Kaninchen je

10 ccm Cholerazienserum subkutan; nach 3 Wochen erfolgte wieder subkutane Injektion der gleichen Dosis. 8 Tage später wurde das Blut aus beiden Kaninchen entnommen und geprüft, ob dieses Serum im stande wäre, die bakterienauflösende Wirkung des Cholerazienserums auf Cholera vibrionen im Peritoneum des Meerschweinchens zu paralisieren. Dieser Versuch ergab in der That, daß die Sera von beiden Kaninchen eine paralyisierende Wirkung gegen das Cholerazienserum hatten. Bei dem späteren genaueren zahlenmäßigen Studium dieses Antiserums haben die Autoren festgestellt, daß 0,03 ccm Antiserum eine Dosis Cholerazienserum zu paralisieren vermag. Bei der Prüfung der Wirkung des Antiserums auf Choleraantikörper des Kaninchens unter gleichen Bedingungen fanden die Autoren, daß selbst 0,2 ccm des Antiserums keine paralyisierende Wirkung ausübte. Infolge dieser Versuche sind sie auf den Gedanken gekommen, daß dieser Antikörper gegen die bakteriolytischen Immunkörper der Cholera Antiambozeptor ist, der in die bakteriophile Gruppe des Ambozeptors eingreift, und daß offenbar die Choleraambozeptoren der Ziege und des Kaninchens spezifisch different sind. Gegen diese Meinung äußerten Ehrlich und Morgenroth (9): „Wenn nicht glücklicher Zufall im Einzelfall mitspielt, Antiambozeptoren der bakteriziden Sera, die ihre natürlichen Gegengruppen in Bakterienzellen haben, dieselben aller Wahrscheinlichkeit nach nicht in den Zellen der höheren Tiere finden“. Kraus und Eisenberg (10) konnten mit Diphtherieantitoxin und Typhusagglutininen, deren haptophore Gruppe auch spezifisch auf ihre Gifte oder Bakterien eingestellt ist, keine Antikörper erzeugen. Veranlaßt durch diese Vorwürfe, haben Pfeiffer und Friedberger (11) die Frage einer erneuten Prüfung unterzogen, indem sie einerseits das Antiserum zuerst mit Choleraambozeptoren und dann erst mit Choleraambozeptoren in Beziehung gebracht, welche bereits vorher an die Rezeptoren der Bakterien herangetreten waren, in die Bauchhöhle des Meerschweinchens injizierten. Diese beiden Versuche zeigten eine auffällige Differenz, indem nämlich im ersteren Fall das Tier am Leben blieb, im letzten starb. Die Autoren zogen nun aus diesem Versuchsergebnisse den Schluß, daß die im Serum eines mit Choleraimmunserum vorbehandelten Tieres auftretenden Antiambozeptoren in die cytophile Gruppe des Ambozeptors eingreifen, und die Antiambozeptoren Zellbestandteile sein müssen, welche eine haptophore Gruppe von analogem Bau, wie die Bakterienrezeptoren haben müssen.

In den weiteren Beiträgen zur Frage der Antiserera und deren Beziehung zu den bakteriolytischen Ambozeptoren berichteten Pfeiffer und Friedberger (12), daß das Choleraantiserum (mit Cholerazienserum erhalten) auch den bakteriolytischen Effekt von Typhusimmunseris (Typhuszienseris) zu hemmen vermag.

Wenn auch die cytophile Gruppe der Ambozeptoren von bakteriolytischen Choleraimmunseris auf die bestimmten Rezeptoren der Vibrionen eingestellt sind, so wird das Serum choleraimmunisierter Kaninchen doch durch das Antiserum, welches aus den Kaninchen mit Vorbehandlung des Cholerazienserums erhalten wird, nicht beeinflußt. Wenn das Antiserum in die cytophile Gruppe der Ambozeptoren eingreift, so muß die cytophile Gruppe der Ziegen- und Kaninchencholeraambozeptoren spezifisch different sein, wie Pfeiffer und Friedberger meinen, während die cytophile Gruppe der Ambozeptoren beider Tierspecies auf Cholera vibrio-

nén spezifisch wirkt. Wenn das Antiserum in die cytophile Gruppe der Ambozeptoren eingreift und den bakteriolytischen Effekt des Choleraimmunserums, sowie des Typhusimmunserums zu hemmen vermag, so muß die cytophile Gruppe der Cholera- und Typhusambozeptoren entweder keine differente sein, oder es müssen im Antiserum verschiedene Antiambozeptoren, welche gegen Typhus- und Choleraambozeptoren gerichtet sind, vorhanden sein. Hiernach ist die Erklärung der spezifischen Natur des Antiserums recht schwierig. Dagegen wird sie verständlich und erklärbar, wenn man den Vorgang auf die Weise auffaßt, daß nämlich das Antiserum in die komplementophile Gruppe des Ambozeptors eingreift und die bakteriolytische Wirkung des Immunserums hemmt. Da die komplementophile Gruppe des Ambozeptors eine haptophore Gruppe ist, welche mit dem entsprechenden Komplement sich zu binden vermag, so kann sie im tierischen Körper sehr leicht die geeigneten korrespondierenden Rezeptoren finden, mit welchen sie in Verbindung tritt und die Produktion und Abstoßung der Antiambozeptoren bewirkt. Die so entstandenen Antikörper sollen, wie der Schlüssel ins Schloß, in die komplementophile Gruppe des Ambozeptors eingreifen. Die cytophile Gruppe des Ambozeptors von Ziegencholeraimmunserum und Kaninchenimmunserum ist nach unserer Meinung keine differente, da sie mit den Cholera vibrionen oder deren Rezeptoren spezifische Verbindungen eingeht. Die komplementophile Gruppe des Ambozeptors beider Sera kann dagegen eine differente sein, durch welche die differente Wirkung des Antiserums bedingt wird. Die cytophile Gruppe der Ambozeptoren von Choleraziegenserum und Typhusziegenserum soll nach der gegenwärtig herrschenden Anschauung und wohl auch in der Tat unbedingt different sein. Aber die komplementophile Gruppe der Ambozeptoren beider Immunsera kann ganz identisch sein oder wenigstens eine gemeinsame nicht dominante oder dominante Gruppe haben, wie Ehrlich und Marschall (13) durch Hämolyse zeigten. Wenn man aber annimmt, daß der Ambozeptor des Choleraziegenserums und des Typhusziegenserums eine gleiche komplementophile Gruppe haben, und daß das Antiserum in die komplementophile Gruppe des Ambozeptors eingreift, so ist es leicht verständlich, warum das Antiserum des Choleraziegenserums sowohl gegen das Choleraziegenserum als auch gegen das Typhusziegenserum eine paralysierende Wirkung ausübt.

Mit Beziehung hierauf haben wir eingehende Versuche über das Antiserum von Cholera angestellt.

I. Der Nachweis des Antikörpers im Antiserum.

Zur Gewinnung des Antiserums wurden je 20 ccm Choleraferdeserum, welches einen Titre von $\frac{1}{10}$ mg hatte, 3 Kaninchen subkutan injiziert. Nach 10 Tagen wurden wiederum je 50 ccm und nach abermals 10 Tagen je 70 ccm (im ganzen also 140 ccm) subkutan injiziert. 8 Tage nach der letzten Injektion wurde das Serum von diesen 3 Kaninchen entnommen und geprüft. Zu der Serumprüfung haben wir das Neisser und Wechsberg'sche Plattenverfahren angewandt, welchem wir vor dem Tierversuch den Vorzug geben, da, wie wir weiter unten sehen werden, die Zusatzanordnung von Antiserum, Komplement etc. einen beträchtlichen Einfluß auf die Wirkung des Antiserums übt und, wie bekannt, beim Tier-

versuch das Komplement erst immer zuletzt in Erscheinung und Wirkung tritt.

Die Versuchsanordnung war folgende: Je 0,1 ccm Antiserum wurde mit steigenden Mengen des inaktivierten Choleraferdeserums versetzt, nach 15 Minuten wurden 0,2 ccm von frischem normalen Meerschweinchenserum (Komplement) und wieder nach 15 Minuten $\frac{1}{500}$ mg Cholera-vibrien (18—24-stündige Agarkultur im Brüttschrank) hinzugefügt; die Gesamtfüssigkeit aller Röhren wurde nachher mit Nährbouillon auf 1,0 ccm ergänzt und gut geschüttelt. Nach 3-stündigem Stehen im Brüttschrank wurden 0,15 ccm der Mischung abpipettiert und zu einer Agarplatte verarbeitet. Nach 20 Stunden wurden die Platten besichtigt und die Zahl der Kolonien gezählt. Gleichzeitig wurden Kontrollversuche angestellt, deren Ergebnis aus den beiden folgenden Tabellen I und II ersichtlich ist.

Die Tabellen zeigen, daß 0,1—0,001 ccm des Choleraferdeserums gegen die Cholera-vibrien ihre bakterizide Kraft entfalten und das normale Kaninchenserum keine paralyisierende Wirkung gegen die bakterizide Kraft des Choleraferdeserums ausübt.

Tabelle I.
Versuche mit Choleraferdeserum.

Inaktives Choleraferdeserum	Normales Meerschweinchenserum	Vibrien	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ mg	0
0,01	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,002 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,001 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,0002 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	Hunderte
—	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,1 ccm	—	$\frac{1}{500}$ "	∞

Tabelle II.
Versuch mit Choleraferdeserum und Normalkaninchenserum.

Inaktives Choleraferdeserum	Inaktives Normalkaninchenserum	Frisches Meerschweinchenserum	Vibrien	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ mg	0
0,01	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,002 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,001 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,0002 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	Hunderte
—	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
—	0,1 "	—	$\frac{1}{500}$ "	∞
—	—	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ "	∞

Die Versuche mit den Antiseris dagegen fallen ganz anders aus, obwohl ihre paralyisierende Kraft bei den Kaninchen, aus welchen die Sera stammten, verschieden war, wie Tabelle III und IV zeigen.

Aus diesen Tabellen geht hervor, daß das Serum von Kaninchen, die mit inaktivem Choleraferdeserum vorbehandelt wurden, die Eigenschaft erwirbt, die bakterizide Kraft des Choleraferdeserums vollständig zu paralyisieren, wie Pfeiffer und Friedberger bei Cholera-ziegenserum fanden. Wie schon oben erwähnt, berichteten die beiden Autoren auch, daß das Cholera-kaninchenserum durch das Antiserum nicht beeinflusst wurde. Wir haben auch mit einem Cholera-kaninchenserum (Titre $\frac{1}{3}$ mg)

Versuche angestellt und sind zu denselben Resultaten gekommen, wie Tabelle V zeigt.

Tabelle III.

Versuch mit inaktiviertem Antiserum vom Kaninchen A, welches innerhalb 3 Wochen 140 ccm inaktiviertes Choleraferdeserum subkutan erhalten hatte.

Inaktives Choleraferdeserum	Inaktives Serum vom Kaninchen A	Frisches normales Meer-schweinchenserum	Vibrionen	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ mg	Hunderte
0,01 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	Tausende
0,002 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,001 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,0002 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
—	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
—	—	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞

Ergebnis: 0,1 ccm von Kaninchenserum A paralyisiert die bakterizide Kraft von 0,002 ccm Choleraferdeserum vollständig, größeren Dosen von 0,1 ccm oder 0,01 ccm gegenüber war die Wirkung unvollständig.

Tabelle IV.

Versuch mit inaktivierten Seris vom Kaninchen B und C, welche innerhalb 3 Wochen 140 ccm inaktiviertes Choleraferdeserum subkutan erhalten hatten.

Inaktives Choleraferdeserum	Inaktives Kaninchensera B und C	Frisches Normalmeer-schweinchenserum	Vibrionen	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ mg	∞
0,01 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,002 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,001 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,0002 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
—	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
—	—	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞

Ergebnis: 0,1 ccm der Kaninchensera B und C können dennoch die bakterizide Wirkung von 0,1 ccm des Choleraferdeserums paralyisieren. In weiteren Versuchen haben wir daher stets das Kaninchenserum B verwendet.

Tabelle V.

Versuch über die Wirkung des Antiserums gegenüber Cholera-kaninchenserum.

Inaktives Cholera-kaninchenserum	Inaktives Antiserum	Frisches Normalmeer-schweinchenserum	Cholera-vibrionen	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ mg	0
0,05 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,03 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,01 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,005 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,001 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,0005 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	Tausende
—	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
—	—	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞

Hier zeigte sich recht gut die Uebereinstimmung mit Pfeiffer und Friedbergers Tierversuchen. Aber es sei hier noch bemerkt,

daß wir bei den erwähnten Versuchen ganz dieselben Resultate erhielten, wenn wir anstatt des Meerschweinchenkomplementes das Komplement des Kaninchens verwendeten.

II. Die Wirkung des Choleraantiserums gegenüber Typhus- und Dysenterieimmunsrum.

Pfeiffer und Friedberger haben in ihrem 3. Bericht über das Antiserum erwähnt, daß das Choleraantiserum auch die bakterizide Wirkung des Typhusziegenserums aufhebe. Zu denselben Ergebnissen, wie Pfeiffer bei seinem Tierversuch, sind wir mit unserem Plattenverfahren gekommen, wie aus folgender Tabelle ersichtlich (Tabelle VI).

Tabelle VI.
Die Wirkung des Choleraantiserums gegenüber Typhusferdeserum.

Inaktives Typhusferdeserum	Antiserum	Frisches Normalmeerschweinchen-serum	Typhusbacillen	Zahl der Kolonien
0,01 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ mg	∞
0,005 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,002 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,001 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,0005 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞

Kontrollversuch:

0,01 ccm	—	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ mg	0
0,005 "	—	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,002 "	—	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,001 "	—	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0
0,0005 "	—	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	0

In den Versuchen mit Dysenterieferdeserum zeigte sich eine gewisse Unregelmäßigkeit, da es mit Meerschweinchen serum unvollständig komplementiert wird, wie dies Tabelle VII zeigt.

Tabelle VII.
Dysenterieferdeserum mit Meerschweinchenkomplement.

Inaktives Dysenterieferdeserum	Komplement	Dysenteriebacillen	Zahl der Kolonien
0,01 ccm	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ mg	ca. 700
0,005 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	" 300
0,002 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	" 240
0,001 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	" 240
0,0005 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	" 100

Tabelle VIII.
Die Wirkung des Antiserums gegenüber Dysenterieferdeserum.

Inaktives Dysenterieferdeserum	Choleraantiserum	Komplement	Dysenteriebacillen	Zahl der Kolonien
0,01 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	$\frac{1}{500}$ mg	∞
0,005 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,002 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,001 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞
0,0005 "	0,1 "	0,2 "	$\frac{1}{500}$ "	∞

Wenn wir aber dem Dysenteriepferdeserum außer dem Komplement noch das Choleraantiserum hinzufügen, so erhalten wir ein Resultat, wie es folgende Tabelle VIII zeigt.

Weiter haben wir die Wirkung des Antiserums gegenüber Typhuskaninchen Serum geprüft und festgestellt, daß das Antiserum keine paralyisierende Wirkung auf die bakterizide Kraft des Typhuskaninchen Serums ausübte, wie wir in dem Versuch mit Cholerakaninchen Serum gesehen haben.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Choleraantiserum keine spezifische Eigenschaft gegenüber dem Choleraambozeptor hat, sondern daß es auch gegenüber den Typhus- und Dysenterieambozeptoren die gleichen Eigenschaften entwickelt, und legen daher den Gedanken nahe, ob es nicht gegenüber allen Ambozeptoren, die im Serum derselben Tierspecies entstehen, sich in gleicher Weise verhält.

III. Weitere Versuche über die Wirkung des Antiserums.

In dem Versuch Tabelle III haben wir zu verschiedenen Quantitäten des Immunserums stets die gleiche Dosis von Antiserum und Komplement zugesetzt, die Zahl der Kolonien war aber verschieden je nach der Menge des Immunserums. Wenn hierbei das Antiserum auf das Komplement gewirkt hätte, sollten wir erwarten, daß die Anzahl der Kolonien bei gleichen Quantitäten des Komplementes die gleiche geblieben wäre. Pfeiffer und Friedberger meinten: „Es wäre nun allerdings sehr merkwürdig, wenn bei der Immunsierung die kleinen Komplementmengen einen so starken Effekt im Blut der mit Ziegencholeraserum vorbehandelten Kaninchen hervorrufen sollten.“ — „Lassen wir aber zunächst diese Möglichkeit gelten, so können unsere Versuchsergebnisse, speziell der Parallelismus der Antiserumdosis mit der Quantität des Choleraantiserums, mit dieser Annahme wohl unvereinbar scheinen.“ Damit haben Pfeiffer und Friedberger aber keinen positiven Gegenbeweis der Antikomplementannahme gegeben, da eine beweisende Versuchsanordnung beim Choleraantiserum recht schwierig ist. Wir haben dafür folgende Versuche angestellt. Ein Kaninchen wurde innerhalb vier Wochen dreimal mit frischem normalen Pferdeserum (im ganzen 50 ccm) subkutan behandelt. 8 Tage nach der letzten Injektion wurde das Blut aus Kaninchen entnommen und gegenüber den Pferde- und Kaninchencholeraseris geprüft.

Versuch A.

$\frac{1}{500}$ mg Cholera vibrionen	} Zahl der Kolonien: ∞
+ 0,1 ccm inaktives Cholera pferdeserum	
+ 0,1 ccm inaktives Serum des mit Pferdeserum behandelten Kaninchens	
+ 0,2 ccm frisches Meerschweinchenserum	

Versuch B.

$\frac{1}{500}$ mg Cholera vibrionen	} Zahl der Kolonien: ∞
+ 0,01 ccm inaktives Cholerakaninchen Serum	
+ 0,1 ccm inaktives Serum des mit Pferdeserum behandelten Kaninchens	
+ 0,2 ccm frisches Meerschweinchenserum	

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß inaktives Serum des mit frischem normalen Pferdeserum behandelten Kaninchens sowohl auf Cholera pferdeserum als auch auf Cholerakaninchen Serum

wirkt, während es beim Choleraantiserum nicht der Fall war. Handelt es sich im Serum des mit frischem normalen Pferdeserum behandelten Kaninchens um ein Antikomplement, so muß durch den Zusatz von größeren Mengen des Komplements die bakterizide Wirkung des Immunsersums eintreten. Der Versuch verlief, wie wir erwarteten.

Versuch C.

- | | |
|----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| $\frac{1}{500}$ mg Choleravibrionen | } Zahl der Kolonien: 0 oder einige |
| + 0,1 ccm inaktives Cholerapferdeserum | |
| + 0,1 ccm inaktives Serum des mit normalem
Pferdeserum behandelten Kaninchens | |
| + 0,5 ccm frisches Meerschweinchenserum | |

Bei dem Choleraantiserum erhielten wir ganz andere Resultate:

Versuch D.

- | | |
|-----------------------------------------|-------------------------------|
| $\frac{1}{500}$ mg Choleravibrionen | } Zahl der Kolonien: ∞ |
| + 0,1 ccm inaktives Cholerapferdeserum | |
| + 0,1 ccm inaktives Choleraantiserum | |
| + 0,5 ccm frisches Meerschweinchenserum | |

Damit steht es außer Frage, daß es sich bei Hemmung der Ambozeptorwirkung durch Antisera um Antiambozeptorenwirkung handelt. Wie Ehrlich und Morgenroth bei Hämolyse ausgesprochen haben, sollten wir auch das Vorhandensein von kleinen Mengen des Antikomplementes annehmen, sofern wir das Vorhandensein der Komplementoide im zur Immunisierung gebrauchten inaktiven Cholerapferdeserum annehmen. Obwohl wir die Möglichkeit des Vorhandenseins von Antikomplement im Antiserum annehmen, so soll die Antikomplementmenge doch ganz minimal klein sein; so daß wir keine Rücksicht auf seine Wirkung zu nehmen brauchen.

Ferner untersuchten wir, wie sich das Antiserum zu den Choleravibrionen verhalten würde. Die Versuchsanordnung ist sehr einfach. Man versetzt die Vibrionenaufschwemmung mit dem inaktiven Antiserum, digeriert eine Stunde, zentrifugiert die Vibrionen ab und wäscht mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung. Untersucht man nun mit diesen Vibrionen die bakterizide Wirkung des Choleraimmunsersums, so zeigt sich, daß der Ambozeptor an Wirkung nichts einbüßte. Wenn hierbei die Vibrionen mit Antikörpern des Antiserums sich beladen hätten und die Rezeptoren somit verstopft worden wären, hätte die Ambozeptorwirkung ausbleiben müssen. Daraus können wir schließen, daß der Antikörper im Antiserum die Vibrionen nicht direkt verankert. Das stimmt mit dem Pfeiffer und Friedbergerschen Versuch völlig überein.

Nachdem unsere Versuche gezeigt hatten, daß der Antikörper im Antiserum kein Antikomplement ist, wenn auch theoretisch zugegeben werden soll, daß eine kleine Menge von Antikomplement vorhanden ist, und daß er mit den Vibrionen sich nicht direkt verbindet, haben wir weiter die Frage untersucht, ob der Antiambozeptor in die cytophile oder in die komplementophile Gruppe des Ambozeptors eingreift. Nach Pfeiffer und Friedbergers Versuch zeigte die Antiserumwirkung ganz auffällige Differenzen, je nachdem man erst den Vibrio mit dem Ambozeptor zusammenbringt oder vorher den Ambozeptor mit dem Antiserum mischt. Es blieb nämlich das Tier in jenem Fall am Leben, während es in diesem Fall starb. Wurde aber die Quantität des Antiserums vergrößert, so trat eine Hemmung der Bakteriolyse ein, obwohl man erst den Vibrio mit dem Ambozeptor mischte. Das letzte Versuchs-

ergebnis wurde von Pfeiffer und Friedberger als eine Art Massenwirkung der Antiambozeptoren erklärt.

Bei unseren Versuchen mit dem Plattenverfahren zeigte die Antiserumwirkung keine Differenzen, je nachdem wir den Vibrio mit dem Ambozeptor zusammenbrachten oder vorher den Ambozeptor mit dem Antiserum mischten. Läßt man den Antiambozeptor vor dem Zusatz des Komplementes auf den Ambozeptor wirken, so entfaltet der Antiambozeptor in allen Fällen seine Wirkung. Fügt man dagegen den Ambozeptor nach dem Komplementzusatz hinzu, so bleibt er vollständig wirkungslos.

Versuch I.

$\frac{1}{500}$ mg Cholera-vibrionen	} Zahl der Kolonien: ∞
+ 0,1 ccm inaktives Cholera-pferdeserum nach 30 Minuten	
+ 0,1 ccm inaktives Antiserum nach 15 Minuten	
+ 0,2 ccm frisches Meerschweinchen-serum	

Versuch II.

0,1 ccm inaktives Cholera-pferdeserum	} Zahl der Kolonien: ∞
+ 0,1 ccm inaktives Antiserum nach 30 Minuten	
+ $\frac{1}{500}$ mg Cholera-vibrionen nach 15 Minuten	
+ 0,2 ccm frisches Meerschweinchen-serum	

Versuch III.

$\frac{1}{500}$ mg Cholera-vibrionen	} Zahl der Kolonien: ∞
+ 0,1 ccm inaktives Cholera-pferdeserum	
+ 0,2 ccm frisches Meerschweinchen-serum nach 30 Minuten	
+ 0,1 ccm inaktives Antiserum	

Versuch IV.

0,1 ccm inaktives Cholera-pferdeserum	} a } Zahl der Kolonien: 0
+ 0,2 ccm frisches Meerschweinchen-serum 30 Minuten bei Zimmertemperatur	
0,1 ccm inaktives Antiserum	
+ $\frac{1}{500}$ mg Cholera-vibrionen 30 Minuten bei Zimmertemperatur	

Ergebnis: Das Antiserum hat in den beiden letzten Fällen keine Wirkung auf den Ambozeptor ausgeübt. Da das Komplement die komplementophile Gruppe des Ambozeptors bereits besetzt hat, so kann der Antiambozeptor seine Wirkung nicht ausüben. Ohne diese Annahme würde es ganz unverständlich sein, warum der Antiambozeptor nach dem Komplementzusatz nicht mehr wirkt. Wenn der Antiambozeptor die cytophile Gruppe des Ambozeptors angreift, so muß seine Wirkung nach und vor dem Komplementzusatz ganz gleich bleiben, weil ja das Komplement nur auf die komplementophile Gruppe des Ambozeptors wirkt. Bei den Tierversuchen kommt die Komplementwirkung stets zuletzt. Das ist unserer Auffassung nach der Grund, weswegen Pfeiffer und Friedberger diese wichtige Tatsache übersehen haben, da sie stets mit Meerschweinchen gearbeitet haben.

Nun bleibt noch der Einwand zu widerlegen, daß es sich vielleicht um ein Antikomplement handelt. Wir haben dafür weitere Bindungsversuche angestellt, welche unsere Annahme zu bestätigen scheinen.

Versuch.

Zunächst wird 0,1 ccm Choleraepferdeserum mit einer Oese Cholera-vibrionen gemischt, mit physiologischer Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt und 1 Stunde bei Zimmertemperatur gehalten. Nun wird abzentrifugiert, der Bodensatz mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und wieder mit physiologischer Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt. Von dieser Aufschwemmung wurde 1 ccm weggenommen und später geprüft und gezeigt, daß Vibrionen mit Ambozeptoren beladen waren. 9 ccm dieser Aufschwemmung wurden mit 1 ccm Antiserum versetzt und 1 Stunde bei Zimmertemperatur gehalten. Nunmehr wurde wieder abzentrifugiert und der Bodensatz mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und zuletzt in 9 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Für die Deutung dieser Aufschwemmung sind vier Annahmen möglich.

1. **Annahme:** Es sind Vibrionen allein enthalten. Setzt man Cholera-immunserum zu Vibrionen, so werden sie mit Ambozeptoren beladen, wie das bekannt ist und wie wir gezeigt haben. Diese Bindung wird aber vielleicht durch Massenwirkung der nachher hinzugefügten Antiambozeptoren gesprengt, wie Pfeiffer und Friedberger meinten; und Vibrionen allein werden in der Aufschwemmung zurückbleiben.

2. **Annahme:** Es sind die mit Ambozeptoren beladenen Vibrionen (also Vibrio + Ambozeptor).

3. **Annahme:** Es sind die mit Antiambozeptor beladenen Vibrionen (also Vibrio + Antiambozeptor).

4. **Annahme:** Es sind die mit Ambozeptoren und Antiambozeptoren beladenen Vibrionen (also Vibrio + Ambozeptor + Antiambozeptor).

Um zu unterscheiden, welche dieser Annahmen die richtige ist, haben wir zunächst das Komplement mit der Aufschwemmung versetzt und auf Agarplatten geprüft. Bei der 2. Annahme sollten die Agarplatten steril bleiben, während bei den 3 anderen Fällen die Vibrionen wachsen müßten. In Wirklichkeit aber zeigte der Versuch, daß die 2. Annahme unmöglich war, da auf den Platten Tausende von Kolonien wuchsen.

Weiter wurde die Aufschwemmung mit Immunserum und Komplement versetzt und geprüft. Wenn die 1. und 3. Annahme möglich wäre, so hätte die Platte bei diesem Versuch steril bleiben müssen. Aber der Versuch zeigte, daß beide Annahmen unmöglich sind, da Tausende von Kolonien auf der Agarplatte wuchsen.

Versuch 1.

Aufschwemmung mit Komplement versetzt.	
0,1 ccm Aufschwemmung	} Kolonienzahl: Tausende
+ 0,2 ccm Komplement	

Versuch 2.

Aufschwemmung mit Immunserum und Komplement versetzt.	
0,1 ccm Aufschwemmung	} Kolonienzahl: Tausende
+ 0,1 ccm Choleraepferdeserum	
+ 0,2 ccm Komplement	

Bei diesem Versuch muß man die Möglichkeit der Komplement-ableitung in Rücksicht ziehen, da die Aufschwemmung mit einer relativ großen Menge von Immunserum versetzt wurde. Darum haben wir in einem weiteren Versuch 0,5 ccm Komplement hinzugefügt und dabei ganz dieselben Resultate erhalten.

Aus den beiden oben angeführten Versuchen müssen wir wohl die 1., 2. und 3. Annahme ausschließen, dann bleibt als einzige Möglichkeit

nur die 4. Annahme übrig. Nämlich die Vibrionen sind zuerst mit den Ambozeptoren des Immunserums gebunden und im stande, Antiambozeptoren an sich zu binden. Wie sich aus unserer vorher erwähnten Versuchsanordnung ergab, werden die Antiambozeptoren an und für sich nicht direkt von den Vibrionen aufgenommen, sondern erst dann gebunden, wenn die Vibrionen bereits die Ambozeptoren verankert haben. Die cytophile Gruppe der Ambozeptoren ist bereits mit Vibrio verankert, dann bleibt nur die komplementophile Gruppe übrig, um sich mit dem Antiambozeptor zu binden. Alle die negativen Resultate bei Immunisierungsversuchen mit unizeptoren Immunsubstanzen (Diphtherieantitoxin, Typhusagglutinine, Choleraagglutinine etc.) stimmen mit unserer Annahme vollständig überein. Da die Unizeptoren nur eine haptophore Gruppe haben, die gegen die Bakterien oder deren Produkte gerichtet sind und ihre natürliche Gegengruppe in den Zellen der höheren Tiere nicht finden, werden sie ihre Antikörpern nicht ausgelöst. Die Ambozeptoren haben dagegen zwei haptophore Gruppen, die eine zur Verankerung der Bakterien, die andere zur Verbindung mit dem Komplement. Die letzte komplementophile Gruppe des Ambozeptors bewirkt die Verankerung der Rezeptoren der Zellen und diese durch Ueberregeneration in Blut abgestoßene Rezeptoren sind Antiambozeptoren, welche in die komplementophile Gruppe des Ambozeptors eingreifen und eine paralyisierende Wirkung auf den Ambozeptor ausüben.

Literatur.

- 1) Annales de l'Inst. Pasteur 1899. 2) Berlin. klin. Wochenschr. 1897. 3) Annales de l'Inst. Pasteur 1901. 4) Berlin. klin. Wochenschr. 1900. 5) Wien. klin. Wochenschr. 1901. 6) Berlin. klin. Wochenschr. 1901. 7) Aschoff, Ehrlichs Seitenkettentheorie etc. 1902. 8) Berlin. klin. Wochenschr. 1902. 9) Berlin. klin. Wochenschr. 1902. 10) Centralbl. f. Bakt. etc. 1902. 11) Centralbl. f. Bakt. etc. 1903. 12) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 13) Berlin. klin. Wochenschr. 1902.

Nachdruck verboten.

Weitere Beiträge zur Hämolyse. II.

Von Dr. Lüdke,

Assistent der medizinischen Klinik zu Würzburg. (Direktor:
Geheimrat Prof. Dr. von Leube.)

Unter den theoretisch wichtigen Gebieten der Immunitätsforschung hat von jeher das Studium der Hämolyse die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt. Unter den cytolytischen Sera waren die hämolytisch wirksamen am geeignetsten, die Zellschädigungsprozesse durch ein spezifisch eingestelltes Serum der direkten Beobachtung zugänglich zu machen; in mehr oder weniger komplizierten Experimenten konnte der Auflösungsprozeß in seine einzelnen Phasen zerlegt werden und gesetzmäßige Beziehungen zwischen Zellrezeptoren und Ambozeptoren einerseits, zwischen Ambozeptoren und Komplementen andererseits aufgedeckt werden.

Ueberdies ließen sich die bei der Zerstörung roter Blutkörperchen durch ein hämolytisches Serum beobachteten Prozesse und die ge-

wonnenen Schlußfolgerungen bis zu einem gewissen Grade auf die Vorgänge bei der Bakteriolyse übertragen, und so forderten Experimente auf dem einen Gebiet zu Parallelversuchen auf dem anderen auf.

Und endlich ergaben sich auf Grund von cytolytischen Studien, deren exakte Basis die Hämolysinversuche Ehrlichs und Morgenroths bildeten, für die Erkenntnis cellulärer Prozesse mannigfache Rückschlüsse, Analogieen und neue Gesichtspunkte, die für manche Fragen des Verlaufs physiologischer wie pathologischer Prozesse neue Wege und Erkenntnisse brachten und voraussichtlich noch bringen werden.

Wir lernten erkennen, daß das Gesetz der Spezifität, der spezifischen Wirkungsfähigkeit eines mit einer bestimmten Zellart gewonnenen Immunserums, die Grundlage aller cytolytischer Vorgänge bildet; daß jedoch andererseits verwandte, nur durch biologische Reaktionen erkennbare Beziehungen zwischen den Zelltypen eines Organismus bestehen, welche oft genug den Spezifitätscharakter eines Immunserums abzuschwächen geeignet sind.

Weiterhin wurden durch hämolytische Reaktionen verwandte Beziehungen unter den Blutkörperchen differenter Tiere aufgedeckt; ähnliche Befunde wurden bei mannigfachen cytolytischen Reaktionen konstatiert; Befunde, die nicht in jedem Falle mit dem zoologischen Klassifikationssystem übereinstimmten.

Wir erhielten endlich durch das Studium der pathologischen Zellveränderungen einige Aufschlüsse über die Wirksamkeit solcher cytolytisch wirksamen Sera auf bestimmte, zur Vorbehandlung verwandte Zellarten und konnten ganz allgemein den Satz aufstellen, daß ein wirksames cytolytisches Serum in kleinen Dosen einen stimulierenden Einfluß auf die Funktion einzelner Organe auszuüben vermag, während größere Dosen eine stärkere Schädigung von einer funktionellen Paralysisierung bis zur Reparationsunmöglichkeit der affizierten Zellbezirke hervorrufen können. Damit waren zugleich Ausblicke für etwaige künftige therapeutische Verwendungen solcher Sera eröffnet.

Für die Erkenntnis aller dieser biologischen Serumreaktionen ist das Studium der Hämolyse vorbildlich geworden und fordert daher immer wieder zu eingehender Prüfung und zur Entdeckung neuer Gesichtspunkte auf.

I. Ueber die zur Hämolysinbildung notwendigen Blutkörperchenquantitäten und über Rezeptorengemeinschaft.

Vergleichen wir die Quantitäten von Antigenmaterial, die zur Bildung von Reaktionskörpern notwendig sind, so finden wir im wesentlichen bei allen Antikörpern übereinstimmende Angaben: Die Quantität des Antigenmaterials ist innerhalb weiter Grenzen indifferent bezüglich der Auslösung von Reaktionsprodukten. Bleiben wir zunächst bei den uns vornehmlich interessierenden cytolytischen Prozessen im immunisierten Organismus, so war nach den Untersuchungen von Friedberger¹⁾ zur Bakteriolyse von Choleravibrionen nur $\frac{1}{1000}$ Oese Cholerakultur bei intravenöser Injektion zur Erzeugung eines Titres von durchschnittlich 3 mg im stande.

In gleicher Weise konnten Friedberger und Dorner²⁾, in Uebereinstimmung mit unseren entsprechenden Untersuchungen, bei Injektion von 1—1½ mg einer 5-proz. Ziegenerythrocytenlösung einen

1) Friedberger, Festschrift zum 70. Geburtstage E. von Leydens.

2) Friedberger und Dorner, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5.

hämolytischen Titre des Kaninchensерums erzeugen, der die geringe, normal vorhandene hämolytische Qualität des Kaninchensерums für Ziegenblut auf das 5—20-fache steigerte.

Nach eigenen Befunden ergab sich, daß zur Auslösung von Hämolytinen im Kaninchenblut für Ochsenblutkörperchen Mengen von 0,05 bis 0,1 ccm einer 5-proz. Ochsenblutkörperchenaufschwemmung ausreichend waren. Das Kaninchensерum löste vor der Bluteinspritzung auch in einer Menge von 0,75 ccm Ochsenerythrocyten nicht auf.

Uebereinstimmend mit den bei der Bakteriolyse von Mertens¹⁾ erhaltenen Resultaten und den hämolytischen Ergebnissen von Friedberger und Dorner konstatierten wir ferner, daß die subkutane Injektion gleich großer Dosen von Hammel- wie Ochsenblutkörperchen nicht im stande war, einen Immunisierungseffekt hervorzubringen.

Mit mittleren Dosen (0,1—0,5 ccm), die intravenös gegeben wurden, waren häufiger ziemlich hohe Titrewerte zu erhalten, die bei Kontrolluntersuchungen mit großen Injektionsdosen nicht erheblich übertroffen wurden.

		Lösung von 1 ccm 5-proz. Ochsenblutes bei genüg. Komplementierung durch
Kan. 28 erhält intravenös 0,3 ccm 5-proz. Ochsenblut	Nach 7 Tagen	0,08 inakt. Kaninchensерum
Kan. 12 erhält intravenös 10 ccm Ochsenblut	„ 7 „	0,03 „ „
Kan. 13 erhält intravenös 3 ccm Ochsenblut	„ 7 „	0,05 „ „
		Lösung von 1 ccm 5-proz. Hammelblutes bei genüg. Komplementierung durch
Kan. 8 erhält intravenös 0,5 ccm 5-proz. Hammelbl.	Nach 9 Tagen	0,1 inakt. Kaninchensерum
Kan. 43 erhält intravenös 8 ccm 5-proz. Hammelbl.	„ 9 „	0,05 „ „

Im allgemeinen werden bei Injektionen von Kaninchen mit Ochsen- wie Hammelblutkörperchen, wie bekannt, ziemlich kräftig wirksame Hämolytine gebildet, und zwar tritt die Hämolytinproduktion bei intravenösen Injektionen nach einer kurzen Latenzzeit am 3.—5. Tage in vollster Entwicklung auf. Seltener scheint ein Fehlen der Reaktion oder ein verspätetes Eintreten und eine damit verbundene schwache Ausbildung der spezifischen Hämolytine vorzukommen. Bisher fand ich in zwei Fällen eine sehr erheblich schwache Ausbildung resp. ein gänzlich Ausbleiben der Hämolytinbildung nach Injektion von Ochsenblut. In beiden Fällen waren ausreichende Mengen kräftigen Kaninchensерums teils subkutan, teils intravenös injiziert worden; im ersten Falle einer subkutanen Injektion von ca. 15 ccm trat überhaupt keine Hämolytinbildung auf, das Tier magerte ab und starb am 7. Tage nach der Einspritzung. Im zweiten Falle waren 10 ccm einer 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung intravenös gegeben worden; bis zum 15. Tage nach der Einspritzung war keine Spur von Hämolytinbildung eingetreten; es erfolgte eine zweite Injektion von 10 ccm, an der das Kaninchen 4 Tage später einging. Am 3. Tage nach der letzten Einspritzung war eine nur schwache Hämolytinproduktion aufgetreten, indem nur bei Zusatz

1) Mertens, Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 24.

von 0,3 ccm des frischen Serums eine Lösung der Ochsenblutkörperchen erfolgte. — Solche Fälle sind jedoch sehr selten; gewöhnlich erfolgt eine prompte Reaktion auf die Einführung der fremden Blutart und häufiger werden noch neben den spezifisch wirksamen Hämolsinen lösende Eigenschaften auf Blutkörperchen einer oder mehrerer anderer Tierarten aufgefunden.

Die schon von Ehrlich und Morgenroth des öfteren erwähnte Rezeptorengemeinschaft zwischen Ochsenblut- und Hammelblutkörperchen konnte in zahlreichen Versuchsreihen aufs neue bestätigt werden, entweder trat die vor der Einführung einer Blutart nicht nachweisbare Lösungsfähigkeit für die andere Blutkörperchenmischung nach der Injektion als neue Erscheinung auf oder eine schon vorher vorhandene schwache Lösungsfähigkeit für die andere Blutkörperchenart wurde wesentlich verstärkt. Häufiger trat ferner die Hämolyse der nicht zur Immunisation benutzten Blutkörperchen später ein; in einigen Fällen, in denen das normale Kaninchenserum bereits geringe Lösung einer Blutart bei größeren Serumzusetzungen herbeiführte, war direkt nach der Einführung der anderen Blutkörperchenart diese Lösungsfähigkeit vollkommen verschwunden, die normalerweise im Blute kreisenden Ambozeptoren waren aufgebraucht und erst relativ spät trat eine erneute Ambozeptorensekretion auf. Weiter wurde im Verlauf der Ambozeptorensekretion gegen Erythrocyten bisweilen beobachtet, daß, ohne daß eine merkbare Veränderung in den äußeren Lebensverhältnissen der immunisierten Tiere eingetreten war, eine komplette Lösung der nicht zur Immunisation verwandten Blutart, die vorher deutlich ausgesprochen war, zu einem gewissen Termin fehlte, um bei späteren Untersuchungen wieder aufzutreten. Worauf solche Schwankungen in der Ambozeptorenabstoßung der in Rezeptorengemeinschaft stehenden Blutkörperchen beruhen (Ernährung?), war nicht festzustellen. Diese Schwankungen im Rezeptorengehalt des immunisierten Organismus können sogar so weit führen, daß, wie in einem Falle beobachtet wurde, längere Zeit nach der Immunisierung die Lösungsfähigkeit für die zur Injektion verwandte Blutart verschwindet, während die mit gemeinsamen Rezeptor versehenen Blutkörperchen noch vollständig gelöst werden. Ein für den objektiven Nachweis deutliches Verschwinden der Hämolsine aus dem Blutserum immunisierten Kaninchen konnte in 2 Fällen genauer verfolgt werden: In den einzelnen, alle 14 Tage vorgenommenen Serumprüfungen konnte ein langsamer Abfall der Ambozeptorensekretion eruiert werden; in dem einen Falle war 5 Monate nach erfolgter Immunisierung die Lösungsfähigkeit des Serums gänzlich verschwunden, während in dem Parallelfalle, in dem es sich um ein mit der gleichen Dosis von Ochsenblutkörperchen vorbehandeltes, gleich kräftiges Kaninchen handelte, nach $5\frac{1}{2}$ Monaten nur noch die Lösungsfähigkeit, die dies Serum schon vor der Injektion der fremden Blutart besaß, nachgewiesen wurde.

II. Ueber den Einfluß fortgesetzter Aderlässe und Nahrungsentziehung auf die Ambozeptorensekretion.

Die Beeinflussung der Antikörperproduktion durch die Sekretion hemmende oder befördernde Reize ist von mehreren Autoren bereits mit relativ günstigen Erfolgen studiert worden: Die Mehrzahl derartiger Versuche beschränkte sich in der ersten Periode der Entwicklung der Immunitätslehre lediglich darauf, mittelst relativ grober Schwächung des Organismus, wie Nahrungs- oder Wasserentziehung, durch Aenderungen

in den Temperaturverhältnissen, durch Einführung differenter Gifte eine Steigerung oder Herabsetzung der natürlichen Resistenz zu erzielen.

In anderen, schon mehr detaillierten Versuchen wurde durch künstlich gesetzte Stoffwechselveränderungen eine Beeinflussung der Agglutininproduktion erhalten; P. Th. Müller¹⁾ konstatierte hier bemerkenswerte Befunde von Schwankungen im Agglutiningehalt, wobei jedoch die zur Infektion verwandte Bakterienart beachtet werden mußte.

Daß nach abundanten Blutverlusten bei Kaninchen, die mit einer bestimmten Blutkörperchenart immunisiert waren, keine Abnahme der lösenden Fähigkeit des Serums eintrat, war bereits von Lüdke²⁾ gefunden. In zwei weiteren Untersuchungen sollte nun die Einwirkung fortgesetzter, stärkerer Blutverluste auf die Produktion der Hämolytine beobachtet werden. Wir wollen ohne tabellarische Uebersicht nur das Resultat dieser Experimente mitteilen:

Ein silberschwarzes, weibliches, kräftiges Kaninchen erhält 15 ccm defibrinierten Rinderblutes subkutan; vor der Injektion trat bei Zusatz von 0,4 ccm Kaninchenserum keine Lösung von 1 ccm einer 5-proz. Rinderblutaufschwemmung auf. 10 Tage nach der Injektion löste das Kaninchenserum in einer Menge von 0,05 ccm des inaktivierten Serums 1 ccm Rindsblutaufschwemmung noch vollständig bei genügendem Komplementzusatz (Meerschweinchenserum) auf. Von jetzt ab (10. Tag nach der Injektion) wurden dem Tier täglich oder jeden zweiten Tag größere Blutmengen entzogen, zunächst aus den gut entwickelten Ohrgefäßen, und zwar am 11. Tage 35 ccm, am 12. Tage 15 ccm, am 13. Tage 20 ccm, am 15. Tage 10 ccm. Am 16. Tage wurde die Lösungsfähigkeit geprüft: sie war fast unverändert geblieben. Am 19. Tage wurden dem Kaninchen 25 ccm aus der linken Carotis entzogen, am 23. Tage wieder ca. 35 ccm aus der rechten Jugularvene. Nach diesen festgesetzten Blutverlusten war die Lösungsfähigkeit — am 26. Tage nach der Einspritzung der fremden Blutart geprüft — in erheblichem Grade gesunken; bei hinreichendem Komplementzusatz vermochten nur noch 0,3 ccm inaktivierten Serums 1 ccm einer 5-proz. Rinderblutaufschwemmung aufzulösen. Auch bei einer 5 Tage später stattfindenden Serumprüfung ergab sich das gleiche Lösungsverhältnis des Serums. Bei einer Reihe von Kontrolluntersuchungen war bei mit Ochsenblut immunisierten Tieren eine derartige Schwächung der Lösungsfähigkeit nach einem Zeitraum von etwa 4 Wochen nicht eingetreten, so daß diese Abnahme der hämolytischen Kraft auf Rechnung der fortgesetzten Blutverluste zu setzen ist.

In einem zweiten Versuche, der sich ebenfalls mit wiederholt ausgeführten, sich unmittelbar folgenden Blutentnahmen bei einem mit Ochsenblut injizierten Kaninchen beschäftigte, konnte ebenfalls nach einem Zeitraum von ca. 5 Wochen eine starke Abnahme der hämolytischen Fähigkeit des Kaninchenserums konstatiert werden.

Stärkere Einwirkungen auf die Bildungsfähigkeit der die spezifischen hämolytischen Ambozeptoren auslösenden Zellen können weiterhin durch längere Zeit währende Nahrungsentziehungen erzielt werden. Diese Versuche, in denen von 4 Fällen zweimal eine Herabsetzung der Ambozeptorensekretion beobachtet wurde, lehrten jedoch, daß Abnahmen in der Lösungskraft hämolytischer Sera durch derartige eingreifende Prozesse nur eingeleitet werden können, ohne daß eine vollkommene Funktions-

1) Müller, P. Th., Centralbl. f. Bakt. 1903. No. 5 und Archiv f. Hygiene 1904. Bd. LI. Heft 4.

2) Lüdke, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. 1904. Heft 2/3.

lähmung der die Abstoßung der hämolytischen Immunkörper besorgenden Zellbezirke einzutreten braucht. Die durch einen ein- oder mehrmaligen Reiz gesetzten Zellveränderungen, die vielleicht auf einer molekularen Modifikation im Zellprotoplasma basieren, im wesentlichen jedoch in einer vollkommeneren Ausbildung schon in der Zelle vorgebildeter Funktionsäußerungen begründet liegen, speichern die erhaltene Energie auf, um sie allmählich durch Produktion spezifischer Reaktionskörper abzugeben. Durch einzelne, in die Ernährung der Zellen störend eingreifende Prozesse wird der Dissimilationsvorgang beschleunigt, indem sich die cellulären Vorgänge nur noch auf den vitalen Bestand der Zelle konzentrieren. Es wird so nur in wenigen Fällen vollkommen gelingen, durch Nahrungsentziehung und ähnliche eingreifende Prozesse die Fähigkeit, spezifische Reaktionselemente abzusondern, vollständig aufzuheben.

Ein weibliches, mausgraues, mittelkräftiges Kaninchen erhält 3 ccm einer 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung intravenös. Vor der Injektion lösen 0.5 ccm des Kaninchenserums 1 ccm Ochsenblut nicht auf. Am Tage vor der Immunisierung wird das Tier in einem Stoffwechselkäfig untergebracht und erhält 7 Tage lang kein Futter; danach zeigt es eine Gewichtsabnahme von 240 g.

Am 4. Tage nach der Injektion lösten 0.3 ccm des inaktivierten Kaninchenserums bei Zusatz von normalem Meerschweinchenserum als Komplement 1 ccm einer 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung fast vollständig auf. Am 9. Tage nach der Einspritzung war eine Menge von 0.5 ccm des inaktivierten Kaninchenserums zur völligen Auflösung von Ochsenblut im stande; es war demnach durch die Nahrungsentziehung eine Schwächung der Ambozeptoren bildenden Zellen eingetreten. Neben der Abnahme der Produktion der hämolytischen Immunkörper konnte auch in einem ähnlichen Versuche eine Abnahme der Komplementsekretion konstatiert werden.

III. Einfluß sehr tiefer Temperaturen auf Ambozeptor und Komplement.

Während die Untersuchungen über die Empfindlichkeit der Immunisierungsprodukte und der natürlichen Schutzstoffe im Serum gegen höhere Temperaturen zu einem gewissen Abschluß gediehen sind und zur Entdeckung thermolabiler wie thermostabiler Reaktionselemente geführt haben, fehlten bisher Untersuchungen über das Verhalten einzelner Schutzkörper gegen tiefe Temperaturen. Unsere bisherigen Untersuchungen beschränkten sich auf den Nachweis, daß bei Temperaturen von 0° und darunter eine Auflösung roter Blutkörperchen nicht mehr stattfindet, daß also die Wirkungssphäre der Komplemente durch diese Temperatur gehemmt wird, während der Bindungsvorgang bestehen bleibt.

Es war nun weiter zu untersuchen, ob sehr tiefe Temperaturen, wie sie durch Verwendung von flüssiger Luft erzielt werden können, eine Veränderung der einzelnen Schutzkörper herbeiführen können.

Wir wissen durch die Experimente von d'Arsonval¹⁾, daß auf die Enzyme Temperaturgrade von -50° nicht einwirken, erst bei -100° soll so Invertase keine Wirksamkeit mehr äußern, während andererseits Hefe bei diesen Temperaturen nicht beeinträchtigt wird. Nach Untersuchungen von Pozersky²⁾ soll eine Temperatur von -190° die Enzyme nicht dauernd schädigen.

1) d'Arsonval, Compt. rend. soc. biol. T. XLIV. 1892.

2) Pozersky, Compt. rend. soc. biol. T. LII. 1900.

Die Experimente von Macfadyen¹⁾, der verschiedene Bakterien längere Zeit hindurch den Temperaturgraden der flüssigen Luft aussetzte, lehrten, daß die vitalen Eigenschaften der Bakterien hierbei vollkommen erhalten blieben, sowohl war ihr Wachstum auf künstlichen Nährböden ebenso intensiv ausgeprägt wie vor der Einbringung in flüssige Luft, als auch war ihre Agglutinationsfähigkeit und Tierpathogenität dieselbe geblieben.

Der intracelluläre Stoffwechsel soll nach der Ansicht Macfadyens bei diesen tiefen Temperaturen sistiert sein und daher sämtliche vitalen Qualitäten erhalten bleiben.

Auch Verf. konstatierte bezüglich des Dysenterie- und Typhusbacillus, daß dieselben nach längerem Verweilen in flüssiger Luft (ca. -190°C) im allgemeinen ihre vitalen Eigenschaften nicht einbüßten, wenn auch nur eine geringe Anzahl von Keimen ihre Wachstumskraft behielt. Die Agglutinierbarkeit einer einige Stunden in den Temperaturen der flüssigen Luft gehaltenen Dysenteriekultur war die gleiche geblieben wie vor dem Gefrierenlassen.

Agglutininhaltiges Serum büßte nach meinen Versuchen bei Gefrieren in flüssiger Luft seine Fähigkeit, Dysenterie- oder Typhusbacillen zu agglutinieren, nicht ein.

Die Untersuchungen über die Einwirkung dieser tiefen Temperaturen auf ein Immunkörper enthaltendes und mit Komplementen versehenes normales Serum ergaben nach folgender Tabelle diese Resultate:

Einem weiblichen, grauen Kaninchen, 1910 g schwer, werden etwa 6—7 ccm einer 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung intravenös injiziert. Vor der Einspritzung lösten 0,3 und 0,5 ccm des Kaninchenserums Ochsenblut nicht auf. Nach 14 Tagen erfolgte eine neue Injektion von 6 ccm defibrinierten Ochsenblutes intravenös. Drei Tage darauf löste das Kaninchenserum in einer Menge von 0,3, 0,1 und 0,08 ccm 1 ccm einer 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung prompt auf.

Das für Ochsenblutkörperchen eingestellte Kaninchenimmenserum wurde 10—15 Minuten einer Temperatur von ca. -190°C ausgesetzt; danach lösten 0,5, 0,3 und 0,1 ccm des wieder aufgetauten Serums 1 ccm der 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung prompt; bei 0,08 ccm Serumzusatz war eine leichte Abschwächung der hämolytischen Kraft zu konstatieren.

Wurden zu je 0,3 ccm des inaktivierten hämolytischen Serums, das ca. $\frac{1}{4}$ Stunde in flüssiger Luft gehalten war, fallende Mengen normalen Kaninchenserums als Komplement gebracht, so erfolgte wiederum komplette Hämolyse.

Wurden zu je 0,3 ccm des inaktivierten hämolytischen Serums fallende Mengen normalen Kaninchenserums (als Komplement), das $\frac{1}{4}$ Stunde lang in flüssiger Luft aufbewahrt war, zugesetzt, so trat in zwei Fällen eine vollständige Lösung ein; in einem Falle war bei geringeren Dosen von Komplementzusatz eine leichte Abschwächung der Komplemente nachzuweisen.

In einem weiteren Versuche, in dem das Serum eines mit Hammelblutkörperchen immunisierten Kaninchens verwandt wurde, waren ähnliche Resultate zu konstatieren.

Nach diesen Ergebnissen kommen wir zu diesen Folgerungen: Normales, komplementhaltiges Serum wird durch die Temperaturen der flüssigen Luft, denen es kürzere Zeit — 10 Min. bis $\frac{1}{2}$ Stunde — aus-

1) Macfadyen, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1903.

gesetzt ist, so gut wie nicht beeinflusst. Wenn in einem Falle eine geringe Beeinträchtigung der komplementativen Fähigkeit des Serums sich nachweisen ließ, so war diese wahrscheinlich durch längeres Stehenlassen der Sera bei Zimmertemperatur veranlaßt. — Wurde das inaktivierte Serum diesen Temperaturgraden ausgesetzt, so ergab sich ebenfalls keine stärkere Schädigung der Ambozeptoren. — Danach scheinen Ambozeptoren und Komplement durch Temperaturen von etwa -190° C nicht zerstört zu werden.

Nachdruck verboten.

Zur Technik der Serumgewinnung.

[Aus dem chemisch-bakteriolog. Institute von Dr. Ph. Blumenthal in Moskau.]

Von Dr. J. Bronstein, Moskau.

Mit 2 Figuren.

Im folgenden erlaube ich mir, allen denjenigen, welche sich mit der Immunisierung von großen Tieren behufs Gewinnung von Heilseren beschäftigen, einige Apparate zu empfehlen, die infolge der von mir vorgenommenen Vereinfachung ihrer Konstruktion sich in der Praxis aufs beste bewährt haben.

I. Apparat für intravenöse Injektionen.

Wie aus der Zeichnung No. 1 ersichtlich, stellt dieser Apparat eine Modifikation der Carinischen Vorrichtung dar (siehe Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXVI. 1904. p. 318). Die zu injizierende Kulturflüssigkeit (resp. Emulsion) wird durch den mit einem Hahn versehenen Trichter (a) eingegossen, wonach der Hahn geschlossen wird; die mit einem Wattebausch versehene Röhre (b) dient zum Hinüberleiten des Luftstroms und kann, falls der Druck innerhalb des Gefäßes gesteigert werden soll, mit einem Richardsonschen Gebläse verbunden werden. Der untere Teil (c) endet mit einer Olive, an welcher eine Kautschukröhre mit Hohnadel befestigt wird. Der äußere Cylinder (d) stellt einen Mantel dar, welcher die Kulturflüssigkeit während der ganzen Dauer der Infusion auf Körpertemperatur erhält, zu welchem Zweck in das Innere desselben warmes Wasser hineingegossen wird. Die gesamte Vorrichtung wird in beliebiger Höhe über dem Kopfe des Pferdes aufgehängt. Die weiteren Details sind allbekannt.

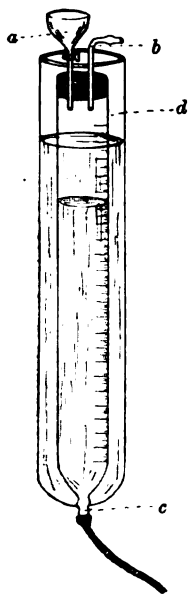


Fig. 1.

II. Gefäß zur Blutentnahme.

Die Konstruktion desselben erhellt ebenfalls zur Genüge aus der Zeichnung No. 2. Es besteht aus einem Cylinder mit zwei Tubuli (a und b), welche beide kurze, durch Wattestopfen geschlossene Gummiröhren tragen; die obere Oeffnung des Cylinders erhält

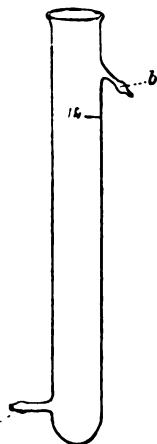


Fig. 2.

entweder einen Watteverschluß, ein Gummihütchen oder wird mit Papier u. dergl. umwickelt. In dieser Gestalt wird die gesamte Vorrichtung im Autoklaven sterilisiert.

Bei der Blutentnahme wird die in die Vena jugularis des Pferdes eingestochene Hohnadel mit einer Kautschukröhre versehen, welche ein Endstück aus Glas trägt; dieses wird in die Gummiröhre des unteren Tubulus (nach Entfernung des Wattestopfens) eingeschoben und das von unten nach oben einfließende Blut bis zum Strich (1 l) gesammelt. Hiernach wird die Kautschukröhre durch einen Quetschhahn geschlossen, der Cylinder entfernt, ein anderer mit der Vene in Verbindung gesetzt u. s. w. Das abgeschiedene Serum wird nun durch den oberen Tubulus abgossen, nachdem man ihn unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln mit irgend einem Auffanggefäß (einer Wulfschen Flasche oder dergl.) verbunden hat. Die Vorzüge des beschriebenen Apparates bestehen in folgendem: 1) die Einfachheit der Konstruktion bürgt vollkommene Asepsis bei der Handhabung des Apparates; 2) das Auffangen des Blutes, sowie das Abgießen des Serums geschieht äußerst leicht, einfach und ohne Hilfe von irgend welchen Nebenvorrichtungen, wie Syphons u. s. w.; 3) die Füllung des Gefäßes mit Blut geht von unten nach oben vor sich, was beim Fehlen jeglichen Schaumes die Möglichkeit gewährt, das Serum leichter zu gewinnen, da auch die Gerinnung sich gleichmäßig vollzieht.

Die beschriebenen Apparate wurden von mir im Laufe von 1½ Jahren ungefähr bei 200 Blutentnahmen (teilweisen und maximalen) in Anwendung gezogen, wobei mittels derselben ca. 2000 l Blut gewonnen worden sind. Dieser Umstand beweist wohl zur Genüge den praktischen Wert der empfohlenen Vorrichtungen.

Nachdruck verboten.

Kalium tellurosum in der Medizin und Hygiene.

[Aus dem chemisch-bakteriolog. Laboratorium von Dr. S. Serkowski in Lodz.]

Von Roman Gloger.

Wie bekannt, bilden Bakterien auf vitalistischem Wege oder mittelst der Produkte ihres Stoffwechsels aus den Nährböden verschiedene chemische Körper, wie Kohlensäure, Wasserstoff, Methan, Schwefelwasserstoff, Ammoniak u. s. w., und weiter verursachen Bakterien die mannigfaltigsten Fermentationen, nehmen aktiv an solchen Erscheinungen, wie Oxydation, Reduktion, Nitrifikation teil; endlich verändern sie die Reaktion des Nährbodens. Die Bakteriologie bedient sich dieser und anderer Lebensäußerungen der Mikroorganismen zwecks deren Differenzierung, die Mittel aber, die sie zum Nachweis dieser oder jener Produkte gebraucht, nennt sie Indikatoren. Die Zahl der letzteren ist sehr groß; hier wollen wir Bleiacetat, Gelatine mit weinsaurem Eisen, Isatinschwefelsäure, Lackmusmolken, Lackmus, Methylenblau, Rosolsäure, die bioskopische Methode, Neutralrot, Eisenchlorid, Kalium ferrocyanatum, Indigokarminsalz u. v. a. nennen. Jede dieser Verbindungen dient unmitttelbar, oder dem Nährboden beigemischt, zum Nachweis dieses oder jenes Produktes.

Seit längerer Zeit arbeite ich über die Anwendung von Indikatoren und hauptsächlich von Kalium tellurosum für ärztliche und hygienische Zwecke; dabei bin ich in letzten Tagen zwei Aufsätzen von B. Gosio¹⁾ mit ähnlichem Thema begegnet; der Unterschied der Resultate, zu denen wir gelangt sind, sowie manche von Gosio unberücksichtigt gebliebenen Fragen veranlassen mich, die Ausgangspunkte und Resultate meiner Arbeit zu veröffentlichen.

In der letzten Zeit hat man die Zahl der Indikatoren durch Natrium- und Kaliumtellurit und -selenit (Scheurlen-Klett) vermehrt. Beiden letzteren mißt Gosio eine viel größere Rolle bei; er hält sie „fast immer“ für ein selbständiges Mittel, um das Vorhandensein von lebendigen und virulenten Bakterien in der zu untersuchenden Substanz festzustellen, für Indikatoren des Bakterienlebens überhaupt, die mit schwarzem (Tellurit-) oder rotem (Selenit-) Niederschlag bedeckt werden. Seine Hauptanwendung kann Kalium tellurosum nach Gosio bei der Vorbereitung von Pestvaccinen²⁾ finden, in denen die genannte Verbindung in minimaler, weder für Bakterien noch für den Menschenorganismus schädlicher Dose (1:100 000—200 000) nachweist, ob sämtliche Pestbacillen getötet worden sind und ob keine zufällige Verunreinigung mit Bakterien überhaupt von außen eingetreten ist. In dieser Doppelbeziehung behält Kalium tellurosum seine Wirksamkeit als biologischer Indikator viele Monate hindurch. Die von Gosio berührte Frage betr. die Auffindung eines Indikators für das Vorhandensein von lebendigen Bakterien aller Art ist ohne Zweifel von höchster Wichtigkeit und sehr aktuell. Wenn wir solch einen Indikator besäßen, könnte man ihn nicht bloß für die von Gosio genannten Zwecke (bei antipestischen und anderen Vaccinen, Feststellung der Sterilität von Nährböden und des Lebens oder Abgestorbenseins der Bakterien, Anwendung bei Nahrungsmitteln und Konserven für die Bestimmung der Dauerhaftigkeit derselben) anwenden, sondern auch für viele andere Zwecke, wie z. B. die Kontrolle der Wirksamkeit der Desinfektionskammern, der Desinfektion, die Kontrolle der desinfizierenden Instrumente und Flüssigkeiten, der Wasserfilter, Feststellung einer Bakteriurie, der Sterilität des Blutes und der Säfte des Organismus u. s. w.

Meine Beobachtungen über das Verhalten des Kalium tellurosum in anticholerischen Vaccinen, in Reinkulturen der unten zu nennenden Bakterienarten, endlich in sterilen oder sterilisierten Nährböden führen mich aber zu anderen Schlüssen, nämlich:

1) Die Bildung einer dunklen Verfärbung und eines Niederschlages in Nährböden und Flüssigkeiten unter dem Einfluß des Kalium tellurosum findet nur unter Teilnahme solcher Bakterien statt, welche aus den organischen Verbindungen des Nährbodens den Schwefelwasserstoff absondern; die genannte Erscheinung kann mit der Wirkung des letzteren auf die Tellurverbindungen und mit deren Reduktion erklärt werden. Die Ausscheidung von Schwefelwasserstoff kann Resultat des Bakterienlebens, ein vitalistischer Prozeß, sein oder auch von deren Stoffwechsel abhängen. Gosio erwähnt nichts über den Einfluß des Schwefelwasserstoffs auf die besprochene Erscheinung, die er mit der Absonderung von metallischem Tellur in Zusammenhang bringt, wobei es sich indessen um Tellursulfid handelt.

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1905.

2) Serkowki, S., Epidemiologie und Prophylaxis der Cholera. 2. Aufl. 1905. p. 43.

2) Der ausfallende graue, braune oder schwarze Niederschlag hängt nicht nur von der Sättigung des gebrauchten Kaliumtellurit ab, sondern auch von den Eigenschaften der zu prüfenden Kultur¹⁾, von der Reaktion und Zusammensetzung des Nährbodens. Kalium tellurosum gibt keine Reaktion in Gegenwart von latenten, wenn auch lebendigen Bakterien, und eben dieser Umstand verringert die Anwendung dieses Mittels.

Betreffs der anticholerischen Vaccine bildet das Vorkommen von lebendigen Vibrionen in ihr keine Gefahr, weil diese unter der Haut und im Blute rasch zu Grunde gehen.

3) Ich habe wiederholt die Reaktion mit Kalium tellurosum mit folgenden Kulturen in flüssigen und festen Nährböden, in Probierröhrern und Platten festgestellt: *Vibrio cholerae asiaticus*, *Proteus vulgaris*, *Bact. coli commune*, *Bact. typhi abdominalis*, *Vibrio Metschnikowi*, *Bact. anthracis*, *Bact. tetani*, *botulinus*, *subtilis*, *Vibrio berolinensis*, *phosphorescens*, *Bact. cholerae gallinarum*, *B. lactis aërogenes*, *B. cyanogenes* (schwache Reaktion), *B. fluorescens non liquefaciens* (schwache Reaktion), *B. proteus Zopfi*, *B. typhi murium*, *B. pyocyaneus*, *Sarcina lutea*, *Bact. paratyphi*, *Bact. suipestifer*, *B. suisepiteticus*, *B. rubefaciens*, *B. pyogenes*, *Micrococcus pyogenes aureus*, *citreus*.

Sämtliche oben erwähnten Bakterien geben mit Kalium tellurosum positive, mehr oder weniger deutliche Resultate.

Positive Reaktion geben auch: *Penicillium glaucum*, *Oidium albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor mucedo*.

4) Negative Resultate habe ich bei folgenden erhalten: *B. tuberculosis hominis*, *B. pseudotuberculosis Pfeiffer*, *B. lactici*, *Spirillum rubrum*.

Außerdem haben *Bact. diphtheriae*, *pseudodiphtheriae* in der ersten Periode (während einer Woche) ihrer Entwicklung mit Kaliumtellurit negatives Resultat gegeben.

Deshalb kann ich mich keineswegs mit der Meinung Gosios einverstanden erklären²⁾: „Die Zersetzung des Kaliumtellurits zeigt sich bei der großen Mehrheit der verschiedenen Mikrobeklassen, so daß man in diesem Fall von einer allgemeinen Regel sprechen kann. Wenn sich Ausnahmen konstatieren lassen, so beeinträchtigt dies den praktischen Zweck, den die Methode verfolgt, nicht weiter, weil wir im allgemeinen nur einen Anzeiger gewöhnlicher Verunreinigungen suchen.“ „Flüssigkeiten, in welchen sich keine Spur von Bräunung bemerken läßt, würden als steril zu betrachten sein, auch wenn sie trübe wären.“

Wie man sieht, stimmen meine Resultate nicht vollständig mit denen Gosios überein, der manchmal starke Reaktion, wo ich eine schwache, schwache oder mittelmäßige da, wo ich keine Reaktion erzielte, was wahrscheinlich von ungleichen und wechselnden Beschaffenheiten der Kulturen und Nährböden abhängt.

Ich führe unten eine Tabelle an, in der man Gosios Resultate mit den meinigen vergleichen kann und in der ich die H₂S-ausscheidenden Bakterien nenne³⁾. Der beständige Zusammenhang zwischen der positiven Reaktion und der H₂S-Ausscheidung bestätigt meine These, daß

1) Z. B. bildet sich nicht in allen Stämmen *B. coli commune ceteris paribus* ein gleicher Niederschlag.

2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LI. 1905. Heft 1. p. 76, 124.

3) Siehe Bakteriologische Diagnostik von Dr. Teisi Matzuschita.

diese Reaktion in Gegenwart von lebendigen Bakterien in jenen Fällen stattfindet, wo die Bakterien den Schwefelwasserstoff aus den organischen Verbindungen des Nährbodens absondern.

Tabelle I.

Name der Bakterienart	Reaktion mit Kalium tellurosum		H ₂ S
	in Gosios Experimenten	in den meinigen	
Staphylococcus pyog. aureus	stark	stark	+
" " citreus	"	"	+
" " albus	schwächer	"	+
B. pyocyaneus	"	mittelmäßig	+
B. prodigiosus	"	schwach	± (Spuren)
B. syncyanus (cyanogenus)	"	"	+
B. subtilis	"	stark	+
B. acidi lactici	"	negativ	—
B. coli commune	"	stark	+
B. typhi abdominalis	"	"	+
B. aquatilis	stark	{ manche positiv, } und + { andere negativ } und —	Spuren
B. mesentericus vulgaris	"	nicht geprüft	+
Proteus vulgaris	"	stark	+
B. pyogenes foetidus	"	nicht geprüft	{ De Bary + { Matzschita — unbekannt
B. megatherium	"	" "	+
B. ozaenae	"	" "	+
B. cholerae gallinarum	"	stark	?
Streptothrix lingualis	"	nicht geprüft	?
" odorifera	"	" "	+
B. suisepticus	"	mittelmäßig	+
B. suipestifer	"	stark	+
Vibrio cholerae asiaticae	"	stark!	+
" Metchnikow	"	" "	+
" berolinensis	nicht geprüft	mittelmäßig	+
" phosphorescens	stark	stark	+
B. mallei	"	nicht geprüft	+
Vibrio tyrogenes	"	" "	?
B. cubonianus	"	" "	+
B. fluorescens liquefaciens	"	" "	?
B. luteus	"	" "	+
B. fluorescens non liquefac.	nicht geprüft	stark	+
B. proteus Zopfi	" "	mittelmäßig	+
B. typhi murium	" "	stark	+
Sarcina lutea	stark	stark	+
Micrococcus rosaceus	"	nicht geprüft	?
B. violaceus	"	mittelmäßig	+
Penicillium glaucum	"	stark!	+
Mucor mucedo	"	stark	+
Penicillium breviculare	"	nicht geprüft	+
Aspergillus varians	"	" stark "	+
" fumigatus	"	" stark "	+
" flavescens	"	nicht geprüft	+
" niger	"	stark	+
B. tetani	"	"	+
B. oedematis maligni	"	nicht geprüft	+
B. botulinus van Ermengem	nicht geprüft	stark	+
B. rubefaciens	" "	schwächer	+

Der Reihe nach wollen wir zu den pathogenen und anderen Bakterien übergehen, bei denen Kaliumtellurit mir keine Reaktion gegeben hat. Es sind dies:

Tabelle II.

Name	Resultate nach		H ₂ S
	Gosio	Gloger	
B. tuberculosis hominis	} wenig intensiv, aber bemerkbar	negativ	—
B. tuberculosis avium		"	—
B. diphtheriae		"	Spuren
B. pseudodiphtheriae		"	"
B. pseudotuberculosis Pfeiffer		"	"
B. acidi lactici		stark	"
Spirillum rubrum	nicht geprüft	"	—

Wir sehen also, daß alle Bakterien, die Kaliumtellurit reduzieren, sich gleichzeitig durch Schwefelwasserstoffausscheidung kennzeichnen.

Die bei uns nach Kollé vorbereitete Vaccine hat, mit Kaliumtellurit zusammengemischt, keine Reaktion ergeben; die letztere trat aber ganz deutlich hervor, wenn die Vaccine ungenügend sterilisiert wurde, oder wenn man der sterilen Vaccine 1 Oese der Reinkultur der choleraischen Vibrionen beigemischt hat.

Da sämtliche obigen Bakterien der H₂S-erzeugenden Gruppe angehören, die Fähigkeit der Bakterien, H₂S zu bilden, aber sehr verbreitet ist, was jedoch nicht bloß von den Bakterien selbst, sondern auch von der Zusammensetzung des Nährbodens, von organischen, im Nährboden befindlichen Schwefelverbindungen (Morris-Stagnitta) abhängt, so muß der Nährboden auf die Resultate der Reaktion einen quantitativen und qualitativen Einfluß ausüben. Dieser Umstand beschränkt auch bedeutend die Anwendung von Kaliumtellurit als Anzeiger, da das Fehlen der Reaktion keine absolute Garantie betreffs der Sterilität der Vaccine entgegen Gosios Behauptung gibt.

Außer dem durch Bakterien ausgeschiedenen H₂S kann die Reduktion der Tellurverbindungen auch ohne Teilnahme der Bakterien stattfinden, z. B. unter dem Einfluß von SO₂, SCl₂, FeSO₄ und Zn; Bleisalze fallen das schwer wasserlösliche Bleitellurit aus. Auch kann dieselbe Erscheinung ohne Teilnahme der Bakterien, bloß unter dem Einfluß der Aenderung der physischen Bedingungen (anhaltende Erwärmung) stattfinden, auch in allen Fällen, wo bei der Entstehung unter aseptischen Bedingungen des Schwefelwasserstoffs und Anhydrids der schwefeligen Säure die Reduktion des Kaliumtellurits eintritt, was sogar durch die Zugabe von Lauge (KOH) nicht geändert wird.

Obleich die obigen Angaben den Rahmen der Anwendung von Kaliumtellurit als Indikator der Gegenwart von Bakterien bedeutend beschränken, soll diese Verbindung laut Gosios These durchaus angewendet werden bei der Vorbereitung von Vaccinen und Sera, nämlich, weil: a) sie ermöglicht, das Vorhandensein von lebendigen und virulenten Pestbacillen, Cholera-vibrionen und sehr vielen, obgleich nicht allen Bakterienarten nachzuweisen; b) die Aenderungen, die ohne Teilnahme der Bakterien eine Reduktion der Acidum tellurosum-Verbindungen und die Bildung eines schwarzen Niederschlages in den Vaccinen und Sera verursachen können, zeigen den Zerfall von Protein- und Eiweißkörpern und die Untauglichkeit der entsprechenden Vaccine oder des Serums an. Eine große Menge von Aëroben und Anaëroben kann mittelst des Kaliumtellurits nachgewiesen werden; doch gibt es viele solche, unter denen auch pathogene (B. tuberculosis u. a., s. oben), die aus dem

Nährboden keine die Tellurverbindungen reduzierenden Produkte ausscheiden. Deshalb sind trotz Gosio Kalium tellurosum und die aseptische Technik außer stande, ein antiseptisches Mittel in den Vaccinen zu ersetzen. Deshalb lassen sie sich nicht zu allen oben genannten verschiedenartigen Zwecken gut anwenden (nicht z. B. zur Prüfung der Konserven, der Funktion der Filter, der Sterilität der Nährböden, der Bakteriurie), sondern bloß zu einigen, wie zur Prüfung, ob Kulturen, die früher reduziert und die Reaktion gegeben hatten, nicht abgestorben sind, oder ob in der betreffenden Substanz H_2S -ausscheidende Bakterien vorhanden sind. Um zu bestimmen, ob und in welchen Grenzen Kalium tellurosum für die Bakteriendifferenzierung angewendet werden kann, habe ich eine Reihe verschiedenartiger Prüfungen ausgeführt. Auf festen Nährböden (in Platten) wurden bloß die Kolonien der H_2S -ausscheidenden Bakterien schwarz, andere haben ihre Farbe nicht gewechselt; schwache Kaliumtelluritlösung wurde zwar gleichmäßig in den Platten mit verschiedenartigen Kolonien schwarz, blieb aber noch so durchsichtig, daß schwarz gewordene Kolonien von den unveränderten immer unterschieden werden konnten.

Für die Zwecke der Bakteriendifferenzierung sowohl auf den Platten, als auch in Probierrgläsern hat also Kalium tellurosum keinen größeren Wert, als alle anderen betreffenden Indikatoren.

Zur Prüfung von Desinfektionskammern kann Kalium tellurosum wegen des physischen Einflusses der hohen Temperatur nicht angewendet werden; bei der Prüfung der Wirkung der Desinfektionsmittel kann Kalium tellurosum in einer H_2S -ausscheidenden, in einem nicht durch hohe T° zu desinfizierenden Raum gestellten Kultur (besonders in *Proteus*-Kultur seine Anwendung finden, wenn das Desinfektionsmittel selbst keine Reduktion des Kaliumtellurits verursacht. Eine geringe Bedeutung hat diese Methode bei der Untersuchung einer Bakteriurie, weil die Reaktion erst nach mehreren Tagen eintritt, und Bakterien, nachdem sie sich im Harn schon außerhalb des Organismus vermehrt hatten, die positive Reaktion sogar in solchen Fällen geben können, wo keine wirkliche Bakteriurie besteht.

Die Prüfung der Sterilität der Nährböden und der Mittel zu subkutanen Injektionen durch Zugabe von Kalium tellurosum-Lösung während deren Vorbereitung läßt sich, trotz Gosio, nicht immer bewerkstelligen wegen der hohen T° bei der Sterilisation der Nährböden, sowie wegen jener chemischen reduzierenden Verbindungen (Flüssigkeiten zu subkutanen Injektionen), welche sich in ihnen befinden.

In Uebereinstimmung mit Gosios Behauptung verstärkt die Zugabe von Traubenzucker die betreffende Reaktion, die noch deutlicher erscheint.

Die Tatsache besteht meiner Meinung nach darin, daß der Zucker unter dem Einfluß der Fermentation in Gegenwart von Bakterien zersetzt wird, dabei Milch und Aethyliden-Milchsäure entstehen, die die tellurige Säure verdrängen. Frei gewordener TeO_2 (Anhydrid der tellurigen Säure) wird zum Te oder TeS in Gegenwart des durch Bakterien aus dem Nährboden ausgeschiedenen Schwefelwasserstoffes.

Ich muß noch hinzufügen, daß die Reaktion besser hervortritt, wenn die geprüfte Flüssigkeit (resp. antipeptische und -cholerische Vaccinen) in den Thermostaten gestellt wird; bei 37° findet die Reaktion eher und reichlicher statt, als bei Zimmertemperatur.

Man muß nicht vergessen, daß die Aufbewahrungsweise der Vaccinen

und Sera in der Praxis gerade umgekehrt ist; sie werden an kalten Orten aufbewahrt, bei einer für das Gedeihen der Bakterien, welche in der betreffenden Vaccine latent enthalten werden können, ohne biologische Eigenschaften nur zeitweise zu zeigen, also auch ohne den H_2S auszuscheiden, wenig günstigen T° . Weiter muß man bedenken, daß die Leistungsfähigkeit unseres Reaktives vom Alter der Kultur¹⁾ abhängt, was ebenso Nährböden, wie Vaccine betrifft.

Betreffend die Zeit, Verdünnung und ähnliche Bedingungen der Reaktion kann ich folgendes sagen:

1) Der diese Reaktion charakterisierende Niederschlag (grau, braun, allmählich schwarz werdend) erschien meistens erst den Morgen darauf, den zweiten oder dritten Tag nach der Kalium tellurosum-Zugabe, nicht immer aber entstand er gleich intensiv. Ein *B. coli commune*-Stamm in der Glycerinbouillon gab z. B. einen geringeren Niederschlag als in der gewöhnlichen, ein zweiter verhielt sich in beiden Nährböden gleich.

2) Die höchste von mir gebrauchte Verdünnung war 1:25 000, die niedrigste 1:2500, meistens arbeitete ich mit 1:5000, 1:8000; schon eine 1:25 000-Lösung ist für Tiere unschädlich in dem Sinne, daß sie dieselben nicht tötet.

Bei der Anwendung von Lösungen 1:5000 habe ich einen hemmenden Einfluß derselben auf das Gedeihen des *Bac. anthracis* bei gleichzeitiger positiver Reaktion beobachtet; als weniger empfindlich der Wirkung des Kalium tellurosum gegenüber erwiesen sich die Schimmelpilze, deren Wachstum durch unseren Reaktiv in derselben Verdünnung bei ebenfalls positiver Reaktion nicht gehemmt wurde.

Eine sehr rasche Reaktion entsteht unter dem Einfluß des *Proteus vulgaris*.

Wie wir also aus oben Gesagtem ersehen, kann Kalium tellurosum in der Medizin seine Anwendung finden, als Zugabe zu Vaccinen als Indikator, der oft unerwünschte Aenderungen entweder unter dem Einfluß der Bakterien, oder ohne deren Teilnahme anzeigt; dieser Indikator aber ist nicht so sicher, als daß er Phenol oder anderes Antisepticum in den Vaccinen ersetzen könnte. Das Vorhandensein vieler reduzierender Verbindungen im Harn, in den Säften des Organismus, Arzneien und ähnliches beengt die Grenzen der Anwendung des Kalium tellurosum, das man, leider, den Erwartungen zum Trotz, einen von vielen Indikatoren in der Bakteriologie nennen kann.

Zum Schluß erlaube ich mir, mich beim Herrn Dr. Serkowski für seine Hilfe und werthe Hinweise, die er mir während meiner ganzen Arbeit zu teil werden ließ, herzlich zu bedanken.

Außer oben genannten Quellen habe ich die Handbücher Mendelejew's, Hollemanns (Auf. 1905), Treadwells, Kolle-Wassermann's, Matzschitas, Serkowskis, Günthers und die Encyklopädie Pfeiffer-Proskauers 1905 benutzt.

1) Gosio, Z. f. H. Bd. LI. 1905. p. 92.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten von Streptokokken und Diplokokken auf Blutnährböden.

[Aus der Prosektur der k. k. Krankenanstalt Rudolfstiftung in Wien
(Vorstand Prof. Dr. Richard Paltauf).]

Von Dr. **Siegfried Boxer**, Assistent der gynäkologischen Abteilung.

Mit 1 Figur.

Die Unterscheidung des *Diplococcus pneumoniae* vom *Streptococcus pyogenes* auf Grund der morphologischen und kulturellen Eigenschaften macht oft große Schwierigkeiten, ist sogar bisweilen nicht mit Sicherheit durchführbar, so daß Pneumokokken und Streptokokken oft in einer gemeinsamen Gruppe vereinigt werden. Lehmann und Neumann meinen, „die Abgrenzung des *Streptococcus pyogenes* vom *Streptococcus lanceolatus* erscheint unmöglich, wenn auch die typische Form des *Streptococcus lanceolatus* sich durch Kapseln, lanzettförmige Einzelglieder, Neigung zur Bildung von nur kurzen Ketten unterscheidet“. Auch Weichselbaum betont, daß die kulturelle Unterscheidung des *Diplococcus pneumoniae* von den Streptokokken unter Umständen äußerst schwierig sein kann.

Noch viel schwerer scheint eine strenge Differenzierung von einzelnen Arten in der Gesamtgruppe der Streptokokken durchführbar. Während sich frühere Bestrebungen dahin geltend machten, den bei bestimmten Krankheitsprozessen gezüchteten Streptokokken eine Sonderstellung einzuräumen, erwähnt sei nur der *Streptococcus* des Puerperalprozesses Arloings, der *Streptococcus erysipelatis* Fehleisen u. s. w., neigt neuerdings die Mehrzahl der Autoren der Ansicht zu, daß eine Aufstellung verschiedener Streptokokkenarten nicht anerkannt werden könne. So trennt Lingelsheim zwar nach dem Wachstum in Bouillon 2 Arten, den *Streptococcus longus* mit langen Ketten und den *Streptococcus brevis*, dem er auch den Fränkelschen *Pneumococcus* zurechnet, ab, betont aber, „daß nach dem jetzigen Stand der Ergebnisse an der unitarischen Auffassung der Streptokokken festgehalten werden müsse, da kulturell verschiedene Arten alle möglichen Uebergänge zulassen, andererseits die mit den Streptokokken aus den verschiedensten Prozessen angestellten Tierversuche ergaben, daß es nur auf Virulenz und Infektionsmodus ankam, um einmal Erysipel, ein andermal Sepsis zu erzeugen“. Ganz ähnlich äußern sich Lehmann und Neumann: „Alle Versuche der Autoren, die Formen des *Streptococcus pyogenes* als Arten schärfer zu charakterisieren und mit Namen zu belegen, sind als gescheitert zu betrachten. Zahllose Uebergänge und die enorme Variabilität aller Eigenschaften lassen jedes System als unzureichend erscheinen.“

In der letzten Zeit wurde versucht, mit Hilfe biologischer Methoden eine Trennung für bestimmte Krankheitsprozesse spezifischer Streptokokkenarten durchzuführen. In dieser Richtung wurde z. B. das Ergebnis der Serotherapie beim Scharlach verwertet, indem jenes Heilserum, welches mit Streptokokken des Scharlachs gewonnen wird, nur diesen Krankheitsprozeß beeinflußt, und wurde auch mehrfach (gerade beim Scharlach) die Agglutination der Streptokokken herangezogen, ohne daß

die einschlägigen Untersuchungen bisher zu übereinstimmenden und eindeutigen Resultaten geführt hätten.

Der Grund für diese immer wieder hervortretenden Bestrebungen, für die aus verschiedenen Krankheitsprozessen gewonnenen Streptokokken auch bestimmte kulturelle Eigenschaften festzulegen, liegt wohl in den tatsächlich bestehenden, oft beträchtlichen Schwankungen einzelner morphologischen Eigenschaften, wie Länge der Ketten, Größe der Einzelindividuen und der Kolonien.

War es nun mit den bisher zur Verfügung stehenden Methoden nicht möglich, feststehende Unterschiede zwischen den kulturell scheinbar einheitlichen und in ihrer pathogenen Wirkung so verschiedenen Streptokokken aufzufinden, mußten Untersuchungen Schottmüllers um so bedeutungsvoller erscheinen, der auf Grund des Verhaltens von Streptokokken und Diplokokken auf Blutnährböden nicht nur diese untereinander, sondern auch verschiedene Typen der Streptokokken unterscheiden zu können glaubte.

Schottmüller bediente sich hierbei folgenden Nährbodens:

Agar wurde verflüssigt, auf 45° abgekühlt und nun mit defibriertem Menschenblut, und zwar 5 Teile Agar mit 2 Teilen Blut innig vermengt, das Gemisch in eine Petrischale ausgegossen und nach dem Erstarren mit dem entsprechenden Material bestrichen oder eine Schüttelkultur angelegt, d. h. in das noch flüssige Agar-Blutgemisch der betreffende Stamm eingetragen und ausgegossen, um das Wachstum in der Tiefe beobachten zu können.

Die Wachstumsverschiedenheiten auf diesem Nährboden veranlassen ihn nun, 3 Arten von Streptokokken zu unterscheiden:

- a) den *Streptococcus erysipelatis* seu *vulgaris*,
- b) den *Streptococcus mitior* seu *viridans*,
- c) den *Streptococcus mucosus*.

Gruppe a. Die hierher gehörigen Stämme wiesen einen hellen Hof um die einzelnen Kolonien resp. in der Umgebung des Rasens auf. Im Bereiche dieses Hofes ist die durch den Blutfarbstoff bedingte Farbe des Nährbodens geschwunden, derselbe besitzt vielmehr die gewöhnliche gelbe Farbe des Agars und ist vollkommen durchsichtig. In vielen Hunderten von Fällen von Erysipel und seinen Komplikationen, immer bei Phlegmonen, Sepsis, Puerperalinfektionen, Empyemen, Scharlach u. s. w. fand er diese Eigenschaft des *Streptococcus* als konstant.

Gruppe b. In einer kleineren Anzahl von Fällen, und zwar bei gewissen Endocarditiden sowie bei verschiedenen Erkrankungen der Mund-Rachenhöhle und des Darmtraktes, fand er Streptokokken, deren Kolonien diese makroskopisch sichtbare Resorption des Blutfarbstoffes nicht aufwiesen, dagegen aber auf der Oberfläche und in der Tiefe des Blutagars eine grüne Färbung zeigten. Wegen des mehr milden Verlaufs der durch sie hervorgerufenen Krankheiten schlug er den Namen *Streptococcus mitior* vor.

Gruppe c. 7mal (davon 3mal bei Meningitis purulenta) züchtete er Streptokokken, die sich durch ein schleimiges, grünes Wachstum auszeichneten.

Als Charakteristika des *Diplococcus* auf dem Blutagar bezeichnet Schottmüller das Wachstum desselben auf der Oberfläche der Platte in Form eines dunkelgrünen, üppigen, saftigen Rasens, während in der Tiefe die Kolonien schon nach 24 Stunden als schwarzgrüne Pünktchen sichtbar sind, die nach einigen Tagen Linsengröße erreichen.

Diesen Untersuchungen zufolge wäre es mit Hilfe einer relativ einfachen Technik möglich, verschiedene Arten von Streptokokken zu unterscheiden, und wir entschlossen uns umso eher zu einer Nachprüfung dieser Angaben, als auch in unserem Institute bereits seit langer Zeit Blutnährböden zur Differenzierung der Pneumokokken mit gutem Erfolge verwendet wurden.

I.

Wir bedienen uns hierzu des von *Voges* angegebenen Nährbodens, den wir in der Weise bereiten, daß zu dem auf 100° erhitzten Agar einige Tropfen sterilen defibrinierten Pferdeblutes zugesetzt werden und das abgekühlte Gemisch in Petrischalen ausgegossen wird. Schon gelegentlich der lokalen Influenzaepidemie im Jahre 1899, über welche der Vorstand des Institutes, Herr Professor *Paltauf*, berichtete, konnte Herr Dr. C. *Sternberg* die Beobachtung machen, daß Diplokokken auf diesem Nährboden eine charakteristische Veränderung hervorrufen, indem der ganze Nährboden im Bereiche des Rasens und auch stellenweise über denselben hinaus in seiner ganzen Dicke intensiv eigelb verfärbt ist, so daß der Bakterienrasen oft gar nicht sichtbar ist. Durch dieses kulturelle Verhalten unterscheidet sich der *Diplococcus pneumoniae* von allen übrigen Mikroorganismen, insbesondere auch von Streptokokken. Von diesem eigenartigen Wachstum auf dem *Voges*-Nährboden konnten wir uns im Laufe der Jahre bei zahllosen Untersuchungen stets von neuem überzeugen.

Bei nachträglicher Durchsicht der Literatur fanden wir, daß *Gilbert* und *Fournier* schon im Jahre 1896 als charakteristisch für das Wachstum der Diplokokken eine gelbe bis schokoladebraune Verfärbung von Blutnährböden hervorhoben.

Indem wir nun gelegentlich der Nachprüfung der *Schottmüller*-schen Versuche zugleich auch das Verhalten von Streptokokken und Diplokokken auf dem *Voges*-Nährboden systematisch untersuchen wollten, mußten wir die Versuchsanordnung *Schottmüllers* in dreifacher Richtung erweitern.

Schottmüller verwendete, wie erwähnt, Menschenblut, das er dem auf 45° C abgekühlten Agar in dem Verhältnis von 2:5 zusetzte. Zum *Voges*-Agar verwendeten wir Pferdeblut, das dem 100° C Agar in wesentlich geringerer Menge (einige Tropfen) zugesetzt wurde. Um die verschiedenen, sich ergebenden Kombinationen für jeden zu untersuchenden Stamm durchzuprüfen, mußten wir daher in jedem Falle 8 verschiedene Nährböden bereiten und zwar, indem wir sowohl vom Menschenblut als vom Pferdeblut dem auf 45° abgekühlten, sowie dem auf 100° C erhitzten Agar einige Tropfen Blut (nach *Voges*) bzw. eine größere Blutmenge (Verhältnis 2:5 nach *Schottmüller*) zusetzten.

Auf diese Weise wurden im ganzen 47 Streptokokkenstämme und 22 Diplokokkenstämme untersucht. Wir verwendeten Stämme, wie sie uns das laufende Material, das den verschiedensten Krankheitsprozessen entstammte, ergab. Von den Streptokokkenstämmen stammten

11 Stämme aus dem Eiter von Abscessen verschiedener Organe (Mamma, Lymphdrüsen u. s. w.),

8 Stämme aus dem Eiter von Phlegmonen (darunter 3mal nach Erysipel),

2 Stämme aus dem Blut bei Sepsis puerperalis,

1 Stamm aus dem Blut bei Endocarditis (Chorea),

- 1 Stamm von einer Endocarditis der Valvula mitralis,
- 1 Stamm aus dem Blut bei Endocarditis,
- 1 Stamm aus dem Blut eines an Tuberkulose Gestorbenen,
- 1 Stamm aus dem Harn bei Septikämie,
- 1 Stamm aus der Milz bei Septikämie,
- 1 Stamm aus einer eitrigen Meningitis,
- 5 Stämme aus eitriger Arthritis,
- 2 Stämme aus eitriger Pleuritis,
- 1 Stamm aus einer eitrigen Pericarditis,
- 2 Stämme aus eitriger Peritonitis,
- 3 Stämme aus dem Tonsillenbelag bei Angina,
- 1 Stamm aus einer eitrigen Endometritis.

Dazu kommen noch 5 Scharlachstämme, die im Institut fortgezüchtet werden; davon 4 Stämme des Streptococcus scarlatinae brevis und 1 Stamm des Streptococcus scarlatinae longus.

Von den Diplokokkenstämmen stammten

- 10 Stämme aus der Lunge bei Pneumonia crouposa,
- 4 Stämme aus dem Sputum bei Pneumonia crouposa,
- 2 Stämme aus einer eitrigen Meningitis nach Pneumonia crouposa,
- 1 Stamm aus dem Eiter eines Empyema pleurae,
- 1 Stamm aus einer eitrigen Pericarditis nach Pneumonia crouposa,
- 1 Stamm aus einer tuberkulösen Lunge,
- 1 Stamm aus einer eitrigen Meningitis nach Otitis media suppurativa,
- 1 Stamm aus einem Lungenabsceß bei einem Puerperalprozeß,
- 1 Stamm aus dem Eiter eines Empyema antri Highmori.

Bei diesen Untersuchungen ergab sich, daß Streptokokken und Diplokokken sich auf den in der angegebenen Weise bereiteten Nährböden verschieden verhielten. Die Streptokokken veränderten im allgemeinen die Blutagarplatte in der Weise, daß diese im Bereiche des Rasens und zu beiden Seiten desselben in einem verschieden breiten Streifen aufgehellt und vollständig durchsichtig wird und die gewöhnliche

Farbe reinen Agars darbietet. Der Blutfarbstoff verschwindet vollständig, häufig wird auch der übrige Nährboden namentlich bei längerer Aufbewahrung lichter, weniger intensiv rot gefärbt. Die Diplokokken hingegen erzeugen meist die schon erwähnte intensive Gelbfärbung. Dabei ist noch zu bemerken, daß diese Veränderungen bei den Streptokokken am besten auf den mit Menschenblut

Bakterienart	45°C viel		45°C wenig		100°C viel		100°C wenig	
	MB	PB	MB	PB	MB	PB	MB	PB
Streptokokken (47 Stämme)	6/20 20	11/14 25	14/21 35	20/16 36	2/4 5	1/1 1	4/2 6	1/1 2
Diplokokken (22 Stämme)	1/1 2	1/1 5	3/3 6	1/1 3	1/1 6	1/1 6	1/1 8	2/2 8
Zwischenformen näher den Streptokokken (10 Stämme)	5/4 7	3/4 10	3/4 5	4/2 4	4/6 6	8/2 2	1/2 7	2/2 8
Zwischenformen näher den Diplokokken (3 Stämme)	1/1 1	2/1 1	2/1 1	1/1 1	1/1 1	1/1 1	1/1 1	1/1 1

MB - Menschenblut
 PB - Pferdeblut

bei 45° C hergestellten, bei den Diplokokken auf den mit Pferdeblut bei 100° C hergestellten Agarplatten zu beobachten sind.

Im einzelnen ergab sich aber bei den verschiedenen untersuchten Stämmen manche Verschiedenheit. Die erhobenen Befunde sind in vorstehender Tabelle (p. 594) zusammengestellt.

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß von den untersuchten 47 Streptokokkenstämmen 36 (76 Proz.), bzw. 35 (74 Proz.) auf den bei 45° C mit nur wenigen Tropfen Blut hergestellten Platten eine mehr oder minder intensive Aufhellung zeigten; in einer geringeren Anzahl, 25 (53 Proz.) bzw. 26 (55 Proz.) zeigten sie dasselbe Phänomen auf den bei 45° C mit einer größeren Blutmenge gemischten Platten. Auf den bei 100° C angelegten Platten war nur bei 2 bzw. 7, 1, 6 Stämmen Aufhellung zu sehen, fast alle übrigen ließen den Nährboden unverändert.

Von den untersuchten 22 Diplokokkenstämmen erzeugten auf den bei 100° C mit einigen Tropfen Pferdeblut hergestellten Agarplatten alle 22 Stämme die früher beschriebene, typische Gelbfärbung des Nährbodens. Die gleiche Veränderung riefen 18 Stämme auf den bei 100° C mit wenigen Tropfen Menschenblutes hergestellten Agarplatten hervor, 16 auf den bei der gleichen Temperatur mit viel Blut verfertigten Platten, während auf den bei 45° C angelegten Platten nur eine geringere Zahl, 3, bzw. 6, 5, 2 die Verfärbung bewirkten.

Die bisher beschriebenen Veränderungen beziehen sich durchwegs auf das Oberflächenwachstum der verwendeten Stämme, wobei also das Material auf die Oberfläche der Blutagarplatte aufgestrichen wurde. Um auch das Tiefenwachstum beobachten zu können, wurden Schüttelkulturen mit je 5 Streptokokken- und Diplokokkenstämmen angelegt. 3 Streptokokkenstämmen ließen um die in der Tiefe gelegenen Kolonien eine ringförmige Aufhellungszone erkennen, bei zweien fehlte diese Erscheinung; es trat aber trotz mehrtägigen Stehenlassens im Brutschranke keine Grünfärbung auf, ebensowenig wie bei den mit 5 Diplokokkenstämmen angelegten Schüttelkulturen, deren Kolonien als dunkle, keineswegs grüne Pünktchen im Innern des Nährbodens zu sehen waren.

Betrachtet man die in der I. und II. Querrubrik der Tabelle dargestellten Stämme genauer, so zeigt sich, daß sich unter ihnen 10 Streptokokken- bzw. 3 Diplokokkenstämmen befinden, welche von dem Verhalten der übrigen abweichen, indem erstere auf den bei 45° C hergestellten Nährböden deutliche Aufhellung resp. Verschwinden des Blutfarbstoffes bewirkten, zugleich aber auf den bei 100° C bereiteten Blutagarplatten deutliche, wenn auch nicht sehr intensive Gelbfärbung hervorriefen, während die 3 Diplokokkenstämmen außer der typischen Gelbfärbung auf der bei 100° C angefertigten Platte auch auf der bei 45° C hergestellten Platte schwache Aufhellung erkennen ließen. Diese Stämme würden also in ihrem kulturellen Verhalten gleichsam in der Mitte zwischen dem Typus der Streptokokken und Diplokokken stehen.

Die hierher gehörigen Streptokokkenstämmen wurden gezüchtet:

2 Stämme aus dem Blute bei Endocarditis (in einem Falle bestand auch Chorea),

- 1 Stamm aus dem Blute bei Septikämie,
- 1 Stamm aus dem Leichenblute eines an Tuberkulose Gestorbenen,
- 2 Stämme aus dem Blute bei Scharlach,
- 1 Stamm aus dem Uterusinhalt bei Sepsis puerperalis,
- 1 Stamm aus dem Eiter bei Meningitis,
- 1 Stamm aus dem Eiter bei Arthritis,
- 1 Stamm aus dem Eiter einer Phlegmone pedis.

Die betreffenden Diplokokkenstämme wurden gezüchtet:

- 1 Stamm aus der Lunge bei Pneumonia crouposa,
- 1 Stamm aus dem Sputum bei Pneumonia crouposa,
- 1 Stamm aus dem Eiter bei Emyema pleuræ.

Wie aus dieser Uebersicht hervorgeht, stammten diese abweichend sich verhaltenden Streptokokken der Mehrzahl nach von Allgemeininfektionen ohne besondere Lokalisation.

Da sich unter ihnen auch 2 Scharlachstreptokokkenstämme befanden, so untersuchten wir eine größere Reihe von Scharlachstreptokokken (16) mit Rücksicht auf ihr Verhalten auf Blutnährböden.

Hierbei ergab sich, wie an anderer Stelle ausführlich berichtet wurde¹⁾, daß nur 3 auf der bei 45° C hergestellten Blutagarplatte Aufhellung und auf dem bei 100° C bereiteten Blutagar Gelbfärbung bewirkten, mit den beiden früher erwähnten zusammengerechnet unter 21 Stämmen 5. Mithin ist dieses Verhalten für Scharlachstreptokokken nicht charakteristisch. Andererseits ist aber bemerkenswert, daß in dieser Untersuchungsreihe eine auffallend große Anzahl, nämlich 9 Stämme, den Blutagar überhaupt nicht veränderten, während von den übrigen 47 Streptokokkenstämmen jeder auf mindestens einer der in verschiedener Weise hergestellten Blutagarplatten Aufhellung hervorrief, die meisten (35) auf den bei 45° C mit wenigen Tropfen Menschenblutes bereiteten Platten deutliche Aufhellung bewirkten.

Aus diesen Untersuchungen geht mithin hervor, daß die Scharlachstreptokokken in ihren kulturellen Eigenschaften auf Blutnährböden ein sehr wechselndes Verhalten zeigen und dadurch einigermaßen von den übrigen Streptokokken, wie sie bei Eiterungsprozessen gefunden werden, abweichen.

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß es mit Hilfe der Blutagarplatte möglich ist, Streptokokken von Diplokokken zu unterscheiden, indem erstere auf den in der angegebenen Weise hergestellten Blutagarplatten die beschriebene Aufhellung, letztere die Gelbfärbung bewirken. Dabei kommt es allerdings vor, daß einzelne Streptokokkenstämme zugleich eine leichte Gelbfärbung, einzelne Diplokokkenstämme zugleich eine mäßige Aufhellung bewirken. Wie des weiteren aus unseren Untersuchungen hervorgeht, hatten die untersuchten 47 Streptokokkenstämme eine ganz verschiedene Provenienz, so daß wir nach dem uns vorliegenden Material nicht in der Lage sind, in gleicher Weise, wie es Schottmüller tut, für bei gewissen Erkrankungsprozessen vorkommende Streptokokken ein charakteristisches Verhalten auf Blutnährböden festzulegen. Es sei hierbei auch bemerkt, daß wir niemals jene Veränderung des Nährbodens vorfanden, welche Schottmüller als charakteristisch für den *Streptococcus mitior* beschreibt.

II.

Der Nachteil der Blutagarplatte, wegen ihrer Undurchsichtigkeit einer direkten mikroskopischen Betrachtung nicht unterzogen werden zu können, veranlaßte uns, ganz analoge Versuche derart auszuführen, daß wir statt des Agars Bouillon verwendeten. Auf diese Art wurden 6 Streptokokkenstämme und 6 Diplokokkenstämme untersucht. Unsere Resultate decken sich dabei vollkommen mit den Ergebnissen, zu denen Rieke in seiner im Vorjahr veröffentlichten Arbeit gelangt. Die bei 100° C angelegten Blutbouillonröhrchen, in denen das geronnene Blut

1) Deutsche pathologische Gesellschaft. Meran 1905.

als schwarzbraune Masse zu Boden sank, änderten ihr Aussehen nicht, auch wenn sie mehrere Tage der Bruttemperatur ausgesetzt blieben, gleichgültig, ob sie nun mit Streptokokken oder Diplokokken geimpft waren.

In den bei 45° C oder Zimmertemperatur mit Blut gemengten Bouillonröhrchen fielen die roten Blutkörperchen zu Boden und setzten sich zunächst scharf von der klar gebliebenen Bouillon ab. Schon nach 12 Stunden sieht man burgunderrote, lackfarbene Wolken aus dem Bodensatz in die Bouillon aufsteigen; schüttelt man das Röhrchen und beläßt es weitere 12 Stunden im Brutschranke, so erscheint die ganze Bouillon lackfarben, burgunderrot, nach 4 Tagen zeigen die mit Streptokokken verimpften Bouillonröhrchen eine gelbbraune bis schmutzig rotbraune Farbe.

Jene Bouillonröhrchen, in die Diplokokken eingetragen waren, ließen schon nach 24 Stunden eine dunkelrote Farbe erkennen, daneben aber bildete sich, entsprechend der Angabe Schottmüllers, ein deutlich grüner Wandbeschlag.

Die spektroskopische Untersuchung der Blutbouillon ergab in Uebereinstimmung mit Riecke, daß die mit Menschenblut versehenen Röhrchen zunächst das Spektrum des Oxyhämoglobins mit den beiden Absorptionsstreifen zwischen D und E zeigten. Dieser Befund blieb so lange ungeändert, als das Röhrchen Burgunderrotfärbung aufwies. Wenn dann nach 48—72 Stunden die Braunfärbung allmählich auftrat, änderte sich das Spektrum, indem zunächst andeutungsweise ein dritter dem neutralen Methämoglobin entsprechender Absorptionsstreifen neben dem Oxyhämoglobin zu sehen war, bis dann am 4. Tage nun mehr das Methämoglobinspektrum konstatiert werden konnte. Die mit Pferdeblut beschickten Röhrchen waren zur spektroskopischen Untersuchung ungeeignet, weil das uns zur Verfügung stehende Pferdeblut a priori das Methämoglobinspektrum aufwies.

Die chemische Untersuchung der Blutbouillonröhrchen, die der Vorstand des chemischen Institutes, Herr Dr. Freund, durchzuführen die Liebenswürdigkeit hatte, ergab, daß die das Oxyhämoglobinspektrum aufweisenden Röhrchen saure Reaktion, die Methämoglobin zeigenden alkalische Reaktion hatten. Der grüne Wandbeschlag in den mit Diplokokken geimpften Röhrchen stellte sich als ein ausgefallener Eiweißniederschlag dar, aus dem sich kein Farbstoff extrahieren ließ, so daß Herr Vorstand Dr. Freund der Ansicht ist, daß es sich bei der grünen Farbe doch nur um einen optischen Effekt handle.

Bei dieser Gelegenheit möchten wir daran erinnern, daß Weichselbaum schon seinerzeit auf die grüne Farbe der Klappenauflagerungen bei durch Diplokokken hervorgerufenen Endocarditiden aufmerksam gemacht hat.

III.

Die histologische Untersuchung der Blutagarnährböden wurde in der Weise ausgeführt, daß kleine Scheibchen aus dem mit dem Bakterienrasen bedeckten, entweder gelblich verfärbten oder aufgehellten Agar ausgeschnitten, zunächst in Müller-Formol fixiert, dann aufsteigend in Alkohol gehärtet und in Celloidin eingebettet wurden. Zur Kontrolle wurden auch Scheibchen aus dem unbeschickten und unveränderten Agar herangezogen.

Die Schnitte aus dem bei 100° C hergestellten Nährboden ergaben sowohl in Stückchen aus unbeschickten Stellen als in den Diplokokken-

platten nur wenige, gut erhaltene und mit Eosin intensiv färbbare rote Blutkörperchen, reichlich fädig-krümeligen Detritus. An den gelb verfärbten Anteilen fiel die Berlinerblau-Reaktion positiv aus.

Bei den mit Streptokokken beschickten Platten ergab sich insofern zwischen Kontrollplatten und beschickten Platten eine wesentliche Differenz, als in den Streptokokkenplatten sich reichlich blasse, mit Eosin kaum tingible Blutkörperchen (Blutkörperchenschatten) fanden, welche die Form eines normalen roten Blutkörperchens aufwiesen, aus welchen aber das Hämoglobin offenbar verschwunden war.

Dieser Befund steht im Einklang mit den Resultaten E y k m a n n s, der bei der mikroskopischen Untersuchung der aufgehellten Blutagarpartien „neben Blutschatten nur zu Körnchen reduzierte Erythrocyten, die schließlich ganz verschwanden“, fand.

Viel reichlicher als im Agar fanden sich in der mit Streptokokken verimpften Blutbouillon die Blutschatten, während zur gleichen Zeit in einem unbeschickten Kontrollröhrchen noch durchwegs gut erhaltene rote Blutkörperchen zu sehen waren. Die weiter vorgeschrittene Zerstörung der roten Blutkörperchen im Agar im Gegensatz zur Bouillon erklärt Bitter damit, daß schon durch den Einschluß der roten Blutkörperchen eine schwere Schädigung derselben hervorgerufen werde, während Meinike der Ansicht ist, daß „die Bakterien im festen Nährboden gezwungen sind, die nächstliegenden roten Blutkörperchen anzugreifen; dagegen können sie in der Blutbouillon die ihnen passenden Eiweißverbindungen, die hier frei sind, aufsuchen“.

Die Aufhellung in den Blutnährböden muß als Hämolyse gedeutet werden, was sich aus den mikroskopischen Befunden (Auftreten von Blutkörperchenschatten bis zu vollständig zerstörten roten Blutkörperchen) ergibt; haben ja über hämolytische Fähigkeiten der Streptokokken Marmorek, Lubenau, Besredka u. a. berichtet. Für bakteritische Hämolyse hat Lode den Nachweis geführt, daß dieselbe Dialysiermembranen nicht passiert. Versuche, die entsprechend den Angaben Lodes mit Streptokokken angestellt wurden, derart, daß eine Petrischale durch eine Scheidewand aus Dialysierpergament geteilt und in die dadurch entstehenden beiden Hälften Blutagar gegossen wurde, zeigten, daß tatsächlich die durch Streptokokken hervorgerufene Aufhellung des Nährbodens die Membran nicht überschritt. Ebenso konstant lehrten ganz gleiche Versuche mit Diplokokken, daß auch die gelbe Verfärbung des Blutagars vor der Dialysierwand Halt macht.

Bemerkenswert ist, daß die geschilderten Veränderungen der Blutnährböden durch Bakterien von einer Reihe von Umständen abhängig sind, so in erster Linie, wie aus den mitgeteilten Befunden hervorgeht, von der Blutmenge. Schottmüller gibt an, daß manchmal bei Zusatz von viel Blut eine geringere Aufhellung erreicht wird und erblickt die Ursache in der größeren Widerstandskraft des Blutes resp. dessen bakterizider Fähigkeit, was sich durch Wechseln der Blutart oder Zusatz von geringeren Mengen beweisen lasse; eine Abhängigkeit der Aufhellungsstärke von der Virulenz komme auf den Blutagarplatten nicht zum Ausdruck. Ihm schließt sich Riecke auf Grund seiner Blutbouillonversuche an, während in letzter Zeit Kerner bei ganz gleich angestellten Blutbouillonversuchen eine direkte Abhängigkeit von Hämolyse und Pathogenität des betreffenden Stammes findet. Auch unsere Versuche zeigen, daß ein Zusatz von viel Blut seltener und weniger deutlich die Hämolyse zu Tage treten läßt, als wenn wenig Blut verwendet wird.

Abgesehen von der Blutmenge kommt auch die Art des verwendeten Blutes in Betracht; in unseren Versuchen, die nur mit Menschen- oder Pferdeblut angestellt wurden, ergeben sich aus der vorausgeschickten Tabelle sehr deutlich diesbezügliche Unterschiede. Auch die Temperatur des Agars, bei welcher das Blut zugesetzt wurde, ist von wesentlicher Bedeutung.

Zusammenfassung.

Die Resultate vorstehender Untersuchungen können in folgender Weise zusammengefaßt werden:

1) Die Kultur auf (in der beschriebenen Weise) vorbereitetem Blutagar gestattet im allgemeinen eine Unterscheidung von Streptokokken und Diplokokken, indem erstere stets eine Aufhellung des Blutnährbodens, letztere stets Gelbfärbung bewirken. Einzelne Streptokokkenstämme machen außer der beschriebenen Aufhellung auch eine leichte Gelbfärbung, einzelne Diplokokkenstämme außer der Gelbfärbung auch eine leichte Aufhellung.

2) Eine Unterscheidung einzelner Streptokokkenarten mit bestimmter ätiologischer Bedeutung je nach ihrem Verhalten auf Blutnährböden (im Sinne Schottmüllers) erscheint, wenigstens auf Grund des untersuchten Materials, unmöglich.

3) Die spektroskopische Untersuchung der mit Streptokokken geimpften Blutbouillon zeigt eine Umwandlung des Oxyhämoglobins in neutrales Methämoglobin. Blutbouillon mit Diplokokken weist einen deutlichen grünen Wandbeschlag auf.

4) Der Nachweis von Blutschatten sowie von zerfallenen roten Blutkörperchen in den mit Streptokokken beschickten Blutnährböden zeigt, daß die geschilderten Veränderungen des Nährbodens auf Hämolyse beruhen.

5) Die Natur der gelben Verfärbung des Blutagars durch Diplokokken konnte nicht aufgeklärt werden, es ließ sich nur zeigen, daß die veränderten Teile des Nährbodens deutlich Eisenreaktion geben.

6) Die durch Streptokokken und Diplokokken gesetzten Veränderungen des Blutagars reichen nicht über eine Dialysiermembran hinaus.

7) Die durch Streptokokken bewirkte Hämolyse bzw. die Gelbfärbung des Nährbodens durch Diplokokken ist abhängig von der Art und Menge des zugesetzten Blutes und der Temperatur des Agars.

Literatur.

- Besredka, De l'hémolysine streptococcique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XV. 1901.
Bitter, Arch. f. Hygiene. Bd. V.
Eijkman, Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. No. 22.)
Gilbert et Fournier, Compt. rend. de la soc. de biol. 1896.
Kerner, Experimenteller Beitrag zur Hämolyse und Agglutination der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. No. 2 u. 3.)
Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie.
Lingelsheim, Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. III.
Lode, Experimentelle Untersuchungen über Bakterienantagonismus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. No. 3.)
Lubnau, Hämolytische Fähigkeit einzelner pathogener Schizomyceten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX.)
Marmorek, Die Arteinheit der für den Menschen pathogenen Streptokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 14.)
Meinike, Ueber den Wert der Hämolysinbildung der Vibrionen für die praktische Choleradiagnose. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 23.)

- Paltauf, Sitzungsber. der Ges. der Aerzte. (Wien. klin. Wochenschr. 1899. No. 21.)
 Rieke, Beiträge zur Frage der Arteinheit der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. No. 3.)
 Schottmüller, Die Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 20 u. 21.)
 Voges, Beobachtungen und Untersuchungen über Influenza und den Erreger dieser Erkrankungen. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. Sept.)
 Weichselbaum, Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. III.

Nachdruck verboten.

Ueber eine Anreicherung von *Bacterium coli* in Wasser.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Straßburg.]

Von Dr. T. A. Venema, früher in Straßburg,
 jetzigem Assistenten am hygienischen Institute der Universität Halle.

Im vorigen Winter erhielt ich von Herrn Prof. Forster einen Auftrag, den ich leider nicht zu vollenden in der Lage war, weil ich vorher Straßburg schon verlassen und die weitere Arbeit Anderen übergeben mußte. Kurz jedoch möchte ich hier über einige Vorversuche berichten, die bei der begonnenen Untersuchungsreihe nötig gewesen sind. Es handelte sich hierbei darum, *Coli*-Bacillen aus Wasser, in welchem dieselben in geringer Zahl enthalten wären, zu isolieren.

Eine der ersten Fragen war also, in welcher Weise das am einfachsten und sichersten zu erreichen wäre. Aus begreiflichen Gründen reicht hier das Gelatineplattenverfahren nicht aus, ebensowenig der direkte Ausstrich auf v. Drigalski-Conradi oder Endosche Platten. Es ist notwendig, in solchem Wasser das *Colibacterium* zur Vermehrung zu bringen und ihm, wenn möglich, ein elektives Wachstum anderen Bakterien gegenüber zu schaffen.

Seit langem finden dann auch Anreicherungsverfahren für das *Colibacterium* Anwendung und sind schon eine ganze Reihe empfohlen worden. Ein Teil dieser Verfahren wurde ursprünglich zur Anreicherung von *Typhusbacillen* verwendet, wobei sich dann herausstellte, daß die *Coli*-Bacillen auf diesen Substraten besser gedeihen als die *Typhusbacillen*, weshalb sie später als *Coli*-Bacillenanreicherung benutzt wurden. Die Methoden sind auf verschiedenen biologischen Eigenschaften des *Bacterium typhi* gegründet. So verwendete Rodet¹⁾ (1) eine Temperatur von 44,5°. Er gebrauchte gewöhnliche Nährbouillon und goß später Platten, um die Bacillen aufzufinden. Vincent (2) züchtete mit Bouillon unter Zusatz von *Acidum phenicum* und hielt die Proben ebenfalls bei hoher Temperatur, 42°. Parietti (3) versetzte die Wasserproben mit einer Mischung von 5-proz. Karbol- und 4-proz. Salzsäurelösung. Dieses Verfahren wurde auch verwendet von Meusbürger und Rambousek (4), welche die Ausführung noch einfacher machten.

S. Gage (5) empfiehlt zum Nachweise des *Colibacillus* eine Traubenzucker-Pepton-Phenollösung. Diese Verfahren haben alle zum Zwecke, Begleitbakterien in ihrem Wachstum zu hemmen. Sie dürften aber dadurch alle den Nachteil haben, daß das *Colibacterium* selbst auch geschädigt wird. In ähnlicher Weise ließen sich vielleicht auch

1) Literaturverzeichnis am Schlusse der Abhandlung.

Anreicherungsverfahren herstellen mittelst Kristallviolett, Koffein, Malachitgrün u. s. w., welche Substanzen das Wachstum der meisten Mikroorganismen sehr erheblich schädigen oder selbst aufheben. Das *B. c.*¹⁾ jedoch wird ebenso sehr dadurch geschädigt, wenn auch weniger als die meisten anderen in Betracht kommenden Bakterien.

Während zu den bisher genannten Nährböden Säure gefügt wurde, verwendete Burri (6) 0,75-proz. wasserfreie Soda in seinem Substrat und behauptet, damit gute Erfolge gesehen zu haben. Wo es bei den vorigen Nährböden die Säure ist, ist es hierbei der Alkalizusatz, der die Ausschaltung der Begleitbakterien bewirken muß.

Eine andere Eigenschaft des *B. c.*, nämlich das Gärungsvermögen, wurde herangezogen von Graziani (7) und von Abba (8), die einen Nährboden mit Laktose anfertigten. Andere verwendeten wieder Dextrose, weil Laktose auch durch *Bact. cloacae* vergoren wird.

Kürzlich veröffentlichte Eijkman (9) eine Methode, um das *B. c.* in Wasser aufzufinden, die auf dem Vermögen dieses Bakteriums gegründet ist, noch bei 46° zu wachsen und Glukose unter Säurebildung zu vergären. Er bringt dazu die Wasserprobe mit einer Glukose-Pepton-Kochsalzlösung in Gärungsröhrchen bei 46°. Bei Anwesenheit von *B. c.* tritt Gärung auf. Jedoch ist diese nicht beweisend für die Anwesenheit von *B. c.*, weil, wie Eijkman betont, auch Buttersäurebakterien dieses Vermögen besitzen.

Eine wenig verwendete Methode ist die von Lignières (10), der Heuinfus gebrauchte. Das Wichtige bei diesem Verfahren scheint ihm zu sein, daß das *B. c.* nach 6–8 Stunden die neutrale oder leicht alkalische Reaktion des Heuinfuses in eine saure verwandelt, welche sehr schädlich auf die Entwicklung der fremden Organismen einwirkt. Seine Methode leistete ihm sehr gute Dienste und auch M. Kaiser (11), der sie in jüngster Zeit für die Züchtung des *B. c.* aus Brunnenwässern verwendete und seine Erfahrungen für die beste Bereitungsweise mitteilt, nennt das Resultat meist ein sehr zufriedenstellendes, obwohl die Methode ihn, wie er sagt, manchmal im Stich ließ und die Platten der vielen Begleitkolonien halber gar nicht verwendbar waren. Ein vielfach verwandtes Verfahren ist das Schardingersche (12) mittelst einer 1-proz. Pepton-Kochsalzlösung, das auch von Petruschky und Pusch (13) bei einer großen Reihe verschiedener Wässer verwendet wurde. Sie stellten die steril abgemessenen Wasserquanta mit etwa derselben Menge Bouillon in den Brutschrank und machten dann nach 24 Stunden Ausstriche auf Agarplatten.

Ich komme nun zu meinen Versuchen.

Die Methode, mit der ich Versuche machte, wurde bisher, soweit mir bekannt, noch nicht verwendet, um das *B. c.* aus Wasser zu züchten. Sie wurde zuerst von Ringeling (14) angegeben und benutzt, um *Coli*-Bacillen in Milch anzureichern. Er sagt darüber: In roher Milch sind beinahe immer *Coli*-Bacillen, welche nur selten mittelst des Plattenverfahrens gefunden werden können. Darum ist es notwendig, daß die Bacillen, wenn man sie nachweisen will, sich in der Milch vermehren. Zu diesem Zwecke werden 5 ccm Milch in 50 ccm saure Bouillon (gewöhnliche sterile Nährbouillon, die nicht alkalisiert wurde) gebracht und die Mischung bei 37° gehalten. Nach 24 Stunden gibt es dann genug *Coli*-Bacillen, um sie auf Gelatineplatten zu Tage treten zu

1) Anstatt *Bacterium coli* wird von jetzt ab *B. c.* geschrieben werden.

lassen. Die Kolonien wurden identifiziert durch das Wachstum auf Gelatine, Eigenbeweglichkeit, Neutralrotreaktion, Gärung in Glukosebouillon und Indolreaktion.

Obwohl diese Merkmale keine volle Garantie verleihen, daß es sich hierbei um *B. c.* gehandelt hat, so möchte ich doch von der Annahme ausgehen, daß es wirklich *B. c.* oder *Coli*-artige Bacillen gewesen sind, die er so züchtete. Ueber Anwendung dieser Bouillon als Anreicherung für *B. c.* habe ich nichts gefunden, doch ist es vom theoretischen Standpunkte aus wohl denkbar, damit ein gutes Wachstum des *B. c.*, das ja bei saurer Reaktion sehr gut zu gedeihen vermag, zu erhalten und die meisten im Wasser lebenden Bacillen, die für ihre Vermehrung einer neutralen oder leicht alkalischen Reaktion des Nährbodens bedürfen, auszuschalten; allerdings wachsen auch eine ganze Menge anderer Bakterien auf sauren Substraten und lassen mitunter sogar ihre Lebenseigenschaften nach Schlüter (15) teilweise sehr schön und charakteristisch hervortreten. Es wäre also sehr gut möglich, daß im Wasser Bakterien vorkommen, die ebensogut oder besser in saurer Bouillon wachsen als die *B. c.*

Das Verfahren mit saurer Bouillon mußte sonach für die Bestimmung des *B. c.* in Wasser geprüft werden.

Ich ging gleich daran, einige Proben nicht allzu reinen Flußwassers auf *B. c.* zu untersuchen, nahm dazu 5 ccm Wasser auf 50 saure Bouillon und hielt es 24 Stunden bei 37°. Meistens waren die Kölbchen dann gleichmäßig trübe, zeigten ein zartes Häutchen an der Oberfläche und einen geringen Bodensatz.

Nach Verdünnung mit Kochsalzlösung wurden Gelatineplatten gegossen, wovon die Originalplatte und die erste Verdünnung schon verflüssigt waren, bevor *Coli*-Kolonien zu erkennen waren. Auf den Platten der zweiten Verdünnung aber wurden öfters einige *Coli*-Kolonien gefunden. Um die Schwierigkeiten bei der Gelatineplattenkultur zu umgehen, benutzte ich nun die v. Drigalski-Conradischen Lackmusagar- und die Endoschen Fuchsinagarplatten. Eine Oese von ca. 5 mg der Kulturflüssigkeit wurde auf eine 18—20 cm Durchmesser messende Platte gebracht, mit dem Glasspatel darauf verrieben und dann noch eine zweite Platte, mit dem Spatel bestrichen, genau so, wie es bei der Untersuchung auf *Typhusbacillen* üblich ist. Dies ist bequemer als das Gelatineplattenverfahren und führt entschieden besser zum Ziel. Man hat außerdem den Vorteil, daß man mehr Anreicherungsflüssigkeit bei einer Plattenserie verwenden kann. Die Begleitbakterien, die sich in der sauren Bouillon entwickelt haben, werden in ihrem Wachstum bedeutend gehemmt; die *Coli*-Bacillen werden allerdings auch geschädigt, jedoch nur in solchem Maße, daß es für unseren Zweck keine Schwierigkeiten mit sich brachte. Es ist natürlich wichtig, so zu verfahren, daß die *Coli*-Kolonien leicht zwischen den anderen herausgefunden werden können. Man muß schon nach 14—20 Stunden untersuchen, dann zeigen sich die *Coli*-Kolonien auf den Lackmusagarplatten bereits als leuchtend rote Ansiedelungen von etwa 2—4 mm im Durchmesser, deren Form vielfach rundlich, häufig aber auch unregelmäßig und vieleckig ist, besonders bei den großen dünn ausgebreiteten Exemplaren. Auf dem Fuchsinagar zeigen sie sich in derselben Zeit als große dunkelrote, undurchsichtige Kolonien mit metallisch grünlich schillernder Oberfläche von ähnlicher Form und Größe wie auf dem Lackmusagar. Bei der Herstellung des Endoschen Nährbodens verfuhr

ich bezüglich des Fuchsins nach den Angaben Klingers (16). 100 ccm 95-proz. Alkohols ließ ich also mit 10 g kristallisierten Fuchsins 20 Stunden lang stehen. Darauf wurde die Lösung abgegossen, filtriert und davon 10 ccm auf 2 l Nährboden genommen. Die Nährböden enthielten 4 Proz. Agar. Der kurzen Zeit wegen, die mir zur Verfügung stand, bin ich nicht mehr dazu gekommen, das Verfahren mit saurer Bouillon einem Vergleich mit den verschiedenen anderen Methoden zu unterwerfen. Nur wurden einige Versuche angestellt, um es mit dem Pepton-Kochsalzverfahren zu vergleichen. Diese fielen zu Gunsten der sauren Bouillon aus, insofern damit auf den Agarplatten mehr Coli-Kolonien aufgefunden wurden und schon, trotz einer geringen Zahl untersuchter Wasserproben, *B. c.* gefunden wurde, wo es mit dem Pepton-Kochsalzverfahren nicht entdeckt werden konnte. Auch M. Kaiser erzielte mit dem Pepton-Kochsalzverfahren keine guten Resultate, ebensowenig mit der Pariettischen Methode, mit welcher er auch einige Versuche anstellte. Er verwendete aber Gelatineplatten, während Petruschky und Pusch Agarplatten benutzten, weshalb sie wohl bessere Resultate erhalten haben dürften. Jedenfalls konnte ich mit der Anreicherung in saurer Bouillon und mittelst Fuchsins- und Lackmusagars *B. c.* isolieren, wo es mit Gelatineplatten nicht gelungen war. In einem Falle, wo ich *B. c.* mittelst saurer Bouillon isoliert hatte und mittelst des Peptonkochsalzes, spritzte ich von der letztgenannten Anreicherungsflüssigkeit ein Meerschweinchen intraperitoneal mit 2 ccm. Es starb innerhalb 12 Stunden. Bei der möglichst rasch vorgenommenen Sektion fand sich ein reichlicher trüber Peritonealerguß von gelber Farbe, wovon Gelatineplatten gegossen wurden. Nur auf den Platten der zweiten Verdünnung wurden einige Coli-Kolonien gefunden, Die Platten, welche mit Milz- und Herzblut gegossen wurden, waren ganz verflüssigt und ließen kein *B. c.* erkennen. In einem anderen Falle, wo mit Platten keine *B. c.* gefunden wurden, spritzte ich gleichfalls ein Meerschweinchen. Auch dieses starb innerhalb derselben Frist. *B. c.* war nicht aus dem Tiere zu züchten.

Bei allen untersuchten Wasserproben bemühte ich mich, nur das *Bact. coli commune* zu suchen. Ich identifizierte vermittelst Prüfung sämtlicher in Betracht kommender morphologischer und kultureller Eigenschaften.

Bezüglich der Stärke der Beweglichkeit fand ich bei einzelnen Stämmen große Unterschiede. Auf Indol untersuchte ich nach 7 bis 10 Tagen, nach Salkowskys Methode, wobei in einigen wenigen Fällen, wo die Färbung nicht deutlich war, mit Erfolg die Kultur mit Amylalkohol geschüttelt wurde, in dem der Farbstoff löslich ist, behufs Konzentration und Unterscheidung von anderen Farbstoffen, wie von Lösener (17) angegeben wurde. Ferner mußten die typischen Eigenschaften in Lackmusmolke, Traubenzuckerbouillon, Milch, Neutralrotagar, auf Kartoffeln und Gelatine vorhanden sein.

Auch Pathogenitätsprüfung nahm ich bei Meerschweinchen vor. Abgewogene Oesenmengen Agarrasen, in Bouillon aufgeschwemmt, gab ich intraperitoneal und bestimmte auch mehrmals die minimale letale Dosis.

Die Pathogenität der verschiedenen Coli-Stämme war sehr wechselnd, oft auch null. Für die Beurteilung des *B. c.* nach der Pathogenität sind ja auch die Ansichten sehr verschieden (cf. Roux (18), Harris (19), Savage (20) u. A.

Uebrigens erhielten wir in der sauren Bouillon nicht nur eventuell *B. c.*, sondern wie auf den Agar- und Gelatineplatten ersichtlich war, in den meisten Fällen eine überwiegende Zahl anderer Mikroorganismen, und zwar war das *Bacterium proteus* wohl das am meisten behindernde.

Doch erzielte ich gute Resultate mit meinem Verfahren der *Coli*-Anreicherung im Wasser.

Verschiedene Versuche, das *B. proteus* auszuschalten, mißlangen. Nur in einer Versuchsreihe gelang es, das *B. proteus* zu eliminieren, indem die Eigenschaft des *B. c.*, noch bei 46° zu wachsen, benutzt wurde. Das *B. proteus* wächst nicht bei dieser Temperatur.

Nun wurden einige Versuche angestellt, um die Ergebnisse der Anreicherung bei 46° und 37° zu vergleichen. Diese fielen entschieden zu Gunsten der Bruttemperatur bei 37° aus. Bei einigen Proben, die bei 46° angerichtet wurden, waren die Kölbchen mit einem festen Häutchen von *Subtilis*- und *Mesentericus*-Bacillen bedeckt, so daß ein Aufkommen des *B. c.* nicht möglich erschien. Auch mit dem Pepton-Kochsalzverfahren hatte ich bei 46° in denselben Proben keine *B. c.* gefunden, während mittelst saurer Bouillon bei 37° beinahe stets *B. c.* gezüchtet werden konnte.

So erhielt ich z. B. einmal bei einem Vergleich zwischen dem Pepton-Kochsalzverfahren und der sauren Bouillon, beide bei 37° und 46°, bei der Züchtung mit Peptonkochsalz auf den Gelatineplatten nur verflüssigende Kolonien bei 46°; auch bei 37° waren keine *B. c.* zu isolieren. Auf den Gelatineplatten jedoch, die mit der bei 37° angereicherten sauren Bouillon gegossen worden waren, erhielt ich eine Menge *Coli*-Kolonien, während in der Probe mit saurer Bouillon bei 46° in diesem Falle überhaupt nichts gewachsen war. Darauf wurden Versuche angestellt bei 18°, weil die Heubacillen unter einer Temperatur von 18 bis 19° nicht gedeihen.

Diese Versuche hatten keinen Erfolg, da sich hierbei allzu reichlich *Proteus*-Bakterien entwickelten. Um nun das Wachstum von *Bact. proteus* bei 18° aufzuheben, wurden die Proben nach verschiedener Züchtungszeit bei 46° gehalten und zum Teil mit Paraffinum liquidum überschichtet, um dadurch das Wachstum von Heubacillen zu hemmen. Gleichfalls ohne Erfolg: es wuchsen keine *B. c.* darin.

Auch bei einer *Coli*-Reinkultur konnte ich bei 46° unter Paraffinum kein Wachstum feststellen. Im Gegenteil starben die Bacillen ab. So zeigte auch eine *Coli*-Reinkultur bei 46° in Bouillon unter Paraffin, welche nach einem Monat untersucht wurde, sich vollkommen steril, während eine *Coli*-Reinkultur bei derselben Temperatur aber ohne Paraffin nicht steril war.

Obwohl es kaum zu erwarten war, daß Kristallviolett im stande wäre, den Anreicherungsboden tatsächlich zu verbessern, weil neben der möglichen Ausschaltung vieler Begleitbakterien doch auch das *B. c.* selbst wohl eine Schädigung empfinden würde, so wurden von mir doch auch einige Versuche angestellt, bei denen Kristallviolett in Verdünnungen von 1:25000 bis 1:400000 den Nährmedien zugesetzt wurde. Unsere *Subtilis*- und *Mesentericus*-Arten wurden erheblich in ihrem Wachstum gehemmt; *B. proteus* aber verhältnismäßig nur sehr wenig. Das *B. c.* hielt in dieser Beziehung die Mitte; es zeigte bei einer Konzentration von 1:100000 — bei 37° — nach 24 Stunden ein etwa 10mal schwächeres Wachstum als in Bouillon ohne den Farbstoff. Es

konnte sonach mit dem Kristallviolett keine wirkliche Verbesserung des Verfahrens erreicht werden.

Auf mehrfache Art versuchte ich endlich, die bakterienfeindlichen Stoffe in Kulturen zur Verbesserung des sauren Bouillon-Anreicherungsverfahrens zu benutzen — aber gleichfalls ohne Erfolg.

Was nun das Quantum des zu untersuchenden Wassers betrifft, das der sauren Bouillon hinzugefügt werden muß, so ist dafür wohl keine allgemeine Vorschrift zu geben, weil das abhängig ist von der Keimzahl des Wassers überhaupt, sowie vom *Coli*-Bacillengehalt. Bei keimreichen Wässern genügt wohl meistens ein Bruchteil eines Kubikcentimeters.

Es ist auch entschieden nicht gleichgültig, ob man viel oder wenig Wasser verwendet. So kam es mir z. B. vor, daß ich mit 0,1 ccm Wasser auf 50 sauren Bouillon sehr viele *B. c.*, zweifellos die Mehrzahl aller Kolonien auf den Platten erhielt, während bei 5 ccm weniger, bei 0,5 ccm noch weniger Kolonien gefunden wurden. Umgekehrt kam es natürlich auch vor, daß bei 0,1 ccm keine *B. c.* gefunden wurden, weil sie vielleicht in dieser Menge nicht enthalten waren, während bei Verwendung von 0,5 ccm *Coli*-Kolonien gefunden wurden, und zwar mehr als bei 5 ccm Wasser.

Wichtig ist noch die Lösung der Frage, wieviel *B. c.* überhaupt in einer Wasserprobe enthalten sein müssen, um in der sauren Bouillon zur Entwicklung kommen zu können. Dazu ist es nötig, erst zu bestimmen, wieviel *B. c.* ohne andere Mikroorganismen in saure Bouillon gebracht werden müssen, um sich vermehren zu können. Ich mußte mir demnach eine *Coli*-Bouillonkultur verschaffen, deren Bakterienzahl für verschiedene Versuche annähernd gleichmäßig und bekannt war. Eine solche, die dazu noch eine für die Berechnung bequeme Zahl aufwies, wurde erhalten, wenn ich 5 ccm Bouillon mit einer Normalöse aus einer 24-stündigen *Coli*-Bouillonkultur (23°) impfte und dann 17 Stunden bei 23° hielt. Eine Oese von 2 mg dieser Kultur enthielt dann immer etwa eine Million Keime.

Durch Verdünnung mit 0,85-proz. Kochsalzlösung waren so Proben mit einer beliebigen bestimmten Zahl Bakterien herzustellen. Auf diese Weise konnte festgestellt werden, daß 2—4 Keime in 5 ccm Kochsalzlösung stets ausreichten, um bei 37° in 50 ccm sauren Bouillon zur Vermehrung zu gelangen.

Natürlich wurden bei diesen Versuchen stets Platten mit Nährgelatine gegossen, um die verwendete Bakterienzahl zu kontrollieren. Ähnliche Versuche mit gewöhnlicher Löfflerscher Bouillon gaben genau die gleichen Resultate. Nun ist es aber wohl eine andere Sache, wenn die *B. c.* mit unreinem Wasser in die saure Bouillon gebracht werden. Zu Versuchen in dieser Richtung bin ich nicht mehr gekommen. Ob sich hierbei auch einigermaßen konstante Zahlen auffinden lassen würden, ist von vornherein nicht zu sagen, denn die erforderliche Menge *B. c.* dürfte wohl nicht nur von der Keimzahl des Wassers überhaupt, sondern auch von der Art der Begleitbakterien abhängig sein.

Zum Schlusse möchte ich noch erwähnen, daß ich im Auftrage von Herrn Prof. Forster eine Anzahl von Wasserproben auf die Anwesenheit von *B. coli commune* mittelst sauren Bouillonanreicherung und Lackmus- und Fuchsinagarplatten untersucht habe. Dabei fand ich bei 20 Flußwässern:

Herkunft des Wassers	B. coli commune
1) Ill bei Fuchs am Buckel hinter Straßburg	+
2) Ill bei Wanzenau hinter Straßburg	+
3) Ill sehr kurz nach Eintritt in Straßburg	0
4) Ill etwa 100 Schritt flußabwärts von der vorigen Stelle, aber 6 m unterhalb einer Waschpritsche (gedeckter Kahn in der Ill, der eine schwimmende Flußwaschküche darstellt	+
5) Ill-Mündung	+
6) Ill bei Wanzenau (Mitte)	+
7) Ill bei Wanzenau (an der Oberfläche am Ufer)	+
8) Rhein, etwa 25 km oberhalb Straßburg	+
9) Rhein, oberhalb Steingießen (Verbindungsarm der Ill mit dem Rhein)	+
10) Rhein oberhalb Ill	+
11) Rhein etwa 20 km unterhalb Straßburg	+
12) Steingießen	0
13) Schutter unterhalb Kehl	+
Einen Monat später:	
14) Rhein, badische Seite	+
15) Rhein, Talweg bei der Schiffsbrücke, etwa 25 km oberhalb Straßburg	+
16) Rhein oberhalb Steingießen	+
17) Rhein oberhalb Ill	+
18) Rhein etwa 20 km unterhalb Straßburg	+
19) Steingießen	+
20) Schutter unterhalb Kehl	0
13 Brunnenwässer:	
Offener Brunnen in Wanzenau	+
Offener Brunnen in Wanzenau	+
Rohrbrunnen, gleich in der Nähe des vorigen	0
8 Hausbrunnen in Straßburg und Umgebung	0
Wasser aus Schlettstadt, 8 m tief aus dem Sande	0
Idem nach $\frac{1}{4}$ Stunde Pumpen	0

Von allen genannten Wassersorten wurden 5 ccm in 50 ccm saure Bouillon gebracht und 16—24 Stunden bei 37° gelassen. Nach etwa 16 Stunden erhielt ich die besten Resultate.

Das Flußwasser wurde stets aus einer Tiefe von 1 m genommen, falls das Gegenteil nicht bemerkt ist. Demnach wurde mit dem saure Bouillonverfahren in 85 Proz. der Flußwässer des B. c. comm. gefunden, eine unerwartet hohe Ziffer.

Die Ursache einiger negativen Befunde ist vielleicht darin gelegen, daß die betreffenden Platten ganz von einer Proteus-Art überwuchert waren, durch welche etwa anwesende Coli-Bacillen in ihrem Wachstum gehemmt worden sein dürften.

Neben diesen Wasserproben wurden noch 6 andere Flußwässer geprüft. Die Platten von 5 dieser enthielten Coli-artige Kolonien, welche jedoch nicht weiter identifiziert wurden, während die Platten der 6. Probe durch den zuerst von Klinger, später von Gaehgens (21) gefundenen und beschriebenen Bac. jasmīno-cyaneus überwuchert waren.

Obwohl die Zahl der von mir untersuchten Wässer zu klein ist, um Schlüsse über die Verwendung des Fundes von B. c. comm. als Indikator für eine bestimmte Art der Wasserverunreinigung zu erlauben, so ist es doch ohne weiteres bemerkenswert, daß wir das Bakterium, das in sämtlichen Illwasserproben unterhalb Straßburg vorhanden war, im Illwasser ganz kurz nach Eintritt in die Stadt vermißten, 100 Schritt weiter unterhalb der Waschpritsche wieder antrafen.

Literatur.

- 1) Rodet, Compt. rend. hebd. des séances de la biologie. 1890. 8^e séance.
- 2) Vincent, Compt. rend. hebd. des séances de la biologie. 1890. 5^e séance.
- 3) Parietti, Metodo di ricerca del bacillo del tifo nelle aque potabili. (Riv. d'igiene e sanità publica. 1890.)
- 4) Meusburger und Rambousek, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. p. 476.
- 5) Gage, S., Notes on testing for *B. coli* in water. (Journ. of applied microscopy. Vol. IV. Ref. Hygien. Rundschau 1904. p. 19.)
- 6) Burri, Hyg. Rundschau. Bd. V.
- 7) Graziani, Arch. de méd. expér. 1889.
- 8) Abba, Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX.
- 9) Eijkman, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. p. 742.
- 10) Lignières, Compt. rend. de la soc. de biol. 1894. p. 200.
- 11) Kaiser, M., Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905. Heft 2.
- 12) Schardinger, Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. p. 853.
- 13) Petruschky und Pusch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. p. 304.
- 14) Ringeling, H. G., Tijdschr. v. toegep. Hyg. 1903. p. 367.
- 15) Schlüter, Centralbl. f. Bakt. Bd. XI.
- 16) Klinger, P., Inaug.-Dissert. Straßburg, 1904.
- 17) Loesener, W., Ueber das Vorkommen von Bakterien mit den Eigenschaften der Typhusbacillen etc. (Arb. Kaiserl. Ges.-Amt. 1895.)
- 18) Roux, Les microbes pathogènes. (Traité de pathol. gén.; publié par Bouchard. T. II. Paris 1896.
- 19) Harris, Journ. of path. and bact. 1900.
- 20) Savage, The characters of the *Bact. coli* as an indicator of excretal contamination. (Lancet. 1905. No. 4249.)
- 21) Gaetgens, W., Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVIII. p. 129.

Nachdruck verboten.

Zur schnellen Filtration des Nähragars.

[Aus der kgl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt Neunkirchen.]

Von Dr. Babucke, Assistenten der Anstalt.

Seitdem die Seuchenbekämpfung den bakteriologischen Anstalten umfassende praktische Arbeiten zuweist, hat sich die Notwendigkeit herausgestellt, die Technik der gebräuchlichen Untersuchungsmethoden so einfach wie möglich zu gestalten. Ferner besteht die Aufgabe, die üblichen Nährböden in kürzester Zeit mit einfachsten Mitteln herzustellen. Wir brauchen somit ein Verfahren, das schnell, leicht und ohne erheblichen Aufwand von jedem geübt werden kann. Im folgenden möchte ich kurz beschreiben, wie die Filtration des Nähragars in unserer Anstalt geschieht. Ich schicke voraus, daß die Herstellung von 3 l eines 3-proz. Nähragars höchstens 2 Stunden Zeit erfordert.

Wir tragen je 30 g Fleischextrakt und Pepton. sicc. Witte in 300 ccm kochendes Wasser ein und halten es unter Umrühren über offener Flamme bei Siedetemperatur, bis die Zusätze gelöst sind. Dann wird die Flüssigkeitsmenge in einen Emaillekochof gegossen, durch Zufügen von Wasser auf 3 l aufgefüllt und auf einem Gaskocher bis zu 100° erhitzt. Den fein zerkleinerten Agar (90 g) bringt man nun in die kochende Flüssigkeit ein und löst ihn innerhalb weniger Minuten unter fortwährendem Umrühren. Der flüssige Agar wird dann im bedeckten Kochof 1 Stunde lang im strömenden Dampf sterilisiert. Das Wichtigste ist die Behandlung des Wattefilters. Letzterer muß ebenso wie der Agar mindestens 1 Stunde lang im strömenden Dampf verbleiben.

Zur Herstellung des Wattefilters benötigt man einen Zinktrichter, dessen Kopf 21 cm Durchmesser, dessen Hals 3 cm Lichtweite aufweist. Der Kopf des Trichters wird mit einer vierfachen Lage entfetteter Watte (Verbandwatte Dr. v. Bruns) bedeckt, nachdem sie ausreichend in Wasser eingeweicht war. Hierauf wird die Watte so weit in den Trichter hineingepreßt, daß eine gleichmäßige konkave Fläche entsteht, jedoch muß die Watte über den Trichterrand herausragen. Nach einstündigem Aufenthalt des mit dem Wattefilter versehenen Trichters wird dieser auf ein Filtriergestell aufgesetzt. Dann gießt man den aus dem Dampfopf herausgenommenen Nähragar in kleinen Mengen auf den Wattefilter auf. Die Filtration geht in spätestens 20—25 Minuten vor sich.

Aus den gemachten Angaben geht hervor, daß die Gewinnung von 3 l eines klaren 3-proz. Nähragars innerhalb höchstens 2 Stunden möglich ist. Da selbst kompliziertere Herstellungsarten nicht schneller arbeiten, können wir das beschriebene Verfahren empfehlen.

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.

- Babucke**, Zur schnellen Filtration des Nähragars, p. 607.
- Bartel, Julius und Neumann, Wilhelm**, Lymphocyt und Tuberkelbacillus, p. 518.
- Bertarelli, E.**, Ueber einen pathogenen Keim der Iguana und interessante, von ihm erzeugte Verletzungen (*Diplococcus iguanae* n. sp.), p. 458.
- Boxer, Siegfried**, Ueber das Verhalten von Streptokokken und Diplokokken auf Blutnährböden, p. 591.
- Bronstein, J.**, Zur Technik der Serumgewinnung, p. 583.
- Doepner, H.**, Ueber die Widerstandsfähigkeit der Antigene der roten Blutkörperchen gegen hohe Temperaturen, p. 500.
- Edens**, Ueber *Oxyuris vermicularis* in der Darmwand, p. 499.
- Gloger, Roman**, Kalium tellurosum in der Medizin und Hygiene, p. 584.
- Kafka, Viktor**, Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik. (Schluß.), p. 548.
- Lambotte, V. et Stiennon, T.**, Alexine et Leucocytes. (Schluß.), p. 503.
- Lubnanu**, *Bacillus peptonificans* als Erreger einer Gastroenteritis-Epidemie, p. 433.
- Lüdke, H.**, Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie. III. (Schluß.), p. 439.
- , Weitere Beiträge zur Hämolyse. II., p. 576.
- Pettersson, Alfred**, Ueber die Bedeutung der Leukocyten bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweinchens mit Typhusbacillen, p. 537.
- Pesopoulo, N. und Cardamati, Jean P.**, Die Malaria in Athen. Eine biologische und histologische Studie über die Malaria-plasmodien. (Schluß.), p. 480.
- Piorowski**, Zur Differenzierung des Typhusbacillus und *Bacillus faecalis alcaligenes*, p. 437.
- Reischauer**, Ueber die Pocken der Vögel. ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erreger. (Forts.), p. 474.
- de' Rossi, Gino**, Ueber die Phänomene der Agglutination der Bakterien, p. 562.
- Schüller, Max**, Ueber die Entwicklungsweise der Parasiten beim Krebs und Sarkom des Menschen, sowie bei Syphilis, und über ihre verschiedene Einwirkung auf die Zellen, p. 463.
- Shibayama, G. und Toyoda, H.**, Ueber den Wirkungsmechanismus des Antiserums, p. 566.
- Stöpfe, Karl**, Ueber spirochätenähnliche Gebilde in Vaccinilymphe, p. 495.
- Tarossi, Giulio**, Ueber das Latenteleben der Tetanussporen im tierischen Organismus und über die Möglichkeit, daß sie einen tetanischen Prozeß unter dem Einfluß traumatischer und nekrotisierender Ursachen hervorrufen. (Schluß.), p. 451.
- Venema, T. A.**, Ueber eine Anreicherung von *Bacterium coli* in Wasser, p. 600.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Studien über künstliches Selterswasser.

[Arbeit aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg.]

Von Dr. Oscar Haenle, Straßburg.

Durch meine letztjährige Arbeit über die Mineralquellen des Elsasses bin ich veranlaßt worden auch das künstliche Selterswasser einer bakteriologischen Prüfung zu unterwerfen. In jener Arbeit wies ich nach, daß der hohe Keimgehalt der Mineralwässer ausschließlich durch die Unreinheit der Flaschen hervorgerufen war. Während an den Quellen erhobenes Wasser nahezu bakterienfrei war, enthielten die abgefüllten Mineralwasserflaschen zahlreiche, ja sogar unendlich viele Keime, deren Ursprung in der mangelhaften Reinigung der Flaschen zu suchen ist. Auch bei der vorliegenden Arbeit bestätigte es sich, daß das Selterswasser, wie es aus dem Apparat herauskommt, nahezu bakterienfrei ist. In sterilen Reagenzgläsern wurden in neun hiesigen und einer Colmarer Selterswasserfabrik direkt aus dem Kohlensäureapparat Proben erhoben und damit Gelatineplatten gegossen. Nur vereinzelte Keime waren sichtbar, das Wasser war nahezu bakterienfrei. Die Straßburger Fabriken verwenden ausschließlich das städtische Wasserleitungswasser, alle Fabriken, mit Ausnahme einer einzigen, verwenden flüssige Kohlensäure, die eine stellt die Kohlensäure aus Kreide und Säure dar. Obwohl das Colmarer Leitungswasser gesund ist und bakterienarm, verwendet die Colmarer Fabrik aus derselben hergestelltes destilliertes Wasser. Ihr Destillationsapparat mit Reservoir ist durch Röhrenleitung direkt mit dem Kohlensäureapparat verbunden. Die meisten Fabriken setzen dem Wasser Natron zu, die Colmarer Fabrik außer Natron noch die dem Colmarer Wasserleitungswasser durch die Destillation verloren gegangenen Salze. Einige Fabriken filtrieren das Wasserleitungswasser durch Chamberland-Kerzen. Abgefüllt wird das Selterswasser in Kugelflaschen, in Flaschen mit Patentverschluß und in Siphons. Nachdem festgestellt war, daß das eigentliche Selterswasser aus allen Fabriken nahezu bakterienfrei ist, wurden aus den verschiedenen Fabriken gefüllte Selterswasserflaschen und Siphons entnommen und zur Untersuchung in das Laboratorium ungeöffnet mitgenommen.

Behufs Austreibung der Kohlensäure wurde der Flascheninhalt in weite sterile Glaszylinder gegossen, nach mehreren Stunden Platten gegossen mit je $\frac{1}{2}$ ccm Wasser.

Folgende Tabelle (p. 610) gibt Aufschluß über die näheren Untersuchungen.

Im ganzen wurden 189 Untersuchungen ausgeführt und zwar von 106 Selterswasserflaschen und 83 Siphongefäßen. Diese Analysen haben folgende Keimverhältnisse zwischen Selterswasser und Siphonwasser ergeben (s. Tabelle p. 611).

Aus diesem Verhältnis erkennt man, daß in 119 Gefäßen von 0 bis 50 Keimen enthalten sind, wovon 66 Proz. aber zu Gunsten der Siphons entfallen.

Keimzahl im Selterswasser pro Kubikcentimeter in Flaschen.

Anzahl der Untersuchungen	Die Proben wurden in den Fabriken entnommen am:									
	8. Juli, 2., 4., 8., 11., 15., 29. Nov., 6., 20. Dez. 1904; 1., 20., 27. Febr. 1905									
	Fabrik	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Keime	2	34	14480	504	1920	1920	254	11 520	0
2		26	184	21780	378	2 560	2560	320	11 408	0
3		4	4	unzählbar	504	6 400	630	2520	1 890	0
4		4	0	"	315	12 600	4	1071	752	0
5		28	0	"	584	10 962	22	1890	722	0
6		50	0	"	504	4 410	50	1071	1 762	0
7		2	0	"	504	1 008	2416	632	1 760	0
8		26	2	"	504	1 260	500	480		0
9		4	2	504		2 772	110	412		
10		50	0	1260		5 292				
11		4	6	2520		2 774				
12		20	20	1890		220				
13		24	44							
14		84	62							
15		130	25							
16		180	34							
17		882								
18		4384								
19		882								
20		189								
21		1890								
22		1260								
23		20								
24		252								
25		630								

Keimzahl im Siphonwasser pro Kubikcentimeter.

Anzahl der Untersuchungen	Datum der Probenentnahme	Fabrik	A	B	C	D	F	L	I
1	8. Juli 04	Keime	20	20	10	0	40	30	0
2	"		0	40	4	24	10	6	0
3	4. Nov.		36	0	0	0	0	8	2
4	"		6	2	0	0	2	2	0
5	"		60	0	64	0	4	0	0
6	"		8	0	52	10	2	6	0
7	"		10	0	3	4	2	14	0
8	"		14	0	2	0	1	4	0
9	8. Nov.		36	30	10	2		0	0
10	"		6	4		0		2	0
11	"		60			24		0	2
12	"		18						
13	"		10						
14	"		14						
15	29. Nov.		0						
16	"		0						
17	"		0						
18	"		0						
19	1. Febr. 05		32	8	Tage altes Wasser				
20	20. März 05		2						
21	"		0						
22	"		0						
23	"		4						

Im Kubikcentimeter fanden sich		Selters	Siphons
	0 Keime in	13	33
1 bis	10	12	31
11	50	15	15
51	100	2	4
101	500	14	0
501	1000	14	0
1001	2000	13	0
2001	5000	9	0
5001	10 000	2	0
10 001	20 000	5	0
Ueber 20 001		1	0
Unzählbare		6	0
		106	33
		189	

Ueber 100 Keime waren in keinem einzigen Siphonwasser enthalten, während in 58 Selterswasserflaschen von 100 bis 20000 Keimen enthalten waren, in 6 waren sogar unzählbare Keime. Diese Keime gehörten hauptsächlich den Schimmelpilzen, Sarcinen und Saccharomyceten an. Ein häufig wiederkehrendes Bakterium war: *Bact. fluorescens liquefaciens*. Es ist daher erwiesen, daß Siphongefäße unbedingt allen hygienischen Anforderungen entsprechen und zum Genuß von Selterswasser der Reinheit wegen zu empfehlen und den Seltersflaschen vorzuziehen sind. In der Tat, während leere Selterswasserfläschchen vom Publikum zu allem möglichen verwendet werden können, kann das Siphongefäß ausschließlich nur zur Wiederauffüllung von Selterswasser in der Fabrik Verwendung finden, da ein Öffnen der Siphons durch das Publikum ausgeschlossen ist. Nicht einmal Luft, weder reine noch unreine, vermag in dieses Gefäß einzutreten, da beim Aufdrücken auf den Drücker des Siphons ein im Siphonkopf enthaltenes Ventil gehoben wird, wodurch das mit Kohlensäuregas geschwängerte Wasser aus einer Glasröhre emporgetrieben wird und durch die Mündung des Siphonkopfes ausströmt. Nur diese außerhalb des Siphonkopfes stehende Mündung ist für die äußere Luft zugänglich, aus welchem Grunde vor dem Trinken das zuerst auslaufende Siphonwasser wegzwerfen ist, da es zur Reinigung des Siphonausflusses dienen soll. Besonders im Krankenzimmer, in dem die Luft mit Krankheitskeimen reichlich versehen sein kann, soll darauf geachtet werden, daß die Ausflußröhre vor dem Trinken einmal ausgespritzt wird.

Von den Selterswasserflaschen sind diejenigen mit Glaskugelschluß zu verwerfen, da dieselben nur ungenügend gereinigt werden können. Die Seltersflaschen mit Patentverschluß sind dagegen besser zu reinigen, daher empfehlenswerter als Kugelflaschen, aber leider erfolgt die Reinigung der Flaschen und Verschlüsse nicht immer mit der wünschenswerten Sorgfalt. Dies ist eine bedauernswerte Tatsache. Dank der neueren Reinigungsmaschinen geht die Flaschenreinigung durch besonders sinnreich konstruierte Maschinen mit einer viel größeren Exaktheit und dabei noch größerer Schnelligkeit vor sich, als man sich das früher bei dem überwiegenden Handbetrieb jemals denken konnte. Aber trotz dieser sinnreichen Maschinen, die den Reinigungsbetrieb erleichtern und mit großer Zeitersparnis zugleich verbunden ist, bequemen sich die wenigsten Straßburger Selterswasserfabriken zur Anschaffung dieser Maschinen, die eine Leistungsfähigkeit in der Reinigung von 10000 Flaschen pro Tag besitzen mit nur 3 Mann Bedienung. Diese Anlage, die allen

Anforderungen der Praxis und der Hygiene entspricht, repräsentiert das Vortrefflichste und ist in jeder Weise rationell und hochsolid. Dieselbe besteht aus einer Zwillingmaschine mit gußeisernem Gestell, mit gußeisernem Wasserauffangbecken montiert, einem Einweichapparat und einen Nachspülapparat¹⁾. Von den 10 Fabriken, aus denen ich Proben zur Untersuchung entnommen habe, besitzen nur zwei einen solchen tadellosen Flaschenreinigungsapparat, alle anderen reinigen die Flaschen einzeln im Handbetrieb mit einer Flaschenbürste. Von den beiden Firmen ist eine in Straßburg und eine in Colmar. Die Analysen der Straßburger Firma stehen unter den Rubriken B der vorstehenden Tabellen und die der Kolmarer Firma unter den Rubriken I. Vergleicht man die Resultate dieser Analysen mit allen anderen, so geht daraus unzweideutig hervor, daß die geringe Keimzahl dieser Selterswässer entschieden und ausschließlich nur der Sorgfalt bei der Flaschenreinigung zu verdanken ist. Diese Behauptung habe ich schon in meinem Buche über die Mineralquellen des Elsaß, p. 18—21, aufgestellt, die auch hier durch diese weiteren Versuche sich wieder bestätigt hat. Eine Firma, unter Rubrik C, scheint es mit der Reinigung überhaupt gar nicht genau zu nehmen, denn von 12 Analysen enthielten 6 unendliche, unzählbare Keime, 2 Flaschen enthielten 14—21 780 Keime im Kubikzentimeter, nur eine Flasche enthielt nur 504 Keime im Kubikcentimeter. Diese Firma verkauft ihr Selterswasser in Kugelflaschen.

An den gleichen Tagen, an welchen die frisch gefüllten Seltersflaschen aus den Fabriken entnommen wurden, wurde auch der Keimgehalt der Wasserleitung geprüft, aus der die Fabriken zur Herstellung des Selterswassers ihr Wasser entnehmen. Die Straßburger Wasserleitung enthielt zu jenen Zeiten folgende Keimzahlen: 4, 3, 18, 19, 0, 2, 2, 30, 40, 16, 18. Unsere hiesige Wasserleitung ist also ein keimarmes Wasser und zur Herstellung von Selterswasser geeignet. Es ist daher absurd, wenn man der Fabrik zumuten sollte, ihr Selterswasser mit destilliertem Wasser herzustellen. Da, wo eine gesunde Wasserleitung vorhanden ist, genügt dieselbe hygienisch vollkommen zur Verwendung zu künstlichem Selterswasser.

Auffallend ist die Beobachtung gewesen, daß an Tagen, an welchen unsere Straßburger Wasserleitung mehrere Keime aufwies, mehrere damit hergestellte Selterswasser in sorgfältig gereinigten Flaschen der besseren Straßburger Firma keimfrei waren. Die Ansicht ist daher nicht von der Hand zu weisen, daß gewisse Wasserbakterien unter gewissen Verhältnissen unter höherem Kohlensäuredruck abgetötet werden.

Was nun die noch zulässige Grenzzahl anbetrifft, bei der ein Selterswasser noch als hygienisch gut zu bezeichnen ist oder bei welcher ein solches Wasser zu beanstanden ist, so läßt sich etwas Positives darüber wohl sagen. Ich habe unser Wasserleitungswasser an einem Tage, an welchem es 4 Keime enthielt, in einem sorgfältig sterilisierten Gefäß aufbewahrt. Am 10. Tage hatten sich die 4 Keime zu 2520 vermehrt, am 20. Tage ging die Zahl durch Selbsttötung wieder zurück. Im Sommer, wo das Geschäft ein flottes genannt werden kann, ist an eine solche Vermehrung in der Flasche nicht zu denken, aber im Winter wohl möglich, wenn das Wasser 3—4 Wochen liegen bleibt. Obiges gilt nun für Wasserleitungswasser, der gleiche Versuch mit Selterswasser der Firma B. ergab nach 8 Tagen einen Keimgehalt von 2, 0, 0, 4.

1) Solchen Apparat liefert die Firma Robert Voigt in Dresden-N.

Auch dieser Umstand spricht dafür, daß Wasserbakterien unter 3 bis 10 Atmosphären Druck im Verein mit Kohlensäure sich nicht wesentlich vermehren und, daß ein Selterswasser, dessen Flaschen einer gründlichen sorgfältigen Reinigung vor der Abfüllung unterworfen wurden, auch nach mehreren Tagen den hygienischen Anforderungen entspricht.

Nach meinen Erfahrungen ist es also wohl denkbar, ein keimarmes Selterswasser herzustellen, und ich würde jedes Wasser, deren Keimzahl 300 pro Kubikcentimeter übersteigt, als ein solches bezeichnen, dessen Flaschen nicht genügend gereinigt wurden vor der Abfüllung. Um es jedoch als gesundheitsschädlich zu erklären, müßte schon eine eingehendere qualitative Untersuchung mit Bakterianreicherung und Tierimpfung vorausgehen, denn gewöhnliche Wasserbakterien, wenn sie auch in einer Menge von über 300 pro Kubikcentimeter nachweisbar sind, können nicht ohne weiteres als gesundheitsschädlich bezeichnet werden.

Es ist durch vorliegende Arbeit festgestellt:

- 1) Daß ein keimarmes Wasser aus einer gesunden Wasserleitung unbedingt hergestellt werden kann.
- 2) Daß hoher Keimgehalt des Selterswassers ausschließlich auf mangelhafte Reinigung der Flaschen zurückzuführen ist, wenn städtisches Wasserleitungswasser zur Fabrikation verwendet wird.
- 3) Daß Kugelflaschen zu verwerfen sind.
- 4) Daß Flaschen mit Patentverschluß nach sorgfältiger Reinigung Verwendung finden können.
- 5) daß den Siphonflaschen in jeder Beziehung, sowohl bei Tisch als auch im Krankenzimmer, der Vorzug gebührt.
- 6) Daß verschiedene Wasserbakterien durch höheren Atmosphären-
druck im Verein mit Kohlensäure abgetötet werden.

Nachdruck verboten.

Diphtheriebacillenähnliche Stäbchen bei Anginen mit scharlachartigem Exanthem.

[Aus dem hygienischen Institut zu Kiel (Prof. B. Fischer).]

Von Dr. **Reiner Müller**, 1. Assistenten.

Seit etwa 2 Jahren mache ich eingehendere Studien über die dem Diphtheriebacillus verwandten Mikroorganismen. Hierbei habe ich auch mehrere Monate lang alle im hiesigen Institut zur Untersuchung gelangten Aussaaten von Mandelbelag, darunter auch mehrere von Scharlachkranken, systematisch auf derartige Keime abgesucht. Solche, meist als Pseudodiphtheriebacillen bezeichnet, fanden sich häufig, jedoch nie in vorherrschender Zahl, und trotz umfangreicher Versuche entdeckte ich keinen tierpathogenen darunter. Es mußte mir daher auffallen, als bei einem Mandelbelage das Ausstrichpräparat und auch die Kultur auf Löffler-Serum ein absolut vorherrschendes diphtheroides Stäbchen zeigte, welches sich auch als tierpathogen erwies. Klinisch konnte von den beiden behandelnden Aerzten eine sichere Diagnose der Erkrankung nicht gestellt werden. 4 $\frac{1}{2}$ Monate später hatte ich bei einem zweiten Mandelbelage den gleichen bakteriologischen Befund und, was die Hauptsache, denselben charakteristischen, aber nicht sicher klassifizierbaren klinischen Symptomenkomplex.

I. Klinisches.

Die folgenden klinischen Angaben verdanke ich beim ersten Falle den liebenswürdigen Bemühungen des Herrn Dr. Bargum-Kiel. Die Benutzung der Krankengeschichte des 2. Falles gestattete mir gütigst der Direktor der medizinischen Klinik, Herr Geheimrat Quincke.

1. Fall. Die Gattin eines Militärarztes erkrankt plötzlich mit Fieber, starken Kopfschmerzen, Gliederschmerzen, geringem Hautjucken am ganzen Körper. Halsschmerzen. Es besteht rechtsseitige lakunäre Angina, kein diphtherieähnlicher Belag, keine Rötung des Gaumens. Ferner entsteht schon am ersten Tage ein Hautexanthem, das am meisten mit Scharlach Aehnlichkeit hat. Patientin fühlt sich recht elend. Eine am 2. Tage trotz des klinisch und bakteriologisch unverdächtigen Befundes gemachte Heilserumeinspritzung von 1500 A.E. hat keinen wahrnehmbaren Erfolg. Das bis zu 39° gestiegene Fieber ist am 4. Tage geschwunden. In der Rekonvaleszenz tritt deutliche Abschuppung der Haut wie bei Scharlach auf. Im Urine nie Eiweiß. Nach den Angaben des Herrn Dr. Bargum, der mit dem Gatten die Patientin behandelte, blieb die Diagnose unaufgeklärt. Scharlach, welcher wegen des Exanthems in Frage kam, wurde nicht angenommen, weil die Erkrankte bereits Scharlach überstanden hatte, ferner besonders wegen des Hautjuckens und des Fehlens der Gaumenröte.

Kurze Zeit nachher erkrankte auch der Sohn der Patientin. Nach den Angaben des ihn allein behandelnden Vaters habe er genau dieselbe Krankheit wie die Mutter gehabt, nur etwas leichter. — Ferner seien im Hause gegenüber zur selben Zeit zwei Kinder in gleicher Weise erkrankt; der diese behandelnde Arzt habe erklärt, er halte die Krankheit zwar nicht für Scharlach, zur Vorsicht solle aber doch die Wohnung desinfiziert werden. Genauere Angaben waren durch die etwas verspätete Erkundigung nicht zu erlangen.

II. Fall. 18-jähriger Werftschlosser, erkrankt etwa 4 $\frac{1}{2}$ Monate später als Fall I und wohnt von diesem etwa eine Wegstunde entfernt; empfindet plötzlich abends starkes Hautjucken an beiden Unterarmen mit „Braunfärbung“. Das Jucken geht am nächsten Tage auf den ganzen Körper, besonders auf den behaarten Kopf über. Auch traten Halsschmerzen und starke Schluckbeschwerden auf, die am 3. Tage noch zunahmen. Patient gibt bestimmt an, als Kind Scharlach gehabt zu haben. — Am 5. Tage in der Klinik folgender Befund: Am rechten Unterarm Kratzeffekte, rechte Ellenbeuge stark gerötet. Linker Unterarm und Brust bis zur 4. Rippe mit kleinen lichenartigen roten Effloreszenzen. Zunge belegt, starker Foetor ex ore. Weicher Gaumen gerötet mit kleinen miliaren Hervorragungen. Schwellung der Halslymphdrüsen beiderseits. Beide Tonsillen stark geschwollen, gerötet, mit zahlreichen lakunären gelben Pfröpfen, die auf die Umgebung übergreifen. Keine Koplikischen Flecke, keine Conjunctivitis, keine Rhinitis. Temperatur 38,5°. Therapie: Halspriessnitz, Alaungurgeln. — Am 6. Tage Temperatur zur Norm zurück. Kein Juckreiz, keine Klagen mehr. — Am 7. Tage ist die Hautrötung auch verschwunden; nur Kratzeffekte und Ablösung feiner, nicht lamellöser Epithelschüppchen bestehen noch. — Am 13. Tage sind die Tonsillen frei von Belägen, die Halslymphdrüsen sind nicht mehr geschwollen. Seit einigen Tagen etwas Husten. Seit mehreren Tagen feine Abschilferung des Epithels an beiden Unterarmen. — Am 21. Tage entlassen. — Am 26. Tage wieder aufgenommen, weil seit dem 22. Tage starke Abschuppung an den Händen aufgetreten ist. Es besteht deutliche großlamellöse Schuppung. Dieselbe schwindet nach einigen Tagen und Patient wird am 38. Tage entlassen. — Urin stets eiweißfrei. — Diagnose: Wahrscheinlich Scharlach, besonders wegen der Abschuppung.

Man kann solche Erkrankungen im einzelnen Falle ebensogut für einen abortiven echten Scharlach erklären, wie für eine Krankheit eigener Art. Das hängt völlig von dem subjektiven Ermessen des Arztes ab, da bei Scharlach durch objektive bakteriologische Feststellung der Erreger auch in abortiven Fällen die Sicherung der Diagnose noch nicht möglich ist. Immerhin mußte es doch auffallen, daß 5 Krankheitsfälle durchaus von dem gewohnten Bilde der Scarlatina abwichen, unter sich aber ein recht gleichartiges Aussehen boten, zumal die beiden genauer beobachteten bereits Scharlach überstanden hatten; dazu ergab sich bei diesen 2 nicht zueinander in Beziehung stehenden Fällen ein gleichartiger, sonst unbekannter bakteriologischer Mandelbefund, der sich geradezu aufdrängte, so daß ich mich daraufhin erst nach dem klinischen Bilde erkundigte.

Die Literatur bietet nun durchaus keinen Mangel an scharlachartigen, als eigene Krankheiten beschriebenen Affektionen.

Die sogenannte „vierte Krankheit“ oder „Filatow-Dukessche Krankheit“ oder „Pseudoscarlatine épidémique“ (1), besonders in England für eine Krankheit *sui generis* gehalten, scheint mir nicht vorzuliegen. In der einzigen mir darüber zur Verfügung stehenden Originalarbeit von Bokay (2) finde ich nicht das bei den Kieler Fällen vorhandene Jucken; außerdem habe Filatow einen Fall ohne Angina beschrieben.

Scarlatinois nannte Trammer (3) eine Krankheit, die 1899 epidemisch mehrere Hundert Personen, besonders Kinder, befiel. Die Erscheinungen begannen plötzlich mit auf den Wangen beginnender scharlachartiger Hautrötung und waren stets mit Jucken verbunden. Stets bestanden Angina mit Fieber bis zu 39° und mäßige Beschwerden. Die Dauer betrug nur etwa 1—3 Tage, verschwand dann spurlos bis auf die Schuppung. Am empfänglichsten waren Kinder zwischen 2 und 10 Jahren. Ich halte es für durchaus möglich, daß diese Trammersche Scarlatinois auch bei den oben beschriebenen Fällen vorgelegen hat, jedenfalls stehen sie dieser näher als der typischen Scarlatina. Besonders der stets vorhandene Juckreiz, der schnelle milde Verlauf ist auffallend. Ein Zufall mag es sein, daß bei dem einen von Trammer genauer beschriebenen Falle wie bei dem 2. Kieler Falle eine deutlich lamellöse Schuppung nur an den Händen, sonst nur geringe Abschilferung eintrat.

Trammer gibt an, daß diese Krankheit schon vor ihm von Feltz (4) als „fièvre scarlatiniforme idiopathique“, von Sticker (5) und Schmidt (6) als „Erythema infectiosum“ beschrieben worden sei. Wenn nun auch Sticker (nach Referat) von Halsbeschwerden, gleichmäßig scharlachartigem Exanthem, Jucken und geringem Fieber berichtet, so spricht doch Plachte (7) dieses Erythema infectiosum als eine Krankheit anderer Art an und nennt sie „Megalerythema epidemicum“ oder „Großflecken“; es verlaufe für gewöhnlich ohne Jucken, Schuppen und Fieber. Pospischill (8) nennt das Plachtesche Krankheitsbild „Exanthema variabile“, es umfasse auch die von ihm als „Scarlatinoid“ und „Morbilloid“ bezeichneten Symptomenkomplexe. Vielleicht gehört doch der eine oder andere der Fälle Stickers und Pospischills zu der Trammerschen Scarlatinois; während die von Tripke (9) als „Erythema infectiosum febrile“ und die „Scarlatinoide métadiphérique“ Marfans (10) davon verschieden zu sein scheinen.

II. Bakteriologisches.

Wie bereits gesagt, drängte sich der eigenartige bakteriologische Befund des Tonsillenbelags in beiden Fällen so auf, daß ich daraufhin erst Erkundigungen über das klinische Bild bei den behandelnden Aerzten einzog. Der 2. Fall wurde dem Kieler hygienischen Institut von der medizinischen Klinik übersandt, weil hier gerade systematische Untersuchungen über eine Diphtherieepidemie gemacht wurden. Der Stationsarzt der medizinischen Klinik, Herr Dr. G. Hosemann, hatte als früherer Assistent des hygienischen Instituts während einesurlaubes des Verfassers die Weiterzucht der beim 1. Fall isolierten Stäbchen übernommen; bei der Untersuchung der Kulturen des 2. Falles fiel ihm gleich die Aehnlichkeit der hier wie dort gefundenen Stäbchen auf, ohne das Krankheitsbild des 1. Falles zu kennen; in liebenswürdiger Weise

machte er den Verf. darauf aufmerksam. Die aus beiden Fällen isolierten Stäbchen wurden nun dauernd gleichzeitig auf viele Hunderte Einzelkulturen der verschiedenen Nährböden übertragen, wodurch sich ihre völlige Uebereinstimmung erwies, die auch durch den Tierversuch bestätigt wurde. — Von beiden Fällen erhielt ich am 2. und am 3. Krankheitstage einen Mandelabstrich auf sterilisierten Wattetupfern.

Untersuchung des Mandelbelags: Färbung nach Gram mit Karbolfuchsinanfärbung. In beiden Fällen ist das mikroskopische Bild durchaus beherrscht von mittellangen, nach Gram färbbaren, oft leicht gebogenen Stäbchen, die am meisten Pseudodiphtheriebacillen gleichen. Sie liegen oft in Gruppen; Parallellagerung und V-Formen sind öfter zu beobachten. Die Länge ist durchweg geringer als die der Diphtheriebacillen. Außer diesen Stäbchen finden sich in bei weitem geringerer Menge hier und da Streptokokken, Spirillen und einzelne dem *Bacillus hastilis* ähnliche Gebilde, wie man sie ja auch häufig als Nebenbefunde in diphtherischen Belägen findet. Trotzdem möchte ich doch die Streptokokken wenigstens nicht für ganz bedeutungslos halten, da ich später auf Plattenkulturen sah, wie die Stäbchen in Symbiose mit Streptokokken wesentlich üppiger wuchsen als allein. Ich halte es für möglich, daß sie bei einer schon bestehenden Streptokokken-Angina sich leichter anzusiedeln und zu wuchern vermögen.

Die Kulturen vom Mandelbelag auf Löffler-Serum zeigten fast eine Reinkultur von Stäbchen, die mit denen des direkten Präparates als identisch anzusehen waren. Auf 50—100 derartige Kolonien kam eine Streptokokkenkolonie. Daneben fanden sich in noch geringerer Anzahl schon makroskopisch durch üppigeres Wachstum sich gut unterscheidende Pseudodiphtheriekolonien der gewöhnlichen Art. Diphtheriebacillen wurden nicht gefunden.

Mikroskopisches Aussehen der Stäbchen: Die oben beschriebene Gestalt, welche die Stäbchen im Mandelbelage bieten, haben sie auch auf jungen Blutagar- und Serumagarkulturen, ferner im Tierkörper da, wo sie das lebende Gewebe angreifen. In dieser Form, etwas kürzer als Diphtheriebacillen, gleichen sie am meisten Pseudodiphtheriebacillen. — Sehr charakteristisch ist nun das Aussehen nach 16 bis 24 Stunden auf Löffler-Serum. Bei Anwendung der Gramschen Methode entfärbt sich der größte Teil des Bacillenleibes fast ganz, während ein oder mehrere runde Körnchen darin gefärbt bleiben, selbst bei Nachfärbung mit verdünntem Karbolfuchsin. Die Körnchen lassen sich auch durch einfache Färbung, z. B. mit verdünntem Karbolfuchsin, gut sichtbar machen, indem sie sich stärker färben als die übrige Leibsubstanz. Meist liegt, besonders in den kürzeren Stäbchen, ein einziges Körnchen exzentrisch, aber nicht ganz polständig; und wenn 2 Stäbchen eine V-Form bilden, liegen die Körner derselben nach der Spitze des Winkels hin. — Selbst schon in solchen jungen Löffler-Serumkulturen finden sich aber auch längere Formen mit 2 oder mehr Körnchen; ferner solche mit den verschiedensten, oft monströsen, kolben-, flaschen- oder kugelförmigen Endaufreibungen, bei denen sich auch die genannten Körnchen finden. In dieser scharf hervortretenden Färbbarkeit treten die Körnchen ferner noch auf in alkalischer Bouillon. Hier wächst das Stäbchen meist in langen Formen, die sich größtenteils zu drusenartigen Häufchen verfilzen. Aus diesen Drusen strahlen meist bei 24-stündigen Kulturen einige mit schönen Körnern versehene längere Stäbchen heraus. Mehr nach der Mitte der Drusen hin hatte es oft den Anschein, als

seien die Stäbchen zu Körnerhaufen zerfallen. Ferner fanden sich in solchen 24-stündigen Bouillonröhrchen vereinzelt lange, unverzweigte, fast fadenförmige Gebilde, die mich sehr an den Nekrosebacillus (Bang) erinnerten, besonders durch ihre in ziemlich gleichmäßigen Abständen liegenden Körner. Ob dies vielleicht eine Andeutung über die verwandtschaftlichen Beziehungen dieses in seiner Stellung im System noch unsicheren Mikroorganismus ist? Stellt er vielleicht den obligat anaëroben Typus der zum Diphtheriebacillus in Verwandtschaft stehenden Keime dar? Und bildet mein Stäbchen, wie jener serophil, als fakultativer (s. u.) Anaërobier dazu eine Uebergangsform? — Verzweigte Formen fand ich in Bouillon kaum, häufiger dagegen fast auf allen festen Nährböden und auch im Eiter des Tierkörpers. In diesem Eiter finden sich auch viele Drusen, aus langen, meist sich gut nach Gram färbenden verfilzten Stäbchen- bis Fadenformen gebildet. — Geißeln wurden (nach Zettnow) nicht gefunden, wie auch keine Eigenbewegungen festgestellt werden konnten. — Nach der Gramschen Methode behandelt, bleibt das Stäbchen im Mandelbelag, im Tierkörper, auf jungen Blut- und Serumagarkulturen auch bei längerer Alkoholbehandlung gut gefärbt, während auf anderen Nährböden, besonders in älteren Aussaaten, eine leichtere Entfärbbarkeit gefunden wurde. — Die nach Gram und auch mit einfachen Färbungen (Karbolfuchsin) intensiver färbbaren Körnchen konnten nicht mit der Neisserschen Körnchenfärbung oder mit der Essigsäure-Pyoktanin-Vesuvium-Färbung nach Ljubinsky (11) dargestellt werden, unterscheiden sich also dadurch von den charakteristischen, auch mehr polständigen Körnern der Diphtheriebacillen, während sie darin mit den Körnern des Nekrosebacillus übereinstimmen. Ob sie in Beziehung stehen zu jenen stärker färbbaren Segmenten des Diphtheriebacillus, des Rotzbacillus etc., die die sogenannte Zebrafärbung bedingen, ob sie als sogenannte „Fragmentationssporen“ zu betrachten sind, bleibe dahingestellt. Sporen in dem Sinne der des Milzbrandbacillus sind sie jedenfalls nicht. Derartige Gebilde wurden nicht gesehen; auch wurden die Kulturen durch 1-stündiges Erhitzen auf 56° abgetötet.

Ansprüche an Temperatur und Nährböden im allgemeinen: Gutes Wachstum findet nur bei Brüttemperatur statt; auf Blutagar, Serumagar, Löffler-Serum sieht man es jedoch auch bei 20°, jedoch ist es recht mäßig. Gelatine, auch mit Blut oder Serum vermischt, zeigte bei 20° überhaupt kein oder nur angedeutetes Wachstum; von den festen Nährböden sind auch bei 37° nur die serumhaltigen für eine Züchtung geeignet. Auf gewöhnlichem alkalisierten oder nicht alkalisierten Agar, auf Glycerin- und Traubenzuckeragar findet man nur ein kümmerliches Wachstum im Stichkanal oder wenn man in Petri-Schalen größere Mengen oberflächlich ausstreicht. Einzelne Stäbchen in Agarkulturen wuchsen nie zu Kolonien aus. Das Stäbchen bevorzugt also noch mehr als der Diphtheriebacillus serumhaltige Nährböden; auf flüssigen Nährböden (besonders Bouillon) scheint der Serumzusatz nicht so nötig. — Die Uebertragbarkeit erlischt auch bei gehinderter Austrocknung auf Löffler-Serum bei 37° und bei Zimmertemperatur oft schon nach 14 Tagen, von Serumagar und Bouillon gelang sie noch nach 2 Monaten gut.

Löffler-Serum: Schon nach 16 Stunden 1 mm große Kolonien, rein weiß, fast silberglänzend. Am 2. bis 3. Tage wird die definitive Größe von 2—3 mm erreicht, einmal wurde eine 5½ mm große gemessen. Im reflektierten Licht sieht man einen mattglänzenden Hof in

der Umgebung (Säurebildung? s. u.). Die größeren Kolonien zeigen radiäre und zirkuläre Furchungen. Verreibt man die Bakterienmassen in Wasser, so schwimmt ein Teil wie Mehl an der Oberfläche, besonders gut ist dies zu sehen in der Kapillarschicht an der Wandung mit NaCl-Lösung beschickter Reagenzgläser. Diese Erscheinung ist recht charakteristisch. Die Kolonien lassen sich nicht glatt vom Nährboden abstreifen; die Stäbchen wachsen also wohl etwas in denselben hinein, nicht bloß oberflächlich. Auf schrägem Löffler-Serum ist das Wachstum mäßiger als auf Platten, wohl wegen der größeren Trockenheit. Im Kondenswasser der Röhren bilden sich leicht aufzuwirbelnde, einer starken Agglutination vergleichbare Grieselchen; die Flüssigkeit selbst bleibt völlig klar.

Serumagar: Gutes Wachstum schon nach 20 Stunden bis zu 1 mm Durchmesser. Der Nährboden wird in der Umgebung der Kolonien milchig getrübt. Diese Erscheinung findet sich auch beim Diphtheriebacillus und ist nach Cobbet (12) auf Säurebildung zurückzuführen. Etwa 24-stündige Oberflächenkolonien bieten, 60:1 vergrößert, ein Aussehen, welches mit Sicherheit nicht von gleichalterigen Glycerinagarkulturen des Diphtheriebacillus zu unterscheiden ist. Die Kolonien erscheinen stark körnig, mit unregelmäßigem Rand und etwas dunklerer Mitte. Später wird die Mitte durch gelbbraune Verfärbung fast undurchsichtig und zeigt meist schon makroskopisch einen dunklen Punkt als Zentrum. Tiefenkolonien, 60:1, haben mit ihren unregelmäßigen Ecken ein kieselsteinartiges Aussehen.

Blutagar: 1 Teil Ziegenblut in 10 Teilen Agar. Um die weißen Kolonien entstehen etwa innerhalb 48 Stunden farblose Höfe durch Vernichtung des Blutfarbstoffes. Die Kolonien erreichen einen Durchmesser bis zu 5 mm.

Bouillon (alkalische): Nach 24 Stunden ein die Kuppe des Röhrens ausfüllender Bodensatz, der in Flöckchen aufzuwirbeln ist. Die Flüssigkeit selbst bleibt klar. Zusatz von Serum begünstigt noch das Wachstum. Keine Häutchenbildung an der Oberfläche.

Milch: Keine Gerinnung.

Kartoffeln (sauer): Wachstum gering, dem Impfstrich entsprechend entsteht eine mattweiße Verfärbung des Nährbodens. Die Stäbchen scheinen in den Nährboden hineinzuwachsen.

Flüssiges Serum: In verdünntem oder konzentriertem Serum erfolgt grieseliges Wachstum mit starkem Bodensatz.

Chemische Leistungen:

Säurebildung ohne Gasentwicklung findet statt sowohl aus Traubenzucker wie aus Milchzucker. Die Barsiekowschen Nährböden: Dextrose-Nutrose-Lackmus-Molke und Laktose-Nutrose-Lackmus-Molke werden beide gerötet, gerinnen aber nicht. Schüttelkulturen von Serumagar mit 1 Proz. Traubenzucker oder Milchzucker zeigen trotz guten Wachstums keine Gasblasen. Lackmus-Laktose-Agar nach Drigalski-Conradi, jedoch ohne Kristallviolett und mit Serumzusatz, zeigt bei gutem Wachstum eine intensive Rötung und zugleich deutlichen Milchsauregeruch. Bei der die Trübung bewirkenden Säurebildung im Serumagar kommt wohl der Dextrosegehalt des Serums in Betracht.

Ein die Gelatine verflüssigendes Enzym scheint nicht gebildet zu werden. Gelatineröhren zeigten bei 37° ein Wachstum wie Bouillon. Nach 8-tägigem Wachstum erstarrten sie wieder gut als schräge Röhren.

Indolbildung in Peptonwasser oder Serumpeptonwasser ist höchstens in Spuren vorhanden.

Sauerstoffbedürfnis: Im Stichkanal (Serumagar) erfolgt zunächst in den obersten Schichten ein Wachstum; dies wird aber dann später in den tieferen Schichten wieder völlig eingeholt. Ebenso erfolgt gutes Wachstum bei Züchtung in hoher Schicht; in Bouillon mit Paraffinüberschichtung, und auf Platten in Wasserstoffatmosphäre. Hierdurch unterscheidet sich das Stäbchen stark von den sehr aërophilen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen.

Hämolyse und Blutfarbstoffvernichtung: Die Bildung eines farblosen Hofes auf Blutagarplatten zeigt, daß die Stäbchen nicht nur eine Hämolyse, sondern auch eine Vernichtung des Blutfarbstoffes durch von ihnen ausgehende Stoffe bewirken. Werden Bouillonkulturen mit einigen Tropfen ausgewaschener roter Blutkörper oder durch Blutegelextrakt (13) ungerinnbar gemachten Blutes versetzt, so tritt eine starke Hämolyse ein, am schönsten sichtbar, wenn das nach 24-stündigem Wachstum gut durchgeschüttelte Röhrchen wieder sedimentiert hat. Bei geringen Blutmengen ist auch eine Vernichtung des Farbstoffes zu konstatieren. Die Hämolysinbildung in derartigen Blutbouillonkulturen findet sich nach meinen Versuchen in ähnlicher Weise beim Diphtheriebacillus, dagegen sah ich sie nicht bei meinen Pseudodiphtheriestämmen, unter denen sich auch ein säurebildender befand. Auszentrifugierte, völlig klare Bouillonkulturen bewirken ebenfalls Hämolyse, büßen aber durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 65° diese Fähigkeit ein. Ich fand, daß noch 0,05 ccm einer solchen klaren 9-tägigen Bouillon zur totalen Hämolyse eines Blutropfens genügen; die Versuche damit wurden nach dem Vorgange von Neisser und Wechsberg (14) über das Staphylolysin angestellt. In 3 Wochen alten Kulturen war der Hämolysingehalt wieder nahezu völlig geschwunden. Die Bildung der Höfe auf Blutplatten und die Hämolyse in Bouillon erfolgt auch bei Abwesenheit von Sauerstoff.

Pathogene Wirkungen.

Ohne Resultat blieben Einspritzungen in die Blutbahn bei Ziegen, Kaninchen und Meerschweinchen, bei letzteren in die linke und rechte Herzkammer (nach Morgenroth); ebenso intrapleurale und intraperitoneale Einverleibungen, bei letzteren auch mehrerer Kubikcentimeter 10-tägiger Bouillonkultur, so daß also keine wesentliche Giftwirkung festzustellen war; ferner versagten Einträufelungen von Kultur in den Conjunctivalsack bei Kaninchen und Verfüttern stark stäbchenhaltigen Eiters an Meerschweinchen.

Positiv in jedem Falle war die Einbringung von Kultur unter die Haut von Meerschweinchen, Kaninchen und weißen Mäusen. Es entstehen dabei Abscesse bei Meerschweinchen bis zu Taubeneigröße, die nach verschieden langer Zeit aufbrechen oder sich verkapseln und verkäsen. Keines der Tiere ging daran zu Grunde. Der Eiter enthält die Stäbchen in Reinkultur. Ein hühnereigroßer, völlig abgekapselter und verkäster Herd beim Kaninchen erwies sich bei der künstlichen Eröffnung nach $1\frac{1}{2}$ Monaten als völlig keimfrei. Das Wohlbefinden der Tiere scheint nicht wesentlich beeinträchtigt zu werden; kein oder nur mäßiger Rückgang des Gewichtes. Ein Meerschweinchen, welches zuerst einen taubeneigroßen Absceß 6 Wochen uneröffnet getragen hatte, hat sich bis jetzt gegen alle weiteren Einspritzungen immun erwiesen, während die Kontrolltiere erkrankten. Bei einem Meerschweinchen hatte

sich ein ca. 3 cm langer, 1 cm breiter und bis zu 3 mm dicker Fibrinfetzen unter der Haut gebildet, der sich dann, eiterig von der Umgebung losgelöst, herausziehen ließ. Vielleicht läßt sich eine solche Fibrinausscheidung aus den Körpersäften in Analogie setzen mit der bei Diphtherie. — Eine am 6. Tage getötete Maus mit subkutanem Rückenabsceß zeigte eine vergrößerte Milz. Diese, die Leber und das Herzblut, erwiesen sich als keimfrei.

Schließlich habe ich mir selber eine kleine Oese eintägiger Blutagarkultur in eine Tonsillenlakune verrieben; ohne Erfolg.

Zusammenfassung.

Als Verwandter des Diphtheriebacillus charakterisiert sich das gefundene Stäbchen besonders durch folgende Eigenschaften: Es ist unbeweglich, sporenlos, nicht säurefest. Es färbt sich nach Gram, zeigt ungleichmäßige Färbung des Bakterienleibes; verzweigte kolbenartige Formen sind häufig.

Es ist leicht möglich, daß es in den beschriebenen Fällen ätiologisch eine Rolle gespielt hat; daß es einen bloß zufälligen Befund bildete, ist außerordentlich unwahrscheinlich. Nicht gegen seine ätiologische Bedeutung spricht der negative Selbstinfektionsversuch, da nicht jeder für jede Krankheit empfänglich ist, es sich auch möglicherweise mehr um eine Kinderkrankheit handelt. Er entscheidet ebensowenig wie die Versuche Pettenkofers mit Choleravibrionen, ebensowenig wie die Versuche Trouseaus (15), der sich und mehreren seiner Schüler Diphtheriemembranen über die Tonsillen strich, ohne das klinische Bild der Diphtherie zu erzeugen. Ist doch möglicherweise im vorliegenden Falle erst eine gewöhnliche Erkältungsangina nötig, um das Stäbchen wuchern zu lassen (s. o.). Agglutinationsproben konnten nicht angestellt werden, weil sich auf keine Weise eine homogene Aufschwemmung erzielen ließ.

Sieht man das gefundene Stäbchen als Krankheitserreger an, so wäre das klinische Bild so zu erklären, daß das auf der Tonsille üppig wuchernde Stäbchen ein Gift in den Körper sendet, welches die Dermatitis verursacht, analog der Diphtherie ein lokaler Prozeß, von welchem aus der Körper vergiftet wird. Ein Verschleppen von Keimen in die Haut halte ich für unwahrscheinlich.

Ich hoffe, daß meine Untersuchungen dazu beitragen werden; daß beim Auftreten solcher scharlachartiger Erkrankungen nach den beschriebenen Stäbchen gesucht werde; vermisste ich doch bei allen bisherigen Beschreibungen (s. o.) bakteriologische Untersuchungen. Sollte sich mein Befund bei klinisch gleichartigen Erkrankungen, und nur dort wiederholt machen lassen, so wäre damit wohl die Stellung des Stäbchens als Erreger gesichert. Damit aber wäre eine objektive Handhabe zur Diagnose gegeben, während jetzt jeder solche Erkrankungen als abortive Scharlachfälle oder auch als besondere Krankheiten ansehen kann, je nachdem er zu der Frage Stellung nimmt.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. B. Fischer, danke ich auch an dieser Stelle für die vielfache Förderung meiner Studien.

Literatur.

- 1) Cheinisse, Sem. méd. 1905. No. 13. p. 145.
- 2) Bokay, Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 43. p. 1561; dort weitere Literatur über die vierte Krankheit.

- 3) Trammer, Wiener med. Wochenschr. 1901. No. 13. p. 610.
- 4) Feltz, Gaz. hebdom. de méd. et chir. 1898. No. 28.
- 5) Sticker, Zeitschr. f. prakt. Aerzte. 1899. No. 11.
- 6) Schmid, Wiener klin. Wochenschr. 1899. 23. Nov.
- 7) Plachte, Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 9. p. 223. — Vergl. auch Cheinisse, Sem. méd. T. XXV. 1905. No. 18. p. 205.
- 8) Pospischill, Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 25. p. 701.
- 9) Tripke, Kalender für Frauen- und Kinderärzte, Kreuznach 1901.
- 10) Marfan, Presse méd. 1905. No. 34.
- 11) Blumenthal u. Lipskerow, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 359.
- 12) Cobbet, zit. nach Beck im Handbuch von Kolle u. Wassermann, Bd. II. p. 826.
- 13) Müller u. Gräf, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2.
- 14) Neisser u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI.
- 15) Trousseau, zit. nach Beck im Handbuch von Kolle u. Wassermann, Bd. II, p. 757.

Nachdruck verboten.

Ueber einen Fall von Mischinfektion von Typhus und Paratyphus.

Von Dr. med. **Walter Gaehtgens**,

Assistenten an der bakteriologischen Anstalt für Typhusbekämpfung zu Straßburg i. Els.

Wie bei anderen Infektionskrankheiten, so können auch beim Typhus sich noch weitere Mikroorganismen zugleich mit dem als spezifisch geltenden Erreger im Körper ansiedeln. Dabei kann es sich einmal um das gleichzeitige Eindringen mehrerer Mikrobenarten in den Organismus durch dieselbe Eingangspforte handeln. Häufiger sind jedoch die exakter als Sekundärinfektion bezeichneten Fälle, in welchen durch die von dem typhösen Prozesse geschaffenen Eingangspforten sekundär andere Mikroorganismen in den Körper eindringen. Da indessen diese Differenzierung oft auf erhebliche Schwierigkeiten stößt oder gar unmöglich ist, wird man gut tun, wie bisher üblich, als Mischinfektionen überhaupt die Krankheiten zu bezeichnen, bei denen verschiedenartige Mikroben zu gleicher Zeit krankheitserregend im Körper hausen, unabhängig vom Zeitpunkt des Eintretens.

Es liegt nun nicht im Rahmen dieser kurzen Mitteilung, näher auf die zahlreichen Beobachtungen einzugehen, welche über die vornehmlich durch die pyogenen Kokken hervorgerufenen Mischinfektionen bei Typhus zu berichten wissen. Viel seltener ist der bisher nur in ganz vereinzelt Fällen gelungene Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen bei demselben Individuum.

Conradi¹⁾ hat einen derartigen Fall beschrieben, bei dem er die gleichzeitige Anwesenheit der genannten Bakterienarten in den Faeces und der Infektionsquelle, dem Wasser eines Brunnens, feststellen konnte. Ob beide Bacillen oder nur der eine von ihnen an der Infektion beteiligt sind, bleibt jedoch unentschieden, da die aufklärende Blutuntersuchung leider nicht vorgenommen werden konnte. Es ist daher möglich, daß der eine von ihnen im Darm der Patientin bloß ein saprophytisches Dasein führte. Zeigt doch ein solches Vorkommen der zweite von Conradi geschilderte, übrigens ohne Krankheitssymptome verlaufene Fall, bei dem sich zwar gleichzeitig Typhus- und Paratyphus-

1) Conradi, Deutsche med. Wochenschrift. 1904. No. 32.

bakterien in den Faeces, aber keine agglutinierenden Eigenschaften des Blutes nachweisen ließen.

Diesen Beobachtungen reiht sich die von Kayser¹⁾ gemachte an, welcher aus dem Stuhle einer Typhuskranken am 7. Krankheitstage Typhusbacillen, 6 Wochen darauf in der Rekonvaleszenz aber mehrfach Paratyphusbakterien (Typus B) aus Stuhl und Urin züchten konnte. Hier gelang also der Nachweis beider Mikroben zwar nicht gleichzeitig und während der Fieberperiode, aber doch im Verlaufe derselben Krankheit. Die Ausführung des Castellanischen Versuches war leider nicht möglich, weil das Serum in der 6. Woche nur noch Paratyphusbacillen (1:300) agglutinierte.

Aehnlich lagen die Verhältnisse bei einem kürzlich in der Anstalt beobachteten und von mir mit Genehmigung von Herrn Prof. Forster genauer untersuchten Falle.

August F., 29-jährig, aus Sch., erkrankte am 1. Sept. 1905. Klinischer Typhus. Die Diagnose wurde bakteriologisch bestätigt durch die Blutuntersuchung vom 8. und 9. Sept. Das Serum agglutinierte Typhusbacillen in einer Verdünnung 1:100, Paratyphusbacillen (Typus A und B) dagegen auch mikroskopisch nicht. Aus dem Blute ließen sich nach einer von Kayser²⁾ vorgenommenen Modifikation der Conradschen Gallenmethode nur Typhusbacillen züchten.

Die Untersuchung der Faeces, welche erst nach der Entfieberung vorgenommen wurde, unter Anwendung des Malachitgrünverfahrens von Lentz und Tietz³⁾ und von Klinger⁴⁾, ergab die beiden ersten Male, am 29. Sept. und 5. Okt., ein negatives Resultat. Bei der 3. Untersuchung des Stuhles, am 11. Okt. fanden sich auf einer Platte nebeneinander vereinzelt Typhus- und Paratyphuskolonien (Typus B), die sich durch Züchtung auf Agar, Lackmusmolke und Traubenzuckerbouillon und durch die makroskopische Reagenzglasagglutination als solche bestätigen ließen. Es bestand mithin die Möglichkeit, daß die Paratyphusbacillen entweder bloß ein saprophytisches Dasein im Darne des F. führten oder den Patienten sekundär wirklich infiziert hatten. Die Antwort auf diese Frage konnte nur die Sero-reaktion geben, ferner, um eine mögliche Gruppenagglutination auszuschließen, der Castellanische⁵⁾ und der Pfeiffersche⁶⁾ Versuch.

Bei der 2mal, am 14. und 19. Okt., angestellten Widalschen Reaktion agglutinierte das Serum Typhusbacillen in einer Verdünnung 1:250 und Paratyphusbacillen (Typus B) in einer Verdünnung 1:100 (Typus A = 0). Um nun zu entscheiden, ob lediglich eine Gruppenagglutination vorlag oder nicht, wurde der Castellanische Versuch der getrennten Agglutinin-sättigung gemacht. Es zeigte sich, daß nach 3-stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C einerseits das mit Paratyphus B gesättigte Serum Typhusbacillen in einer Verdünnung 1:250, und andererseits das mit Typhus gesättigte Serum Paratyphusbacillen in einer Verdünnung 1:50 agglutinierte. Da indessen die Häufchenbildung bei den Paratyphusbacillen eine sehr deutliche war und sich überdies der Titer nach 24-stündigem Stehen bei Zimmer-

1) Kayser, Deutsche med. Wochenschrift. 1904. No. 49.

2) Wird demnächst veröffentlicht.

3) Lentz und Tietz, Münchner med. Wochenschrift. 1903. No. 49.

4) Klinger, Dissertation Straßburg. 1904.

5) Castellani, Zeitschrift f. Hyg. u. Inf. Bd. XL. 1902.

6) Pfeiffer und Kolle, Zeitschrift f. Hyg. u. Inf. Bd. XXI. 1896.

temperatur auf 1:150 erhöht hatte, während neu eingebrachte Typhusbacillen gänzlich unbeeinflusst blieben, ließ sich eine Gruppenagglutination wohl mit Recht ausschließen.

Agglutinationswerte.

	Normales Patientenserum	Mit Typhus gesättigtes Serum	Mit Paratyphus B gesättigtes Serum
Typhus	+ 1:250	0 1:50	+ 1:250
Paratyphus B	+ 1:100	+ 1:50 (150) s. oben	0 1:50

Die Annahme einer Mischinfektion wurde vollauf bestätigt durch den Pfeifferschen Versuch, der in folgender Weise¹⁾ angestellt wurde und zwar mit Paratyphusbacillen, da ja die Infektion mit Typhusbacillen bereits durch das Ergebnis der Blutuntersuchungen am Beginn der Erkrankung festgestellt worden war. Es wurden 6 mg eines 24-stündigen Agarrasens von Paratyphusbacillen in 6 ccm Löfflerscher Nährbouillon gleichmäßig verteilt, und nun je 1 ccm = 1 mg 4 ausgewachsenen Meerschweinchen von ungefähr gleichem Gewicht intraperitoneal injiziert. Außerdem erhielt Tier I, welches als Kontrolle diente, 0,9 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung, Tier II 1 ccm $\frac{1}{10}$ Patientenserum ($\frac{1}{10}$ = zehnfach verdünnt), Tier III 0,5 ccm $\frac{1}{10}$ Serum + 0,4 ccm Kochsalzlösung und Tier IV 0,1 ccm $\frac{1}{10}$ Serum + 0,8 ccm Kochsalzlösung. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde wurden dann die Meerschweinchen getötet und nach möglichster Mischung des eingebrachten Materiales unter aseptischen Kautelen die Leibeshöhle geöffnet. Von jedem Tier wurden nun mehrfach je zwei 25 mg fassende Spiralen Bauchhöhlenflüssigkeit zu Agarplatten ausgegossen und diese nach 24 Stunden bei schwacher Vergrößerung betrachtet. Die Zählung der Keime ergab für die einzelnen, durch obige römische Ziffern gekennzeichneten Tiere folgende Verhältniswerte:

Tier I : II : III : IV = 300 : 20 : 35 : 70 Kolonien.

Es hatte also in der Tat das Serum in der Leibeshöhle der Tiere II, III und IV bedeutende bakterizide Fähigkeiten entwickelt, so daß sich gegenüber der Kontrolle eine erhebliche Abnahme der Keimzahl feststellen ließ. Im Einklang hiermit stand das Bild, welches sich gleich nach Tötung der Tiere bei mikroskopischer Betrachtung der Bauchhöhlenflüssigkeit im hängenden Tropfen darbot. Während der Untersucher in der Kontrolle überaus zahlreiche, lebhaft bewegliche Bakterien erblickte, ließen sich in den Präparaten II, III und IV nur sehr wenige, schwer oder meist gar nicht bewegliche Stäbchen beobachten.

Aus diesen Ergebnissen des Castellanischen und des Pfeifferschen Versuches darf geschlossen werden, daß eine Infektion des Organismus mit Paratyphusbacillen (Typus B) stattgefunden hatte, d. h. daß hier eine Mischinfektion vorlag, welche, da keine auffallenden klinischen Erscheinungen vorlagen, unerkannt geblieben wäre, wenn nicht der merkwürdige Stuhlbefund Veranlassung zu genaueren Untersuchungen gegeben hätte. Das Zustandekommen der Infektion ließe sich vielleicht erklären durch die gleichzeitige Anwesenheit eines Paratyphuskranken, der auf demselben Saal lag und kurz vorher im Urin massenhaft Paratyphusbacillen (Typus B) ausgeschieden hatte. Auffällig war das schnelle Verschwinden der Bakterien

1) Diese Anordnung mußte gewählt werden, weil der mir zur Verfügung stehende Paratyphusstamm erst in sehr großen Dosen letale Wirkungen entfaltete.

aus den Exkrementen; bei den am 14., 19. und 25. Okt. vorgenommenen Untersuchungen ließen sich weder Typhus- noch Paratyphusbakterien im Stuhl und Urin nachweisen.

Im Anschluß an diesen Fall sei es mir gestattet, in Kürze noch zwei von mir in letzter Zeit gemachte Beobachtungen zu erwähnen, welche zwar nicht Mischinfektionen sind, aber doch insofern ein gewisses Interesse in Anspruch nehmen, als sich auch bei ihnen, bakteriologisch anscheinend Typhusfällen, in der Rekonvaleszenz Paratyphusbacillen (Typus B) nachweisen ließen.

I. Gottfried C., 53-jährig, aus G., erkrankte am 3. Okt. 1905. Klinischer Typhus. Am 6. Okt. Typhusbacillen im Stuhl. 27. Okt. Stuhl und Urin negativ. 14. Nov. Paratyphusbacillen (Typus B) im Stuhl, Urin negativ. 27. Nov. Stuhl und Urin negativ. Eine Blutuntersuchung war leider nicht möglich, da der Patient jede Blutentnahme verweigerte.

II. Selma H., 25-jährig, aus Str., erkrankte am 10. Okt. 1905. Klinischer Typhus. Am 18. Okt. agglutinierte das Blut der Patientin Typhusbacillen in einer Verdünnung 1:50 mikroskopisch. Am 21. Okt. kam Patientin nieder. Das aus der Nabelschnur gewonnene Blut des Neugeborenen agglutinierte nicht, dagegen das aus der Placenta stammende mütterliche Blut Typhusbacillen in einer Verdünnung 1:50 mikroskopisch. Aus dem Blute ließen sich in keinem Falle Typhusbacillen züchten. 2. Nov. und 8. Nov. Stuhl und Urin negativ. Am 23. Nov. zahlreiche Paratyphusbacillen (Typus B) im Stuhl; Urin negativ. Am 30. Nov. und 6. Dez. Stuhl und Urin negativ. Das Blut agglutinierte am 25. Nov. Typhusbacillen in einer Verdünnung 1:200, Paratyphusbacillen dagegen weder makroskopisch noch mikroskopisch.

Beide Beobachtungen sind durch das plötzliche Auftreten der Paratyphusbacillen in der Rekonvaleszenz interessant. Während sich bei I eine Infektionsquelle nicht ermitteln ließ, könnte bei II, ebenso wie bei dem obigen Falle F., die gleichzeitige Anwesenheit einer Paratyphuskranken, in deren Faeces sich wenige Tage vorher Paratyphusbacillen (Typus B) nachweisen ließen, das Auftreten der Bakterien im Darm der H. erklären. Da das Blut bei II am Anfange zwar nur schwach, später aber stark (1:200) Typhusbacillen allein agglutinierte, darf man vielleicht, trotz des fehlenden Bacillennachweises, das Bestehen einer Infektion mit Typhusbacillen annehmen und die Anwesenheit der Paratyphusbacillen im Darm lediglich als saprophytisches Dasein ansprechen. Diese Schlußfolgerung ist bei Fall I (Gottfried C.) dagegen nicht gestattet, da hier die aufklärende Blutuntersuchung fehlt, und daher die Entscheidung über die Bedeutung der Paratyphusbacillen unmöglich ist.

Das Gemeinsame aller drei, voneinander so verschiedenen Fälle besteht in dem Ausbleiben jeder Störung im Befinden der Rekonvaleszenten, im schnellen Verschwinden der Bakterien und im Auftreten der Stäbchen in den Faeces zur gleichen Zeit, nämlich ungefähr 6 Wochen nach dem Beginn der Krankheit. Diese bereits mehrfach von uns gemachte Beobachtung, daß sich in der 3. Woche der Rekonvaleszenz gar nicht selten ein Auftreten der Krankheitserreger feststellen läßt, ist auch von anderen Typhusstationen bestätigt worden und zeigt, wie notwendig das geübte Verfahren ist, die Untersuchung des Rekonvaleszentenmaterials nicht vor dem genannten Zeitpunkte abzuschließen.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Pathologie der akuten eitrigen Halsdrüsenentzündungen des ersten Kindesalters.

[Institut für chirurgisch-pädiatrische Klinik zu Florenz.
Direktor Prof. T. Stori.]

Bakteriologische Untersuchungen

von

Dr. Giuseppe Conforti und Dr. Tito Bordoni, Assistenten.

In den ersten Zeiten des Lebens werden die Lymphdrüsen des Halses vorzugsweise von akuten Phlogosen ergriffen, so daß an dieser Stelle die Adenitis eine fast diesem Lebensalter eigentümliche Krankheitserscheinung darzustellen scheint. Der Grund dieser großen Neigung zu Entzündungen wird bei diesen Lymphorganen hauptsächlich gesucht in ihren funktionellen Beziehungen zur behaarten Haut, zum Gesicht, und zu nach außen hin offenen Höhlen — Nase, Mund und Rachen — die sehr reich an Bakterien sind, ferner in der Häufigkeit, mit der die einen Teil dieser letzteren zwei Höhlen bekleidende Mucosa namentlich zur Zeit der Dentitio fortwährend Entzündung hervorrufenden Läsionen ausgesetzt ist, die die Eintrittsstelle von Keimen und deshalb Ursache von Entzündungen für die entsprechenden Drüsen sein können.

Gewöhnlich jedoch entgehen solche primäre Läsionen, namentlich die des Mundes und des Rachens, einer genauen Untersuchung, entweder weil sie zu klein sind oder weil sie schon geheilt sind, wenn die ersten Zeichen der Phlogose in der Drüse erscheinen.

Wir haben dieses Jahr in dem mit der Klinik verbundenen Ambulatorium eine ziemlich große Zahl von diesen akuten, nicht tuberkulösen, eitrigen Drüsenentzündungen beobachtet und auf chirurgischem Wege geheilt. Einige waren schon nach außen hin offen, andere dagegen nicht; nur diesen letzteren wandten wir unsere Aufmerksamkeit zu und führten in jedem einzelnen Falle die geeigneten bakteriologischen Untersuchungen aus.

Wir halten es für nützlich, nun über die Resultate zu berichten, da, soviel sich aus unseren bibliographischen Untersuchungen ergibt, bis jetzt noch keine Abhandlung über die Bakteriologie dieser Drüsenentzündungen veröffentlicht worden ist. Die von endoraler Infektion herrührenden Formen scheinen uns außerdem vom bakteriologischen Standpunkte aus ein besonderes Interesse zu besitzen, um zu erkennen, welche und wie viele die Varietäten von Mikroorganismen es sind, die man dort antrifft; diese Varietäten könnten von vornherein als zahlreich erscheinen, wenn man bedenkt, daß der Ausgangspunkt der Infektion sich in einer an Keimen sehr reichen Höhle befindet.

Hinsichtlich der bakteriologischen Untersuchungen haben wir uns genau an die gewissenhafteste Technik gehalten. Nachdem der Teil mit Sublimat, Seife und Aether desinfiziert und endlich reichlich mit sterilisiertem Wasser abgewaschen worden war, wurde der Abszeß auf aseptische Weise eröffnet. Von dem Pus wurden Präparate auf Deckgläsern gemacht (für die dann die gewöhnlichen Färbungsmethoden zur Anwendung kamen) und das Material wurde in einer Glasröhre mit Bouillon ver-

dünnt, aus der dann Aussaaten in einfachem und mit Glycerin versetzten Agar vorgenommen wurden; aus den verschiedenen Arten der erhaltenen Kolonien wurden Kulturen durch Infixion in Gelatine bereitet.

Einen gewissen Zeitabschnitt hindurch verfehlten wir es niemals, Kulturen auf Bouillon mit Taubenblutserum anzulegen. Wir erprobten diesen letzteren Nährboden während der letzten Masernepidemie, die in unserer Stadt wütete, und besonders während der Periode der Abnahme der Epidemie, d. h. wenn nach Abnahme der Bedeutung der Krankheit als Form eines Exanthems, wie man aus Erfahrung und aus jüngst veröffentlichten Abhandlungen weiß, der „Bacillus hämophilus“ einen besonderen eitererzeugenden Charakter erwirbt. Bemerken wir aber schon jetzt, daß wir niemals die Anwesenheit eines solchen Bacillus bei direkter Untersuchung des Pus konstatieren noch seine Entwicklung in der Kultur erhalten konnten.

Auf jeden Fall besitzt dieser unser Befund, obschon er negativ ist, einen gewissen Wert; der Umstand, daß wir bei den von uns untersuchten Eiterungen niemals diesen Mikroorganismus weder allein noch mit anderen Bakterienformen verbunden angetroffen haben, kann zur Annahme verleiten, daß er nicht im stande ist, eitrige Prozesse in den Drüsen zu erregen.

Um ferner die Virulenz der isolierten Mikroorganismen zu untersuchen, injizierten wir $\frac{1}{2}$ ccm oder weniger der 24-stündigen Bouillonkultur ins Cavum peritoneale weißer Mäuse.

Nachdem wir dies vorausgeschickt haben, wollen wir sofort über die Resultate unserer Untersuchungen berichten.

Diese beziehen sich auf 75 Kinder (46 Knaben und 29 Mädchen) von verschiedenem Alter — von 4 Monaten bis zu 6 Jahren. Von diesen waren einige blühend und kräftig, der größte Teil jedoch zeigte hinsichtlich der allgemeinen Gesundheitsverhältnisse Verfall und schweres Dahinsiechen.

Aus Gründen der Kürze können wir nicht über den bakteriologischen Befund eines jeden Falles berichten, sondern werden nur die Gesamtergebnisse mitteilen.

Die von uns ausgeführten bakteriologischen Untersuchungen führen zu dem Resultate, daß der größte Teil der eitrigen Halsdrüsenentzündungen mit mehr oder weniger akutem Verlaufe dem Staphylococcus pyogenes aureus zuzuschreiben ist. Diesen haben wir in der Tat ganz allein bei 71,6 Proz. der Fälle und mit dem albus verbunden in 5,3 Proz. angetroffen, während der Streptococcus nur in 14,2 Proz. und der Staphylococcus pyogenes albus als einziger Keim in 8,9 Proz. auftritt.

Dieser hohe Prozentsatz von Drüsenentzündungen, der vom Staphylococcus aureus herrührt, erregt keine Verwunderung, da dieser Keim ja derjenige ist, welcher sich am häufigsten in jedem Eiterherd vorfindet. Von größerem Interesse ist die Tatsache, daß, welches auch immer die Varietät des die Drüsenentzündung hervorrufenden Mikroorganismus ist, die Entzündung fast immer in wenig akuter Weise verläuft.

Bei der Mehrzahl der von uns behandelten Kinder wurde die Drüse zuerst schmerzhaft, hart und geschwollen; bald fixieren Erscheinungen von Periadenitis sie an die benachbarten Gewebe. Die Haut wird rot, aber nie sehr ödematös oder sehr glänzend; endlich hat man beim Anfühlen die Empfindung der Fluktuation, die Drüse ist geschmolzen, aber

die Schmelzung ist fast nie eine vollständige. Von den ersten Anzeichen der Phlogose bis zum Erscheinen des Abszesses, der sich stets im Innern der Drüse erhält, verlaufen gewöhnlich 10, 15, 18 Tage; während dieser Zeit fehlen gewöhnlich Anzeichen allgemeiner Infektion; selten tritt Fieber auf, das keine hohen Grade erreicht. Der in diesen Fällen stets isolierte Mikroorganismus ist der *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Zuweilen ist der Verlauf noch langsamer; wenn der kleine Patient uns zur Beobachtung überbracht wird, datiert die Krankheit schon seit 15 oder 20 Tagen und bei der Untersuchung findet sich eine umschriebene Anschwellung vom Volumen einer dicken Nuß oder einer Orange, die über die umliegenden Gewebe hervorragte. Diese Anschwellung ist kaum verschiebbar durch periglanduläre Phlogose; trotzdem sind die Grenzen ziemlich deutlich bestimmt. Die sie bedeckende Haut ist beträchtlich verdünnt, gerötet, zuweilen von wenig deutlich ausgeprägter Röte, und sehr oft mit kleienartigen Abschuppungen bedeckt. Die Krankheit verläuft bis zu jenem Tage unter wenigen subjektiven, lokalen Symptomen und mit keinem allgemeinen Symptom. Dieser klinische Verlauf kann mitunter den Zweifel entstehen lassen, daß es sich um eine tuberkulöse Form handle; der Verlauf nach dem chirurgischen Eingriff beweist aber, daß es sich um eine gewöhnliche abgeschwächte, eitrige Infektion handelt. Bei der bakteriologischen Untersuchung findet sich gewöhnlich der *Staphylococcus pyogenes albus*; niemals findet auf den passenden Nährböden eine Entwicklung des Kochschen Bacillus statt.

In anderen Fällen endlich ist die Dauer der Krankheit eine kürzere, die lokalen Symptome sind intensiver, das Oedem ist beträchtlich und zeigt sich auch in der Entfernung. Die Haut wird schnell rot; es ist Fieber vorhanden. Beim Befühlen, das sich als sehr schmerzhaft herausstellt, bemerkt man die Fluktuation nicht deutlich. Ein chirurgischer Eingriff wird nötig entweder wegen der allgemeinen oder der lokalen Symptome (Druck). In diesen Fällen ist der bei der bakteriologischen Untersuchung vorgefundene Mikroorganismus der *Streptococcus*; nicht selten war jedoch bei Formen mit diesem nämlichen schnellen Verlauf die Infektion von staphylokokkischer Natur.

Wir halten es für interessant, an dieser Stelle darauf hinzuweisen, daß der Verlauf der Infektion nie den allgemeinen Gesundheitsverhältnissen des Patienten entsprach, da sich oft in gleicher Weise ein zuweilen akuter, oft subakuter Verlauf zeigte sowohl bei kräftigen und blühenden Kindern als auch bei denjenigen, deren Gesundheitsverhältnisse sehr hinfällig waren. Außerdem beschränkten sich diese Infektionen stets auf eine oder wenige Drüsen, ohne Tendenz, sich auf die anderen Drüsen des Halses auszubreiten.

In Anbetracht des verschiedenen Verlaufes dieser Drüsenentzündungen wollten wir die Virulenz der isolierten Mikroorganismen untersuchen und verwendeten bei diesen Untersuchungen weiße Mäuse — wie wir sehen werden, standen die experimentellen Resultate in Uebereinstimmung mit den klinischen Tatsachen.

Von der Bouillonkultur von 24 Stunden nahmen wir einen halben Kubikcentimeter oder weniger, eine Menge, die vermittelt einer durch Kochen in Wasser sterilisierten Spritze in die Bauchhöhle von zwei Mäusen injiziert wurde.

Kaum verendeten die Tiere, so wurden aus dem Herzblute Bouillonkulturen angelegt, die uns zu weiteren neuen Inokulationen dienten.

Was den *Staphylococcus pyogenes aureus* betrifft, so fanden wir, daß die Mäuse, in deren Peritoneum $\frac{1}{2}$ ccm 24-stündiger Bouillonkultur injiziert worden war, entweder überlebten (in 3 Fällen) oder nach 36, 38 bis 40 Stunden starben (in 17 Fällen). 10mal injizierten wir ins Peritoneum von Mäusen $\frac{1}{4}$ ccm Bouillonkultur, die wir dem Herzblute einer infolge der erlittenen Inokulation verendeten Maus entnommen hatten; alle Tiere starben innerhalb 10—14 Stunden.

In 5 Fällen untersuchten wir die Virulenz des *Staphylococcus pyogenes albus*; wir verwendeten dieselbe Menge Bouillonkultur und sahen, daß die Mäuse zweimal widerstanden, indem sie spärliche Krankheitserscheinungen darboten, während sie in den drei anderen Fällen nach 40 Stunden verendeten.

Von den aus dem Pus von drei durch *Streptococcus* verursachten Drüsenentzündungen gewonnenen Kulturen injizierten wir nach der gewöhnlichen Methode $\frac{1}{8}$ ccm ins Peritoneum von 3 Mäusen, die in sehr kurzer Zeit verendeten.

Die akuten eitrigen Halsdrüsenentzündungen des Kindesalters rühren also fast stets vom *Staphylococcus pyogenes aureus*, selten vom *Streptococcus*, noch seltener vom *Staphylococcus pyogenes albus* her; auf jeden Fall jedoch wird die Infektion immer durch Mikroorganismen von gewöhnlich abgeschwächter Virulenz verursacht, die zuweilen sogar beträchtlich abgeschwächt ist.

Erst vor ziemlich kurzer Zeit veröffentlichte Untersuchungen (Perez) haben nachgewiesen, daß in den normalen Lymphganglien ein latenter mikrobischer Parasitismus vorhanden ist. Man kann zugeben, daß die Mikroorganismen in den Ganglien sehr viel von ihrer Virulenz verlieren und darin sozusagen im latenten Zustande verbleiben, wie man auch zugeben kann, daß sie infolge veränderter Bedingungen individueller Resistenz oder verminderter Resistenz des sie beherbergenden Gewebes in einem bestimmten Augenblick wieder virulent werden und ihr phlogogenes Vermögen entfalten können. Auf diese Weise müßte man nach Perez gewisse Rückfälle und gewisse leichte Drüseninfiltrationen erklären.

Wir glauben jedoch, wenn wir auch nicht leugnen, daß es sich bisweilen bei diesen Drüsenentzündungen um eine Erhöhung der Virulenz jener Mikroorganismen handeln kann, die gewöhnlich auch in den normalen Lymphganglien „in Latenz“ vorhanden sind, daß es sich in der großen Mehrzahl der Fälle nicht um eine wieder erwachte Virulenz handelt, sondern um eine wahre Infektion, die sich von der behaarten Haut oder von der Nasenhöhle aus, namentlich aber auf dem Wege der Mucosa des Mundes oder des Rachens ausgebreitet hat, insofern als diese sich oft weder gerötet noch abgeschabt zeigen. Wahrscheinlich ist die Läsion der Mucosa eine sehr leichte gewesen und sie ist unserer Beobachtung entgangen, entweder wegen ihrer geringen Ausdehnung oder weil sie schon geheilt war.

Gewiß trifft man es nicht häufig an, daß Keime mit gewöhnlich hohem phlogogenen Vermögen fast immer bei diesen Drüsenentzündungen einen ziemlich niedrigen Grad der Virulenz besitzen sollen. Das kann aber dem Umstande zuzuschreiben sein, daß die Mikroorganismen im Lymphgewebe in dem Maße, wie die Entzündungserscheinungen sich entwickeln, eine beträchtliche Abschwächung erfahren, oder es kann auch die erwähnte Abschwächung im Munde eingetreten sein infolge besonderer Bedingungen, unter denen die Keime selbst sich durch den

Aufenthalt in der Mundhöhle befanden. Daß dies eintreten kann, läßt sich aus der Art und Weise herleiten, wie sich Wunden der Lippen und des Mundes verhalten, deren Vernarbungsprozeß, wie es die klinische Erfahrung beweist, im allgemeinen fortschreitet, ohne daß schwere septische Erscheinungen ihn stören.

Eine weitere Ueberlegung, die man anstellen kann, besteht in folgendem: Woher kommt es, daß man in diesen vereiterten Drüsen eine so beschränkte Variabilität von Mikroorganismen antrifft, während im Mund und im Rachen eine bakterische Flora üppig gedeiht? In Anbetracht der funktionellen Verbindungen der Lymphdrüsen des Halses mit nach außen hin offenen Höhlen sollte es scheinen, als ob die sich darin entwickelnden Infektionen weit leichter polybakterische sein müßten, namentlich wenn man in diesen als unmittelbarer Ausgangspunkt der Infektion betrachteten Höhlen die Anzeichen einer speziellen typischen Infektion nicht findet. Nun ist kaum anzunehmen, daß durch die abgeschabte Mucosa einfach eine Bakterienform oder wenige hindurchgehen; es ist logischer, anzunehmen, daß eine verschiedenartige Anzahl zu den Ganglien gelangt, daß aber die pathogenen Mikroorganismen, wenn sie dort angelangt sind, die ihnen eigentümlichen Reaktionserscheinungen veranlassen, während alle anderen Bakterien sehr schnell zu Grunde gehen oder wahrscheinlich durch Phagozytose zerstört werden.

Was die in den ergriffenen Drüsen einander folgenden anatomisch-pathologischen Läsionen betrifft, so konnten wir keine Untersuchung durchführen. Denn in den Fällen, in denen die Entzündung in den Lymphdrüsen sich in ihren ersten Phasen befand, mußte eine medizinische Abortivkur versucht werden, und in den anderen, die einen chirurgischen Eingriff erforderlich machten, waren die Läsionen schon zu weit fortgeschritten.

Um zusammenzufassen, können wir sagen:

1) Die akuten Infektionen der Halsdrüsen befallen mit Vorliebe die schwächsten Kinder, verschonen jedoch auch nicht die sich einer blühenden Gesundheit erfreuenden, eine Tatsache, die sich in jeder Weise bei allen akuten Infektionen zeigt.

2) Die erwähnten Infektionen treten auf infolge von Läsionen der behaarten Haut oder des Gesichtes oder spezieller der Mucosa des Mundes und Rachens. Sie verbreiten sich auf dem Lymphwege (selten auf dem Blutwege) und veranlassen am häufigsten eine beschränkte Infektion ohne Tendenz, sich über die anderen Halsdrüsen auszubreiten.

3) Diese Infektionen haben sehr selten einen sehr akuten Verlauf; in der Mehrzahl der Fälle verlaufen sie auf subakute Weise.

4) Was diesen Verlauf betrifft, so haben wir gefunden, daß in den Fällen mit rapiderem Verlauf der pathogene Erreger der *Streptococcus* war, in den weniger akuten der *Staphylococcus pyogenes aureus* oder *albus*; diese Tatsache stimmte stets überein mit den an Tieren ausgeführten Experimenten.

5) Was die Häufigkeit dieses pathogenen Erregers betrifft, so haben wir zuerst den *Staphylococcus p. aureus* zu nennen; es folgen in absteigender Linie der *Streptococcus*, der *Staphylococcus p. albus*, der *aureus* mit dem *albus* verbunden.

6) Im allgemeinen nahmen die akutesten Formen nach dem chirurgischen Eingriff eine kürzere Periode der Wiederherstellung in Anspruch.

Literatur.

- Bezançon et Labbé, Infection ganglionnaire expérimentale. (Société de Biologie. 26 Mars 1898.)
 —, Etude sur le mode de réaction et le rôle des ganglions lymphatiques dans les infections expérimentales. (Archives de Méd. expérim. 1898.)
 Bonome, Contribution a l'étude des staphylococques. (Arch. Ital. de Biologie. T. VIII. p. 10.)
 Delbet, P., Production expérimentale d'un lymphadénome ganglionnaire. (Compt. rend. de l'Acad. des Sciences. 1895.)
 Fabrini, Contributo allo studio dei processi infiammatori suppurativi delle ghiandole salivari, con speciale riguardo alla loro patogenesi. (Clinica Moderna. 29 giugno 1903.)
 Giarrè e Picchi, Contributo allo studio del bacillo emofilo. (Lo Sperimentale. 1903.)
 Nonenberg, Sur l'évolution de l'inflammation produite dans les ganglions lymphatiques par le staphylococque doré. [Thèse.] Bonn 1888.
 Perez, Del modo di comportarsi del sistema ganglionare linfatico rispetto ai microorganismi. (Annali d'Igiene sperimentale. 1897—98.)
 Poncet, Adénites génieunes. (Soc. anat. de Méd. de Lyon. — Lyon méd. 1896. No. 29.)
 Potier, Réaction cellulaire du tissu lymphoïde dans les infections chroniques. (C. r. de la Société de Biologie. 1903.)
 Trofimov, Ueber die Veränderungen der Lymphdrüsen. St. Petersburg 1896.
 Verneuill, Acad. des Sciences. 3 sept. 1888. 11 févr. 1889.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung von *Aspergillus niger* und *Aspergillus glaucus* auf die Larven von *Culex* und *Anopheles*.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

2. Mitteilung.

Von Bruno Galli-Valerio und Jeanne Rochaz-de-Jongh.

In einer ersten Mitteilung haben wir ¹⁾ die Verletzungen beschrieben, die wir durch Infizierung der Larven von *Culex* und *Anopheles* mit *A. niger* und *A. glaucus* erhielten. Wir haben unsere Versuche in vitro wie im Felde fortgesetzt und erstatten hiermit darüber Bericht.

I. Experimente in vitro.

In kleine Gefäße, die 100 g Wasser und Larven von *Culex* und von *Anopheles* enthalten, werden sporulierte Kulturen von *A. niger* oder *A. glaucus* gebracht. Die Infizierung des Wassers wird erzeugt entweder durch Abschaben der Kultur und Mischen der Sporen und des Myceliums mit dem Wasser, oder indem man Rüben- oder Kartoffelstücke, auf welchen der *Aspergillus* kultiviert wurde, klein zerstückelt und in das Wasser legt. Diese zweite Methode ist für diese Experimente entschieden zu verwerfen, da das Wasser in kurzer Zeit durch die Zersetzung des Nährbodens, speziell der Kartoffeln, faul werden kann.

a) Experimente mit *A. niger*.

1. Exp.: Vom 15. April bis 1. Juli 1905 werden 42 Larven von *Culex* in eines der oben beschriebenen Gefäße gestellt. Davon gingen ein 40, 2 verwandelten sich in Puppen und entwickelten Imagines.

2. Exp.: Vom 19. April bis 21. Juni werden 38 Larven von *Culex*

1) Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. XXVIII. p. 174.

hinzugefügt. Davon gingen 25 ein, 13 verpuppten sich; von diesen Puppen gingen 9 ein und 4 entwickelten Imagines.

3. Exp.: Vom 21. April bis 23. Juni werden 26 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gingen 25 ein, eine verpuppte sich und ging zu Grunde.

4. Exp.: Vom 21. April bis 3. Juli werden 15 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gingen 13 ein, 2 verpuppten sich und entwickelten Imagines.

5. Exp.: Vom 24. April bis 6. Juli werden 20 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gingen 15 ein, 5 verpuppten sich; von diesen Puppen gingen 3 zu Grunde und 2 entwickelten Imagines. Diesem Gefäß wurden 2 Kaffeelöffel voll kleiner 3 Tage alte *Culex*-Larven hinzugefügt. Diese Larven entwickelten sich normal während einiger Tage, dann gingen sie alle zu Grunde in einem Zeitraum von einigen Wochen.

6. Exp.: Vom 24. April bis 15. Juli werden 19 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gingen 16 ein, 3 verpuppten sich; von diesen Puppen ging eine zu Grunde, eine ging während der Entwicklung ein, und die dritte entwickelte sich. Diesem Gefäß werden 2 Kaffeelöffel voll kleiner, 3 Tage alter *Culex*-Larven hinzugefügt. Alle gehen in einem Zeitraum von einigen Wochen ein.

7. Exp.: Vom 1. Mai bis 8. Mai werden 10 Larven von *Culex* hinzugefügt. Alle 10 gehen ein.

8. Exp.: Vom 3. Mai bis 28. Juni werden 35 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gingen 27 ein, 8 verpuppten sich; von diesen Puppen gingen 2 ein und 6 entwickelten Imagines.

9. Exp.: Vom 5. Mai bis 6. Juli werden 15 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gingen 12 ein und 3 verpuppten sich; von diesen Puppen ging eine ein und 2 entwickelten Imagines. Es wird diesem Gefäß ein Kaffeelöffel voll junger, 5 Tage alte *Culex*-Larven hinzugefügt; alle gehen in einem Zeitraum von 13 Tagen ein.

10. Exp.: Vom 16. Mai bis 3. Juli werden 13 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gehen 12 ein, eine verpuppt und entwickelt sich.

11. Exp.: Vom 27. April bis 31. Juli werden 12 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gingen 9 ein, 3 verpuppten sich und gingen alle drei zu Grunde.

12. Exp.: Vom 27. April bis 10. Juni werden 10 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gingen 7 ein, 3 verpuppten sich. Von diesen Puppen ging eine zu Grunde und zwei entwickelten Imagines.

13. Exp.: Vom 5. Juni bis 3. Juli werden einige Kaffeelöffel voll junger 1-tägiger *Culex*-Larven hinzugefügt. Alle gingen vom 14. Juni bis 3. Juli zu Grunde.

14. Exp.: Vom 19. Juni bis 3. Juli werden einige Kaffeelöffel voll junger *Culex*-Larven von 12 Stunden hinzugefügt. Alle gehen vom 26. Juni bis 14. Juli zu Grunde.

15. Exp.: Vom 9. Mai bis 12. Juni werden 13 Larven von *Anopheles bifurcatus* hinzugefügt. Davon gingen 11 ein, 2 verpuppten sich. Von diesen Puppen ging eine zu Grunde, die andere entwickelte sich. Diesem Gefäß wird ein Kaffeelöffel voll kleiner 6 Tage alte *Anopheles*-Larven hinzugefügt. Alle gehen in einigen Tagen zu Grunde.

b) Experimente mit *A. glaucus*.

Vom 1. Mai bis 19. Juni werden 14 Larven von *Culex* hinzugefügt. Davon gingen 9 ein, 5 verpuppten sich. Von diesen Puppen gingen 3 zu Grunde und 2 entwickelten Imagines.

Wenn wir nun einen Blick auf diese Experimente werfen, sehen wir, daß von 282 großen *Culex*- und *Anopheles*-Larven, die in Gefäßen mit Wasser und Abschabsel von Kulturen von *A. niger* und *A. glaucus* gestellt worden waren, 231 zu Grunde gingen, 55 sich verpuppten, von welchen Puppen nur 25 sich zu Imagines entwickelten.

In den Gefäßen nun, welche Larven von *Culex* und *Anopheles* ohne Zutat von *Aspergillus* enthielten, ging die Entwicklung in normaler Weise vor sich, mit nur derjenigen Sterblichkeit, die gewöhnlich unter den im Laboratorium konservierten Larven beobachtet wird. Es ist also nicht zu bezweifeln, daß *A. niger* und *A. glaucus* und speziell der erste, eine schädliche Wirkung auf die Entwicklung der Culiciden haben. Das makroskopische wie das mikroskopische Examen der Culiciden, die der Wirkung von *A. niger* und *A. glaucus* ausgesetzt worden waren, ließ folgende Tatsachen feststellen: Viele mit *A. niger* infizierte Larven gehen durch die Infizierung ein und weisen einen mit Sporen vollgestopften Verdauungstraktus auf, aber ohne Ausstoßung des Darmes. Dieses war der Fall in allen mit *A. glaucus* infizierten Larven.

Zahlreiche Larven hingegen, welche mit *A. niger* infiziert worden waren, zeigten die typische Verletzung, die schon früher von uns beschrieben wurde¹⁾, d. h. die Ausstoßung des Darmes, welcher der Larve anhaftet und das Aussehen eines langen schwarzen Fadens hat, der von der Analextrimität ausgeht. Bei den raschen Bewegungen der Larve trennt sich oft der ausgestoßene Darm ganz vom Leibe ab, oder teilt sich in kleine Stückchen. Dieses Jahr konnten wir auch die interessante Beobachtung des Uebergangs der Sporen auf Puppe und auf Imagines machen, dies ist vielleicht die Ursache der hohen Sterblichkeit unter den Nymphen. Die Sporen befanden sich im Verdauungsapparat und in einem Fall bot eine Puppe verlängerte Sporenformen von *A. niger*, wie wenn dieselben im Entwicklungsstadium wären. Ob die infizierten Imagines leiden oder nicht, können wir nicht sicher behaupten, da wir nur in einigen Fällen das unmittelbare Eingehen nach oder auch während der Entwicklung feststellen konnten. Die Aspergillosis der Larven von *Culex* geht somit auf Puppe und Imagines über.

II. Experimente im Felde.

• Einige Pfützen und Fässer, welche Larven von *Culex* und *Anopheles* enthielten, dienten zu diesen Versuchen, indem man sie mit *A. niger* infizierte.

1. Exp.: Am 24. November 1904 wird in ein Faß mit zahlreichen Larven von *Culex* und *Anopheles* der Inhalt von 4 Probegläsern mit Kulturen von *A. niger* auf Rüben geschüttet. Am 27. November zählen wir nur noch 14 Puppen von *C. annulatus*, 12 Larven von *Culex* und keine einzige von *Anopheles*. Während die 14 Puppen beim mikroskopischen Examen keine nennenswerte Infektion darbieten, sind die 12 Larven total infiziert und ihr Darm mit Sporen überfüllt. Es ist demnächst sehr wahrscheinlich, daß viele Larven sich infiziert haben, zu Grunde gegangen und auf den Boden des Fasses gesunken sind, und sich mit den vielen dort befindlichen Ueberresten vermischt haben.

Am 20. Mai 1905 enthält dieses Faß noch große Larven von *Culex* und viele junge Larven, die 2—3 Tage alt sind. 4 Kulturen von *A. niger* werden darin geschüttet. Am 27. Mai entnehmen wir dem Fasse zwei Puppen und einige Larven von *Culex*. Die Puppen entwickeln, ins

1) Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. XXVIII. p. 174.

Laboratorium getragen, *C. annulatus*, die sich als nicht infiziert zeigen, während alle Larven in einem Zeitraum von 10 Tagen eingehen und zahlreiche Sporen im Darmkanal aufweisen. Am 9. Juli fanden wir in diesem Faß einige nicht infizierte Puppen von *C. annulatus*.

Am 27. Juli fügen wir noch 6 Kulturen von *A. niger* hinzu. Am 2. August sind noch viele lebende Larven von *Culex* und *Anopheles* und einige tote. Von 9 besichtigten Larven werden 4 infiziert gefunden, 2 Puppen dagegen sind nicht infiziert.

2. Exp.: Am 1. April 1905 werden in eine Pfütze von 1,50 m Länge, 0,75 m Breite und 0,08 m Tiefe mit zahlreichen Larven von *Culex* 6 Kulturen von *A. niger* geschüttet. Am 8. April finden wir noch viele lebende Larven; in einigen derselben zeigt der Darm eine dunkle Färbung, wie bei den durch *A. niger* infizierten Larven vorkommt. Das mikroskopische Examen bestätigt die Infektion.

Am 15. April und am 23. April finden wir noch zahlreiche lebende Larven. Von 24 eingesammelten und mikroskopisch untersuchten Larven sind 10 infiziert. Dieses Experiment konnte leider nicht fortgesetzt werden, da die Pfütze austrocknete.

3. Exp.: Am 23. April werden in eine kleine Pfütze, reich an *Culex*-Larven, viele Rübenstückchen mit Vegetation von *A. niger* geschüttet. Am 30. April finden wir nur wenige lebende Larven. Beim mikroskopischen Examen zeigt sich der Darm mit Sporen von *A. niger* ganz gefüllt.

4. Exp.: Am 30. April werden zwei beieinander stehende kleine Pfützen, die eine mit 4 Kulturen, die andere mit 2 Kulturen von *A. niger* infiziert. Am 6. Mai finden wir in denselben viele lebende Larven und einige Puppen. Mikroskopisch untersucht, hatten einige dieser Larven den Darm überfüllt mit Sporen von *A. niger*. 22 Larven, an diesen Pfützen eingesammelt und ins Laboratorium getragen, sind vom 6. bis 31. Mai zu Grunde gegangen und wiesen *A. niger* im Darm auf. Von 8 Puppen gingen 2 zu Grunde und 6 entwickelten sich zu Imagines. Imagines und Puppen boten keine Infektion dar. Die Pfützen trockneten ein.

5. Exp.: Am 19. August werden in eine kleine, durch Düngerabfluß verunreinigte und an *Culex*-Larven sehr reiche Pfütze einige *Aspergillus*-Kulturen geschüttet. Nach einigen Tagen finden sich noch einige wenige Larven, aber es ist unmöglich, die Anwesenheit infizierter und toter Larven festzustellen, wegen der vielen Ueberreste, die den Boden bedecken. Unter den eingesammelten Larven weisen einige *A. niger* im Darm auf.

Die von uns eben vorgeführten Experimente, wenn sie auch weniger schlagend als diejenigen *in vitro* sind, wegen der Schwierigkeit der Kontrolle, bestätigen in genügender Weise die Möglichkeit, Larven mit *A. niger* auch in Pfützen zu infizieren, wenn diese Pfützen keine große Ausdehnung bieten. Es besteht kein Zweifel, daß eine gewisse Anzahl Larven auch im Freien mit *A. niger* infiziert werden können. Obgleich wir unsere Versuche über diesen für die Larven der Culiciden schädlichen Parasiten als interessant erachten, wiederholen wir doch, daß wir immer mehr der Meinung sind, daß er praktisch nicht anwendbar ist, da durch die vielen anderen Nahrungsmittel der Larven seine Wirkung unsicher wird, da eine gewisse Schwierigkeit besteht, die Quantität Kulturen mit der Ausdehnung der Pfütze zu proportionieren und zuletzt, da wir in Petroleum und Saprol zwei viel rapidere und sicherere Vertilgungsmittel besitzen.

Ueber Ermüdungs- und Reduktionstoxine.

[Aus dem medizinisch-poliklinischen Institut der Universität Berlin.]

Sammelreferat.

Von Dr. **Alfred Wolff-Eisner**, Charlottenburg.

In beifolgendem Sammelreferat soll eine kurze Uebersicht über Untersuchungen gegeben werden, die in den letzten 2 Jahren von Weichardt über die Theorie der Ermüdung ausgeführt worden sind und die nach ihrer Bedeutung und den Ausblicken, die sie zu eröffnen scheinen, eine zusammenfassende Besprechung rechtfertigen. Im Anfang des Jahres 1904 trat Weichardt mit einer Theorie hervor, daß die Ermüdung durch ein Toxin bedingt werde, das in völliger Analogie mit den bisher bekannten Toxinen: Ricin, Abrin, Diphtherie und Tetanustoxin konstituiert sei, dessen Hauptcharakteristicum also darin zu suchen sei, daß Injektionen dieses Ermüdungstoxines ein Antitoxin erzeugen, das in vivo und in vitro die Wirkung des Toxins neutralisiert. Diese Theorie frappierte zunächst durch ihre Eigenartigkeit, da ganz allgemein unter den Physiologen die Ansicht verbreitet war, daß die Ermüdung durch chemisch analysierbare Stoffwechselprodukte, vor allem durch Milchsäure und andere bedingt sei. So kam es, daß die Frage nach der Ermüdung bisher nicht zur Diskussion stand.

Und doch waren schon immer mancherlei Tatsachen bekannt, welche dazu hätten Veranlassung geben können, die Frage nach der Natur der Ermüdungsstoffe einer erneuten Durchsicht zu unterziehen. Kannte man doch die erstaunliche Wirkung, welche ein zweckmäßiges Training hat und wußte man doch, daß ausgebildete, d. h. trainierte Sportradfahrer, Turner, Schwimmer, Ruderer Leistungen vollführen können, welche schon nach relativ kurzer Zeit für Rekruten oder Nichttrainierte den Tod zur Folge haben würden, oder, wie es in der Immunitätssprache ausgedrückt heißt, *Multipla der dosis letalis* bedeuten. Es erscheint unmöglich, diese unbezweifelbaren Tatsachen allein dadurch zu erklären, daß die Blutversorgung und die Blutdurchströmung im trainierten Muskel eine günstigere geworden ist. Wenn man auch nicht vergessen darf, daß bei komplizierteren kombinierten Bewegungen das bessere Zusammenwirken der Synergisten mit Teil an der größeren Ausdauer hat, so ist dies bei vielen der oben angeführten Bewegungsarten, deren Synergismus jeder normale Mensch beherrscht, wie z. B. Gehen, Bergsteigen, nicht im besonderem Maße der Fall, und es spricht mancherlei dafür, daß der Trainierte über ein Antitoxin verfügt, das die Wirkung der sich bildenden Ermüdungsstoffe gleich bei der Bildung derselben neutralisiert. Von diesem Gesichtspunkte aus würde es auch erklärlich erscheinen, warum für ein sachgemäßes Training nicht nur die betreffende Muskelübung erforderlich ist, sondern mindestens in gleicher Weise die Innehaltung einer bestimmten Lebensweise.

Wenn so die Möglichkeit einer Mitwirkung von Toxinen bei der Ermüdung vorhanden war, so war doch von vornherein vorzusehen, daß eine derartige Lehre auf manchen Widerstand der zunächst in Betracht kommenden physiologischen Fachkreise stoßen würde, um so mehr als in physiologischen Kreisen die ganze, doch so wohlfundierte Toxin- und Immunitätslehre immer noch als eine zweifelhafte Errungenschaft

betrachtet wird. Es galt so zunächst einmal zu zeigen, daß die Ermüdung, wenn sie weiter getrieben wird, als unter normalen Verhältnissen, zu einer Giftanhäufung führt, welche den Tod herbeiführen kann.

Die Versuche, eine derartige Wirkung der Ermüdung zu zeigen, begegnen außerordentlichen experimentellen Schwierigkeiten. Beim Menschen sind zwar nach außerordentlichen Anstrengungen bisweilen schwere klinische Erscheinungen beobachtet, z. B. nach Verirren in den Bergen, Schwimmen nach dem Untergang eines Schiffes etc. Doch sind solche immerhin seltenen Vorkommnisse bisher nicht Gegenstand klinischen Studiums geworden, und in Feldzügen, wo solche Ermüdungszustände wohl häufiger vorkommen, fehlt die Zeit und die Sammlung für die erforderlichen exakten Beobachtungen. Der Physiologe benutzt zur Ermüdung von Tieren Laufapparate, doch ist für größere Hunde langes Laufen scheinbar keine so übermäßige Anstrengung, jedenfalls gelang es Weichardt nicht, durch Benutzung dieser Technik, die Wirkung des Ermüdungstoxins zur Anschauung zu bringen. Weichardt bildete infolge des Versagens der bisher verwandten Apparate eine ganz eigenartige Technik aus, deren Prinzip darin besteht, die Tiere auf einer rauhen Fläche, z. B. auf einem Teppich, ununterbrochen rückwärts zu ziehen. Die Tiere wehren sich dagegen mit aller Kraft und suchen nach vorwärts zu kommen, finden bei diesem Bestreben auf dem rauhen Teppich für ihre Extremitäten einen gewissen Halt, und infolge der Anstrengung der Körpergesamtmuskulatur kommt es zu einer Anhäufung von Ermüdungsstoffen. Innerhalb der ersten Stunde sind bei den Meerschweinchen noch keine pathologischen Erscheinungen wahrzunehmen. Ungefähr nach einer Stunde beginnen sie einzusetzen, die anfangs erhöhte Temperatur fängt an, abzusinken, das Tier wird schlaff und reagiert auf Reize nur träge. Es gelingt durch einfache Fortsetzung des obigen Ermüdungsmodus bei Meerschweinchen die Temperatur auf 30 bis 28° herabzusetzen. Die Technik ist, wie man sich wird denken können, durchaus keine mühelose und stellt an die Beharrlichkeit und Unermüdlichkeit des Experimentators selbst große Anforderungen. Noch schwieriger als beim Meerschweinchen ist es, eine Maus zu ermüden, welche, wie alle kleinen Tiere, eine verhältnismäßig viel größere Schnelligkeit der Bewegungen und größere Unermüdlichkeit besitzt, so daß es bei Anwendung der gleichen Technik bei Mäusen erst nach ca. 6-stündiger ununterbrochener Ermüdungsversuche gelingt, die Wirkung der Ermüdungsgifte hervorzurufen.

Nachdem es ihm so gelungen war, experimentell den klinischen Symptomenkomplex forzierter Ermüdung darzustellen, war es die nächste Aufgabe, eine Darstellung der Ermüdungsstoffe zu versuchen. Bei diesen Versuchen wurde zunächst festgestellt, daß die Ermüdungsstoffe sich niemals dort finden, wo man zunächst geneigt ist, sie aufzusuchen, nämlich im strömenden Blut. Es zeigt sich, daß das Blut **nur** als Antitoxinträger fungiert und daß im Blute, selbst beim hochermüdeten Tier, sich keine Ermüdungsgifte vorfinden. Ihr Nachweis gelang, wie hier schon kurz erwähnt sein soll, später in den Muskeln. Es wird durch diese Befunde, die während des ganzen Lebens anhaltend dauernde Tätigkeit der Herzmuskulatur etwas verständlicher, als es nach unseren bisherigen Kenntnissen der Fall war, da das Herz von allen Muskeln der mit Blut am besten versorgte ist und das Blut als Antitoxinträger die im Herzmuskel sich bildenden Ermüdungsstoffe

sofort zu neutralisieren vermag; um so mehr, da selbst im ermüdeten Tier in die Blutbahn keine oder nicht meßbare Mengen von Ermüdungsstoffen übergehen.

Ist es gelungen, ein Tier durch die oben beschriebene Technik bis zu schweren Ermüdungserscheinungen zu bringen, ist es nicht möglich, durch Fortsetzen derselben Technik eine weitere Anhäufung der Ermüdungsstoffe herbeizuführen, da das hoch ermüdete soporöse und wenig reagierende Tier durch das Rückwärtsziehen nicht mehr zur Muskelaktion angeregt wird. Dagegen kann man auch jetzt noch die Muskelaktion durch schwache faradische Ströme oder durch starke Knochenperiostreize anregen und die weitere Produktion von Ermüdungsstoffen durch den Muskel herbeiführen; unter fortgesetztem Herabsinken der Körpertemperatur erfolgt dann nach einiger Zeit der Tod, der durch künstliche Atmung noch im letzten Moment abgewendet werden kann.

Die Art und Weise, wie die Temperaturkurve unter der Einwirkung der Ermüdungstoxine zu stande kommt, ist in ihren Einzelheiten noch nicht genügend erforscht, wie denn überhaupt die Gründe für das Verhalten der Körpertemperatur bei Einwirkung von Toxinen und Bakterienleibern noch sehr der Klarstellung bedürfen. Jedenfalls teilt das Ermüdungsgift mit zahlreichen Endotoxinen und Toxinen die Eigenschaft, daß nach der Injektion eine Temperatursteigerung einsetzt, die dann allmählich in starken Temperaturabfall übergeht. Am ähnlichsten ist die durch das Ermüdungstoxin bedingte Temperaturkurve mit der Wirkung der Cholerainfektion resp. da die gleiche Kurve auch durch Injektion abgetöteter Choleravibrionen erhalten wird, mit der Wirkung der in den Leibern der Choleravibrionen enthaltenen Endotoxine. Vor allem ist, was bisher nicht bekannt ist, diese Art der Temperaturkurve allen Toxinen und Endotoxinen gemeinsam. Daß sie bisher noch nicht festgestellt worden ist, liegt meines Erachtens daran, daß der anfängliche Temperaturanstieg ein sehr schneller und sehr vorübergehender ist, dem sehr bald die Temperaturerniedrigung folgt, so daß zur Feststellung dieser Tatsachen eine Messung in Abständen von 10 Minuten erforderlich ist.

Bei den wichtigen prinzipiellen Unterschieden, die jetzt zwischen Toxin und Endotoxin gemacht werden müssen, war es natürlich von Wichtigkeit festzustellen, ob das Ermüdungsgift zu den Toxinen oder zu den Endotoxinen zu rechnen wäre. Wir müssen zur Klarstellung dieser Verhältnisse die Unterschiede zwischen Toxinen und Endotoxinen kurz angeben (wie ich es schon ausführlich im Centralblatt für Bakteriologie 1904 getan habe): Die Toxine sind Giftstoffe, welche die Eigenschaft haben, in geeigneter Weise Tieren injiziert, die Produktion von Stoffen anzuregen, welche die Giftstoffe neutralisieren; und zwar folgen diese Antitoxine dem Gesetz der multiplen Proportionen, welches besagt, daß Multipla der schützenden Dosis auch gegen Multipla der einfach tödlichen Dosis Schutz verleihen. Die Endotoxine dagegen bilden überhaupt keine schützenden Antikörper, sondern sämtliche Endotoxine haben die Eigenschaft gemeinsam, daß die Vorbehandlung mit diesen Stoffen dem betreffenden Organismus keinen Schutz, sondern sogar eine wachsende Empfindlichkeit verleiht. An Stelle der Schutzkörper treten in dem Serum der vorbehandelten Tiere Stoffe auf, welche die Lösung der injizierten Eiweißsubstanz, z. B. der Körperzellen oder von Bakterien beschleunigen. Diese Beschleunigung der Lösung (Lyse) der injizierten Eiweißsubstanzen und die beschleunigte und verstärkte Reaktions-

fähigkeit des Organismus, wie v. Pirquet und Schick die gesteigerte Empfindlichkeit sehr richtig benannt haben, schafft für den Fall, der praktisch am häufigsten vorkommt, nämlich für den Fall der Invasion von Bakterien eine Art von Immunität, die praktisch allen Anforderungen genügt. Durch diese oben erwähnten Hilfskräfte werden die Bakterien der Auflösung zugeführt, bevor die bei der Auflösung der Bakterien freiwerdenden Eiweißstoffe, selbst bei hochgesteigerter Empfindlichkeit, die Minimaldosis der Giftwirkung erreichen, da die Bakterienvermehrung in Fortfall kommt. Praktisch ist diese Immunität vollkommen ausreichend, in Bezug auf das Vorhandensein von Antikörpern muß diese Immunität direkt als Pseudoimmunität bezeichnet werden.

Nach diesen Definitionen wenden wir uns wieder den Ermüdungsstoffen zu. Sie zeigen folgende Eigenschaften: Sie sind nicht dialysierbar und haben also die Eigenschaften kolloidaler, hochmolekularer Eiweißkörper, wobei an dieser Stelle die Frage nicht ventiliert zu werden braucht, ob die Toxine selbst Eiweißkörper sind, oder — was wahrscheinlich ist — ob wir nur noch nicht über die geeigneten Methoden verfügen, die Toxine von den Eiweißkörpern zu trennen. Die Ermüdungsgifte bilden Antitoxine, welche dem oben erwähnten Ehrlichschen Gesetz der „multiplen Proportionen“ zu folgen scheinen, woraus hervorgehen würde, daß sie als Toxine und nicht als Endotoxine aufzufassen sind.

Nachdem die Tatsachen gefunden worden sind, liegt es nahe, a posteriori, dem Gedanken Ausdruck zu geben, daß die Bildung von Endotoxinen bei der Körperarbeit kaum denkbar ist; nicht darum, weil an sich alles biologische Geschehen zweckmäßig ist, sondern darum, weil mit der Bildung von Endotoxinen bei der Arbeit an Stelle der Gewöhnung und der Erscheinungen des Trainings eine wachsende Empfindlichkeit gegenüber der Arbeit eintreten müßte und demzufolge dann jede mit Muskelaktion einhergehende körperliche Arbeit unmöglich wäre.

Das Toxin ist, wie die meisten, thermolabil, sogar in dieser Beziehung noch etwas empfindlicher, da es schon nach 2-stündigem Erwärmen auf 56° C unwirksam wird. Im flüssigen (gelösten) Zustand nimmt die Toxizität sehr bald ab; es besteht hier eine Analogie mit den anderen Toxinen, welche wahrscheinlich darauf beruht, daß sämtliche gelösten Toxine gegen die Wirkung des Sauerstoffes außerordentlich empfindlich sind, d. h. ihre Wirkung verlieren.

Wenn das Toxin bei kühlen Temperaturen gehalten wird, wie sie z. B. die flüssige Luft ermöglicht, ist die Wirkung des Sauerstoffes auf das Toxin eine verminderte, und durch Kombination der Aufbewahrung unter Wasserstoff bei niederen Temperaturen kann man das flüssige Ermüdungstoxin einige Zeit wirksam erhalten, besser noch durch eine Methode, die sich bei sämtlichen Toxinen bewährt hat, dadurch, daß man durch Eindampfen des gelösten Toxins im Vakuum bei niederer Temperatur (bei nicht über 25°) dauerhaftes Gift erhält (Ausfällung mit Ammonsulfat) die bei den anderen Toxinen ebenfalls zum Ziele führt, hat sich beim Ermüdungstoxin nicht bewährt.

Gegen Desinfizientien ist das Toxin ebenfalls empfindlich, und hierin liegt die Schwierigkeit der Gewinnung des Toxins aus Muskeln, da die Anwendung von Desinfizientien infolge dieser Eigenschaft ausgeschlossen ist.

Die Darstellung des Toxins war unter diesen Umständen eine schwierige. Wie schon oben erwähnt, finden sich die Ermüdungstoxine im Blute und im Blutserum nicht. Die Stoffe lassen sich am besten

aus den Muskeln gewinnen, und es bestehen hier die großen Schwierigkeiten, bei den längere Zeit in Anspruch nehmenden Prozeduren steril zu arbeiten, da die geringste Infektion alle Bemühungen zu nichte macht. Es sollen hier die Methoden, den Muskelpreßsaft steril zu gewinnen, nicht ausführlich geschildert werden. Bei der Güte des Muskelplasmas als Nährboden für Mikroorganismen ist die Aufgabe des sterilen Arbeitens selbst für den geschulten Bakteriologen eine schwierige.

Das sterile Muskelplasma wird nun gegen steriles eisgekühltes Wasser dialysiert, es werden auf diese Weise die Produkte des Eiweißabbaues, denen man bisher die Ermüdung zuschrieb, herausdialysiert. Zur Gewinnung von Ermüdungstoxin aus Muskelplasma verwendet man natürlich Tiere, welche nach dem oben beschriebenen Verfahren ermüdet und danach durch Knochenperiostriche und Faradisieren, das nach erfolgten Tode noch eine Weile fortgesetzt wird, weiter zur Produktion von Ermüdungstoxin angeregt worden waren.

Die Wirkungen des Ermüdungstoxins bei Tieren sind folgende: In kleineren Dosen bewirkt es bei den injizierten Tieren Ermüdungszustände, Schlaftrunkenheit, deren Feststellung in den leichtesten Graden dadurch gelingt, daß man die Tiere dazu bringen kann, längere Zeit in sehr eigenartigen Lagen zu verbringen. Ganz speziell gelingt dies bei mittelgroßen Mäusen, welche nach Einwirkung des Ermüdungstoxins auf den Rücken gelegt, in dieser Lage verharren, während es bei normalen Mäusen selbst nach längeren Bemühungen nicht in gleicher Weise gelingt, sie in einer solchen Lage zu fixieren.

Die Injektion des Toxins kann subkutan oder peritoneal oder intravenös wie üblich erfolgen, das Gift scheint jedoch auch sehr leicht von den Schleimhäuten aus resorbiert zu werden und es gelingt sehr schön, Mäuse durch Aufstreichen der Giftlösung auf die Conjunctiven zu ermüden. Es wird auf diese Weise die Technik der Ermüdungsversuche erleichtert.

In größeren Mengen bewirkt das injizierte Gift den Tod der Tiere unter andauerndem Abfall der Temperatur, d. h. unter Erscheinungen, die denen analog sind, welche man durch direktes Ermüden der Tiere erzeugen kann.

Die Injektion des Toxins bewirkt bei Versuchstieren eine echte antitoxische Immunität; kleine Tiere scheinen nicht geeignet zu sein, da sie sehr häufig an den wiederholten Injektionen zu Grunde gehen (wie die analogen Erfahrungen von Behring u. A. auch mit dem Tetanustoxin vorliegen, mit dem es bei Meerschweinchen und Mäusen so gut wie unmöglich ist, Antitoxinbildung zu erzeugen, wenn man nicht durch Jodtrichlorid oder Erhitzen verändertes Tetanusgift benutzt). In Analogie mit dem Tetanustoxin gelingt beim Ermüdungstoxin die Antitoxinerzeugung bei größeren Tieren, z. B. beim Pferde, sehr gut, wenn auch hier außerordentliche Vorsicht nötig ist, um zu große Tierverluste zu vermeiden.

Das Antitoxin ist im Gegensatz zu den sonst bekannten Toxinen leicht dialysierbar, da es sonst aber sämtliche Eigenschaften der Antitoxine besitzt, vor allem nach dem Gesetz der multiplen Proportionen sich bindet, d. h. das Toxin im Tierkörper und *in vitro* absättigt, so ist auch dieser Differenz gegenüber den anderen Antitoxinen kein zu großes Gewicht beizulegen, da nach neuen Forschungen bekannt ist, daß die Differenzen der Toxine und Antitoxine in Bezug auf die Dialysierbarkeit rein quantitative sind (cf. Michaelis, Bindungsgesetze, Bornträger, 1905).

Infolge dieser Eigenschaft der leichten Dialysierbarkeit ist es ziemlich gut möglich, das Antitoxin von dem Serumeiweiß zu trennen, indem man das Wasser, welches zur Dialyse des Antitoxins benutzt wurde, im Vakuum zur Trockne abdampft. Weichardt berichtet, auf diese Weise z. B. Präparate erhalten zu haben, von denen $\frac{1}{20}$ mg 10 mg Ermüdungstoxin absättigte. Weichardt gibt an, daß das Antitoxin durch den Verdauungstraktus resorbiert wird, doch ist für diese Angaben wohl durch weitere Versuche erst die Bestätigung zu erbringen.

Die Wirkung des Ermüdungsantitoxins im Tierversuch ist folgende: Durch Vermischung des Ermüdungstoxins mit Antitoxin wird die Wirkung des Giftes neutralisiert, wie leicht bei Versuchen mit Kontrolltieren beobachtet werden kann. „Wird das Antitoxin einem Tiere gewissermaßen prophylaktisch“ vorher eingespritzt, so widersteht es bei den oben beschriebenen Ermüdungsversuchen den Wirkungen der Ermüdung, d. h. das Tier bleibt vollkommen frisch und zeigt keinen Temperaturabfall, wenn es beim Kontrolltier schon zu schweren Erscheinungen gekommen ist.

Es ist schwierig, aus Tierversuchen Schlüsse über die Anwendbarkeit eines Mittels beim Menschen zu ziehen, und die vereinzelt bisher am Menschen vorliegenden Versuche erscheinen mir noch nicht ausreichend, um schon jetzt aus ihnen Schlußfolgerungen zu ziehen. Jedenfalls ermuntern die bisher vorliegenden Tatsachen zur Fortführung der Versuche, da die Tierversuche als vielversprechende bezeichnet werden müssen und, soweit dies an anderen Tierspecies möglich ist, festgestellt ist, daß die Anwendung des Antitoxins eine unschädliche ist. Sehr erleichtert würde die klinische Anwendbarkeit des Serums werden, wenn sich die Angabe bestätigt, daß eine Resorption des Antitoxins beim Menschen auch vom Darmkanal aus geschieht, was bekanntlich bei den anderen Antitoxinen nur beim Säugling möglich ist und auch nur dann, wenn das Antitoxin mit artgleichem Serum, d. h. mit Ammenmilch, verabreicht worden ist.

Zur Beurteilung der klinischen Bedeutung der Ermüdungstoxine und Antitoxine müssen wir uns noch einmal einige Tatsachen vergegenwärtigen: die Tatsache, daß das Blut Antitoxinträger ist, und weiter die Tatsache, daß das Toxin nicht am ermüdeten, sondern nur am hochermüdeten Tier nachweisbar ist, was doch besagt, daß die Regulations-einrichtungen des Organismus, welche die Absättigung des Toxins durch Antitoxin besorgen, außerordentlich gut funktionieren müssen, daß also die Antitoxinbildungen eine starke und hohen Anforderungen genügende ist. Da bei der Bildung von Ermüdungsgiften eine verstärkte Bildung von Antitoxinen angeregt wird und so eine Selbstimmunisierung erfolgt (vulgo Training), so erscheint es im allgemeinen nicht zweckmäßig, dem menschlichen Körper künstlich Antitoxine zuzuführen. Es würden nach diesen Ausführungen für die Antitoxinanwendung nur die Fälle in Betracht kommen, wo Sportleistungen erzielt werden sollen, welche das Maß der Antitoxinbildung des Körpers überschreiten. Solche Sportleistungen werden trotz allen ärztlichen Abratens wohl nicht verhindert werden können, und würden sie dann wenigstens dazu benutzt werden können, interessante physiologische und biologische Versuche anzustellen.

Es bleiben außerdem jedoch noch Fälle genug übrig, wo eine Antitoxinanwendung in Betracht käme, z. B. da, wo Naturnotwendigkeiten einen Untrainierten zwingen, ohne vorhergehendes Training größeren Strapazen sich zu unterziehen. Es kann den Ermüdungstoxinen ein Interesse für die Heeresverwaltung nicht abgesprochen werden, da sich

nach den vorliegenden Versuchen die Möglichkeit einer Verwendung der Antitoxine bei größeren plötzlichen Strapazen, wie sie in Feldzügen vorkommen, ergibt.

Schon hieraus würden sich für die Anwendung des Antitoxins Ausblicke ergeben, aber es erscheint nicht ausgeschlossen, daß diesen Stoffen auch eine klinische Anwendbarkeit zukommt. Jedem Kliniker sind die außerordentlich häufigen und unter der Einwirkung der modernen Lebensweise immer mehr zunehmenden Zustände bekannt, bei denen eine eigentlich anatomisch nachweisbare Erkrankung nicht besteht und die sich in depressiven Zuständen, verminderter Arbeitskraft und dauerndem Ermüdungsgefühl, das selbst nach dem Schlaf nicht wesentlich vermindert ist, äußern. Das sind all die Zustände, welche unter der Bezeichnung Neurasthenie zusammengefaßt werden. Die hierbei bestehenden Ermüdungszustände fordern geradezu heraus, daran zu denken, daß hier eventuell ein Mangel in der Antitoxinbildung der Organe besteht. Es sind uns ja auch sonst Fälle bekannt, bei denen bei gewissen Individuen die Antitoxinbildung ausbleibt. Jedenfalls erscheint es wünschenswert, daß möglichst bald an Neurasthenikern ausgedehntere Versuche mit der Darreichung von Ermüdungsantitoxin angestellt werden, der Nachweis, durch welchen Mechanismus und durch welche Zellschädigung der Antitoxinmangel eintritt, wäre ja von hohem theoretischen Interesse; jedoch eine cura posterior, deren Lösung wohl noch längere Zeit bei der Kompliziertheit der hier in Betracht kommenden Vorgänge in Anspruch nehmen wird. Die bisher vorliegenden, von Weichardt unternommenen Versuche scheinen darauf hinzuweisen, daß beim Neurastheniker ein starker Antitoxinmangel vorliegt und daß eine klinische Besserung erst dann eintritt, wenn der Antitoxinmangel beseitigt ist, d. h. erst nach längerer Darreichung von Antitoxin. Es wäre möglich, daß von diesem Moment an die kombinierte aktive und passive Immunisierung, die ja auch in anderen Fällen gute Resultate ergeben hat, zu dem Ziele führt, die Symptome zu beseitigen und die neurasthenische Anlage zu verbessern.

Obwohl diese Befunde¹⁾ neue Ausblicke eröffneten und von weittragender Bedeutung zu sein schienen, war eine Nachprüfung bisher noch nicht erfolgt. Es liegt dies zum Teil natürlich an den Schwierigkeiten des Nachweises der Toxine, die eine mühsame und längere Schulung erfordern, und dann zum Teil auch wohl daran, daß diese Ergebnisse so dem widersprachen, was für die meisten Mediziner zu den Grundlagen ihrer Lebensanschauung gehörte, daß mancher sich von einer Nachprüfung fernhielt. Die Dialysierbarkeit des Antitoxins und manche Einzelheiten erweckten wieder bei den Bakteriologen Bedenken, wie auch vor allem die Tatsache, daß für den Fall, daß die Weichardt-

1) Für den Menschen muß die Prüfungstechnik natürlich verändert werden, da es weder gestattet ist, den Menschen durch Muskelarbeit wie ein Versuchstier zu ermüden, noch ihm Ermüdungstoxin zu injizieren. Auf diese Weise wird die Prüfung der klinischen Bedeutung des Serums sehr erschwert, da die erhaltenen Resultate nicht so augenfällig sein können wie im Tierversuch. Als beste Prüfungsmethode hat sich die Aufnahme von Kurven am Ergographen bisher erwiesen. Andere Versuche, durch Kurven von faradisch oder galvanisch gereizten Muskeln die Wirkung des Toxins und Antitoxins zu studieren, haben bisher nicht zu eindeutigen Resultaten geführt.

Die Deutung der Ergographenkurve bietet außerordentliche Schwierigkeiten. Eine aktive Immunisierung mit Ermüdungstoxin resp. Reduktionstoxin führt — selbst in geringen Dosen — beim Menschen zu Excitationszuständen, so daß hier nur eine gleichzeitige aktive und passive Immunisierung in Betracht käme.

schen Angaben richtig wären, die eigenen Zellen des Tierkörpers ein Autotoxin bilden müßten, während nach unseren bisherigen Erfahrungen nur körperfremdes Eiweiß giftig wirkt; das Eiweiß des eigenen Körpers dagegen ungiftig ist. So sind z. B. das Schlangengift, das Skorpiongift und viele andere Gifte für das betreffende Tier selbst ungiftig. Als Substrat, aus dem sich das Ermüdungstoxin bilden konnte, kam eigentlich nur das eigene Serumeiweiß in Betracht, und wir kannten noch keinen Prozeß, durch den aus dem Serumeiweiß ein für das homologe Tier giftiges Produkt gebildet wird. Des Weiteren war zu berücksichtigen, daß selbst körperfremdes Eiweiß nicht als Toxin, sondern als Endotoxin (s. o.) wirkt.

All diese Schwierigkeiten wurden behoben durch eine von Weichardt selbst herbeigeführte sehr wesentliche Erweiterung seiner Befunde, indem er zeigte, daß es gelingt, durch Reduktion von Serumeiweiß Giftstoffe zu erzeugen, welche in ihrer Wirkung dem Ermüdungstoxin gleichen, oder wenigstens als nahe verwandt zu betrachten sind. Es bleibt hierbei ganz gleich, welche Reduktionsmittel zur Eiweißreduktion benutzt wurden; am besten und am leichtesten experimentell zu handhaben hat sich die elektrolytische Reduktion erwiesen. Die sich bildenden Giftstoffe sind sich außerordentlich ähnlich, welche Art von Eiweiß auch zur Gewinnung des Toxins verwendet wird. Experimentell läßt sich mit diesen Stoffen, deren Herstellung in beliebigen Mengen viel leichter und ohne jede Tierquälerei durchführbar ist, viel besser arbeiten; nach den bisher vorliegenden Beobachtungen scheinen die Wirkungen dieser Stoffe denen der Ermüdungstoxine fast völlig analog zu sein.

Um die klinischen Erscheinungen, die mit diesem Reduktionstoxin gewonnen werden, zu schildern, müßte ich die vorhin gegebene Schilderung fast wörtlich wiederholen. Diese Reduktionstoxine bilden in analoger Weise Antitoxine, wie die Ermüdungstoxine. Es vermögen die Antitoxine, scheinbar ebenfalls dem Gesetz der multiplen Proportionen folgend, die Reduktionstoxine abzusättigen, sie im Tierkörper und in vitro zu neutralisieren. Es ist hierbei nochmals hervorzuheben, daß die Wirkungen der aus den verschiedenen Eiweißarten erzeugten Toxine eine gleiche ist und daß es möglich zu sein scheint, daß durch Reduktion des einen Eiweißkörpers (nach Injektion im Tierkörper) erzeugte Antitoxin zur Neutralisation eines jeden beliebigen Reduktionstoxins zu verwenden. In gleicher Weise sind die Reduktionstoxin-Antitoxine dazu zu verwenden, die Ermüdungstoxine, die im Tierkörper bei der Arbeit entstehen und die aus dem Tierkörper isolierten Ermüdungstoxine abzusättigen.

Es ist hiermit wieder eine Reihe neuer Tatsachen gefunden. Wie weit diese eine klinische Bedeutung erlangen werden, hängt vor allem davon ab, inwieweit sich unsere Ausführungen über die klinische Bedeutung der Ermüdungstoxine und Antitoxine erfüllen werden, ferner davon, ob sich die Identität der Ermüdungs- und Reduktionstoxine aufrecht erhalten läßt. Es würde dann möglich sein, sowohl die aktive wie die passive Immunisierung mit diesen den Ermüdungstoxinen nahe verwandten und analogen Toxinen und Antitoxinen leichter und billiger durchzuführen.

Der Hauptwert dieser neuen Befunde ist vorläufig jedoch in erkenntnis-theoretischer Beziehung zu suchen. Eine große neue Gruppe von Giften ist hierdurch unserer Kenntnis erschlossen, die aus Eiweiß durch einen so einfachen Vorgang, wie ihn die Reduktion darstellt, ent-

steht; die Reduktion aber ist ein Vorgang, der im Tierkörper fortwährend vor sich geht. Die Reduktion macht aus Eiweiß Gifte frei, und zwar verliert das Eiweiß bei diesem Vorgang die Eigenheit, artspezifische Giftstoffe zu bilden, so daß alle Eiweißkörper, die der Reduktion unterworfen werden, im Tierkörper die gleichen Eigenschaften zeigen.

Durch diese Erweiterung der Befunde wird auch gleichzeitig manches Rätsel über die Entstehung der Ermüdungstoxine gelöst. Durch die bei der Muskelarbeit einhergehenden Reduktionen kann aus dem arteilgenen Eiweiß das Toxin entstehen und wir brauchen nicht mehr nach dem Substrat zu suchen, aus dem das Toxin entstehen könnte. Weichardt formuliert seine Anschauungen (Physico-medica zu Erlangen, 16. Novbr. (1905): Das Eiweißmolekül hat die Tendenz, bei einer chemischen Erschütterung als Nebenprodukte schwer angreifbare, aber sehr reaktionsfähige Gruppen abzuspalten, die den Charakter der Antigene tragen, Ihrer entledigt sich der Organismus nicht durch weitergehende oxydative, reduktive etc. Spaltung, sondern durch Antikörperbildung. Diese Produkte sind den aus hoch ermüdeten Tieren gewonnenen Toxinen so ähnlich, daß sie mit dessen spezifischem Antitoxin eine Gruppenreaktion zu bilden scheinen.

Die Bestrebungen, die Reduktion in Beziehung zu der Toxinproduktion zu setzen, sind sehr alte. So hielt Pöehl die Ptomaine für ein Reduktionsprodukt von Eiweißkörpern und glaubte in der Reduktionskraft der Bakterien ein Mittel zu besitzen, um die Ptomainbildung der Bakterien festzustellen. Dieser Versuch ist seinerzeit mißlungen, weil dieser Anschauung das materielle Substrat fehlte und die Toxinbildung der Bakterien nicht der Reduktionskraft proportional war. Wir wissen jetzt aber, daß die Reduktion des Eiweiß Toxine erzeugt, wir wissen aber auch, daß durch zu weit geführte Reduktion die gebildeten Toxine wieder vernichtet werden, so daß die Bildung des Toxins von einem gewissen Reduktionsoptimum abhängt. In diesem Licht wird die Tatsache verständlich, daß die Reduktionskraft der Bakterien nicht immer der Toxinbildung parallel gehen muß. Sehr interessant ist in diesem Zusammenhang die Frage, welche Beziehungen zwischen Reduktionskraft der Bakterien und Pathogenität besteht? Liborius hatte der Anschauung Ausdruck gegeben, daß ein geringes Sauerstoffbedürfnis die beste Ausrüstung für den Kampf mit dem tierischen Körper sei, da sich der Kampf zwischen Bakterien und tierischen Zellen an Orten des Sauerstoffmangels abspiele. Dies ist natürlich nur so weit richtig, als die Ansiedelung der Bakterien nicht an Stellen erfolgt, an denen der Luft-sauerstoff Zutritt hat. Ein geringes Sauerstoffbedürfnis würde den Bakterien im Kampfe mit den Körperzellen nichts helfen, wenn sie dies geringe Sauerstoffbedürfnis nicht befriedigen könnten. Da, wie Ehrlich vor allem gezeigt hat, an den meisten Stellen des Körpers ein solcher Sauerstoffmangel herrscht, daß Anilinfarbstoffe verküpt (reduziert) werden, ist für die Bakterien, wie dies A. Wolff formuliert hat, ein großes Reduktionsvermögen wichtiger als ein geringes Sauerstoffbedürfnis, besonders seit Wolff auch nachgewiesen hat, daß die Anaerobier, für die freier Sauerstoff Gift ist, dennoch eine maximale Affinität zum Sauerstoff haben, wenn sie die Mengen, die sie brauchen, aus ihrem Nährsubstrat freimachen, die Anaerobier besitzen also eine leicht experimentell feststellbare **maximale** Reduktionskraft.

Soviel scheint jedenfalls jetzt gesichert zu sein, daß sowohl die eigentlichen Reduktionstoxine Weichardts, wie die Bakterientoxine

Produkte einer Reduktion sind und es erklärt sich hierdurch die allen Toxinen gemeinsame Eigenschaft, daß sie gegen Sauerstoff so außerordentlich empfindlich sind, d. h. daß der Sauerstoff auf sie zerstörend einwirkt.

Schon in einer früheren Arbeit (1903)¹⁾ schienen mir die beobachteten Tatsachen auf die Bedeutung der Oxydation hinzuweisen und ich sah die Möglichkeit, die sich bisher so schroff entgegenstehenden Theorien von Pfeiffer und Metschnikoff dadurch zu vereinen, daß neben der Bakteriolyse und Antitoxinbildung, die Pfeiffer als einziges Toxin und bakterienfeindliches Element ansieht, auch den Leukocyten eine Rolle bei der Bekämpfung von Infektion und Vergiftung zuzuschreiben, indem sie durch die an und in ihnen sich abspielenden oxydativen Prozesse an der Bekämpfung der Infektion mit Anteil nehmen.

Es ist auf diese Weise möglich, daß die Leukocyten, ohne an der spezifischen Immunität Anteil zu haben, doch tätig sind, die bei der Bakteriolyse freiwerdenden Endotoxine, ebenso die Toxine durch Oxydation zu zerstören. In diesem Sinne gewinnt die oben mitgeteilte Tatsache eine neue Beleuchtung, daß wohl sämtliche bekannten Toxine durch Reduktion entstehen und gegen Einwirkung oxydativer Prozesse so außerordentlich empfindlich sind. Erwähnt muß hier werden, daß Weichardt in seinen während der Korrektur dieser Arbeit erschienenen Mitteilungen angibt, daß jede leichte Erschütterung des Eiweißes, auch Oxydationsprozesse, aus Eiweiß die Toxine erzeugen können. Erstaunlich ist, wie 1 g eines durch Reduktion resp. Oxydation von gewöhnlichem Eiweiß entstandener Substanz bei Darreichung per os so starke Wirkungen entfalten kann, wo doch noch in Betracht zu ziehen ist, daß nur ein Bruchteil der eingeführten Substanz auch wirklich resorbiert wird.

Auch für den tierischen und menschlichen Körper geht von neuem aus diesen Tatsachen die Bedeutung der ausgiebigen Durchlüftung mit Sauerstoff hervor, wie sie durch eine gut funktionierende Lungentätigkeit bewirkt wird. Soweit die Oxydation zur Zerstörung der sich bildenden Ermüdungsgifte ausreicht, wird für den Körper eine Absättigung mit Antitoxin nicht in Frage kommen. Wir müssen uns hier auch an die klinische Erfahrung erinnern, daß all die Menschen, bei denen die Durchlüftung mit Sauerstoff in irgend einer Weise gestört ist — sei es durch eine Lungenerkrankung, sei es durch einen von Blutarmut herrührenden Hämoglobinmangel — daß in allen solchen Fällen der Körper außerordentlich leicht ermüdbar ist, und es wird sich hier mehr empfehlen, die Sauerstoffversorgung des Körpers auf den normalen Stand zu bringen, als künstlich Ermüdungsantitoxin zuzuführen. Es sei auch daran erinnert, wie oft es gelingt, durch genügende tiefe Atmung in guter Luft die Erscheinungen einer Anhäufung von Ermüdungstoxinen in kurzer Zeit fortzuschaffen. Die Wirkung schlechter, zu Ermüdung führender Luft wird durch nicht genügende Oxydation ebenfalls verständlich. Das im wahrsten Wortsinn in der Luft schwebende Anthropotoxin wird sich ebenfalls als ein bei mangelhafter Oxydation entstehendes Reduktionstoxin aufklären.

Ich möchte das Training jetzt in folgendem charakterisiert sehen: Als Uebung der Muskelgruppen zu zweckmäßiger ohne Kraftverlust arbeitender Synergie, als Modifikation der Atmung im Sinne vermehrter

1) Wolff, Alfred, Beiträge zur Kenntnis der morphologischen Vorgänge bei der Infektion und Immunität. (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 17—20.)

Durchlüftung mit Sauerstoff zur Versorgung des Blutes und der Gewebe und zur Oxydation der sich bei der Arbeit bildenden Ermüdungsgifte und schließlich noch als verstärkte Bildung von Ermüdungsantitoxin, welches dann die bei forciertem Anstrengung nicht mehr oxydierten Ermüdungstoxine absättigt und so eine Arbeit zuläßt über Grenzen hinaus, bei denen für nicht Trainierte Temperaturabfall und Tod erfolgt.

Ich möchte hinzufügen, daß ich sämtliche grundlegenden Versuche nachgeprüft habe, so daß die Mitteilung etwas mehr als ein einfaches Referat ist. Herrn Kollegen Weichardt danke ich für die Unterstützung, die er mir bei den Versuchen angedeihen ließ.

Literatur.

- 1) Weichardt, W., Ueber Ermüdungstoxine und deren Antitoxine. Erste Mitteilung. (Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 1.)
- 2) —, Neues aus der Serologie. (Berl. klin.-therap. Wochenschr. 1904. No. 31.)
- 3) —, Ueber das Ermüdungstoxin und -antitoxin. Zweite Mitteilung. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 48.)
- 4) —, Ueber Ermüdungstoxin und -antitoxin. (Demonstrationsvortrag.) (Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin.) (Jahrg. 1904/05. No. 1—4. 5. Dezbr. 1904.)
- 5) —, Ueber das Ermüdungstoxin und dessen Antitoxin. Dritte Mitteilung. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 26.)
- 5a) Vortrag in der Physico-medica zu Erlangen. 16. Novbr. 1905.
- 5b) Weichardt, Habilitationsschrift Erlangen. Stuttgart (Enke) 1905.
- 6) Poehl, Ueber einige biolog.-chemische Eigenschaften der Mikroorganismen im allgemeinen und über die Bildung der Ptomaina durch die Cholera bacillen im speziellen. (Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. Bd. I. 1886. p. 1159.)
- 7) Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. I. p. 115.)
- 8) Wolff, Alfred, Zur Reduktionsfähigkeit der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. 1900. No. 25.)
- 9) —, Ueber die Reduktionsfähigkeit der Bakterien einschließlich der Anaerobien. I.-D. Tübingen, 1901 und Baumgarten, Beitr. zur pathol. Anatomie. 1901.
- 10) Ueber die Grundgesetze der Immunität. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXVII. Heft 3 und Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 42—44.)
- 11) Ehrlich, Paul, Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin (Hirschwald) 1885.

Die grundlegenden Immunitätsarbeiten sind in dieser kurzen Uebersicht nicht weiter zitiert und findet sich weitere Litteratur in Aschoff, Die Seitenkettentheorie, Dieudonné, Immunität und Schutzimpfung und in den oben zitierten Arbeiten.

Nachdruck verboten.

Ueber den Durchtritt des Wutvirus durch intakte Schleimhäute.

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

Von Dr. Luigi Pietro Galbati.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Angeregt durch die Beobachtungen von Pace, Remlinger, Palmirski und Karlowski haben schon andere Autoren sich mit dieser Frage beschäftigt. Pace konnte den Tod an Wut bei einem Menschen konstatieren, welcher sich von seinem Hunde, bei dem später Wut festgestellt wurde, an der Nase hatte lecken lassen. Remlinger

hatte einen ähnlichen Todesfall bei einem anderen Menschen beobachtet, dem während der Befriedigung eines körperlichen Bedürfnisses ein Hund an der Analöffnung geleckt hatte. Palmirski und Karlowski schließlich hatten einen Mann in Beobachtung, welcher nach geschlechtlichem Umgang mit seiner an Wut erkrankten Magd auch selbst die Infektion erworben hat, der er dann 2 Monate später erlag.

Galli-Valerio und Vera Salomon bemerkten, daß nach einem leichten Trauma der Nasenschleimhaut mittels eines Wattetampons, der mit einer Gehirnemulsion eines an Wut gestorbenen Tieres getränkt war, mit Sicherheit die Infektion hervorgerufen wurde.

Die Fälle von Palmirski und Karlowski und insbesondere die von Pace und Remlinger, in denen die Schleimhäute, bei dem einen die der Nase, bei dem anderen die des Afters, scheinbar intakt geblieben waren, verlangten eine experimentelle Bestätigung, die Remlinger seit dem Jahre 1900 für die Nasenschleimhaut zu erbringen suchte.

Da aber die erste Versuchsreihe unvollständig geblieben war, so versuchte er es von neuem 2mal und erhielt dann mit der einen Untersuchungsreihe 50 Proz., mit der anderen 66 Proz. positive Resultate.

Die Untersuchung an der Conjunctiva brachte ihn dagegen immer zu einem negativen Ergebnis.

Galtier und Conte, welche dieselben Experimente an der Nasen- und Conjunctivschleimhaut anstellten, erhielten an beiden Stellen positive Resultate.

Nahm man die Schlüsse, zu denen diese Autoren gekommen waren, als richtig an, so hatte man nur noch zu untersuchen, ob auch andere Schleimhäute im stande sind, das Wutgift durchtreten zu lassen.

Dies habe ich getan, und zwar habe ich zuerst die Durchlaßfähigkeit der Vaginalschleimhaut, und dann die anderer Schleimhäute studiert. Die Experimente wurden an 5 jungen, ungefähr 1 kg schweren Kaninchen angestellt.

Die Operationen wurden in der Weise vorgenommen, daß das Tier auf dem Operationstische unbeweglich festgehalten wurde und man dann auf die Vaginalschleimhaut mittels einer Pipette einige Tropfen einer dicken Emulsion eines Wutgehirns fallen ließ.

Die erste Untersuchung fand am 18. Jan. 1905 statt.

Von den 5 Kaninchen starben 3; das eine am 24., das andere am 25. und das dritte am 28. desselben Monats.

Dieses letzte wies eine leichte Parese eines Hinterbeines auf.

Die histologische Untersuchung ergab jedoch nichts Positives und ebenso hatte ein Durchtritt von Virus nicht stattgefunden.

4. Kaninchen. Im Augenblicke der Untersuchung war zufällig auch der Sphincter ani mit der Emulsion beschmiert worden.

Am 15. Febr. lebt es noch immer und ist gesund; es wird daher von neuem Material auf die Vaginalschleimhaut gebracht.

Es starb am 2. März (also am 15. Tage nach dem 2. und am 42. nach dem 1. Versuche).

Der Nachweis histologischer Veränderungen am Ammonshorn und eines Durchtrittes ist nicht möglich.

5. Kaninchen. Am 15. Febr. wurde, wie beim vorhergehenden, wieder eine Untersuchung vorgenommen.

Es starb am 8. März (also am 21. Tage nach dem 2. und am 50. nach dem 1. Versuche) wie das andere, ohne irgend welche Symptome zu zeigen.

Histologische Veränderungen und ein Durchtritt konnten nicht nachgewiesen werden.

Wie man sieht, hat diese erste Versuchsreihe wenig oder gar keine Bedeutung weder in einen noch im anderen Sinne und spricht ebensoviel für wie gegen das, was ich beweisen wollte.

Ich halte die Bemerkung jedoch für angezeigt, daß wenigstens 2 von den 5 Kaninchen genügend lange am Leben geblieben sind, um eventuell einer vorhandenen Wutinfektion unterlegen sein zu können. Da ich gesehen hatte, wie leicht die jungen Kaninchen, zum großen Schaden für die Untersuchung, starben, so wollte ich nicht die Versuche, wie es eigentlich mein Wunsch gewesen wäre, an anderen, ebenso jungen Tieren, wieder aufnehmen, sondern ich begann eine zweite Versuchsreihe mit älteren, durchschnittlich 2 kg wiegenden Kaninchen. Hier blieben dann die Versuche nicht nur auf die Vaginalschleimhaut beschränkt, sondern wurden, wie ich im folgenden zeigen werde, auch auf andere Schleimhäute ausgedehnt.

* * *

Schon am 30. Jan. hatte ich diese Experimente begonnen und hatte zwei von den großen Kaninchen folgender Behandlung unterworfen: Die Tiere wurden zunächst auf dem Tische festgebunden und die Schamlippen gespreizt, dadurch, daß man mit 2 Fingern auf die umgebende Haut einen sanften Zug ausübte; alsdann ließ man einige Tropfen einer Hirnemulsion (Straßenvirus) darauf fallen. Nachdem die Schleimhaut so betropft war, wurde vor den Scheideneingang eines von den Stückchen des Ammonshornes und Kleinhirnes gelegt, welche bei der Herstellung der Emulsion auf dem Boden des Gefäßes liegen geblieben waren, und nun mittels eines an beiden Enden sorgfältig abgerundeten Glasstäbchens bis fast an das Ende der Scheide geschoben.

Am 15. Febr. wurden auf demselben Wege und in derselben Weise, aber mit fixem Virus, zwei andere Kaninchen behandelt.

Da am 10. März sowohl diese letzteren als auch die beiden am 30. Jan. mit Straßenvirus behandelten noch am Leben waren, so wurden sie jetzt alle vier einem neuen Versuche unterworfen, und zwar wurde jetzt das fixe Virus auf die Scheidenschleimhaut gebracht.

* * *

Am 18. März wollte ich, in der Ueberzeugung, daß die vier wiederholt auf vaginalem Wege behandelten Kaninchen nicht gestorben wären, auch andere Schleimhäute einer Untersuchung unterziehen. Ich bediente mich zu den Versuchen drei anderer Kaninchen, welche ich verschiedenen Behandlungsweisen unterwarf.

1. Kaninchen. Männlich, ca. 2 kg schwer.

In den Magen des Kaninchens wird ein Gummischlauch eingeführt und durch denselben mittels einer Spritze 20 ccm einer dicken Emulsion von fixem Virus auf die Magenschleimhaut gebracht.

2. Kaninchen. Männlich, ca. 2 kg schwer.

Mittels einer Pipette werden einige Tropfen der Emulsion des fixen Virus auf die Conjunctiva gebracht.

3. Kaninchen. Weiblich, Gewicht 2100 g.

Während man seine Schnauze in die Höhe hält, läßt man mit Intervallen einige Tropfen der Emulsion des fixen Virus in die Nasenlöcher fallen und zwingt das Tier gleichzeitig, durch die Nase zu atmen.

Alle diese Tiere blieben am Leben. Nur das eine, dem das Virus auf die Conjunctiva gebracht war, ließ eine leichte Reaktion erkennen, die jedoch im Verlaufe von 2 Tagen wieder verschwand.

* * *

Auch die vier ersten Kaninchen, welche der Viruswirkung auf vaginalem Wege ausgesetzt worden waren, waren noch am 27. März gesund; an diesem Tage hatte ich angefangen, sie gleichzeitig, und zwar immer mit fixem Virus, auf vaginalem und rektalem Wege zu behandeln.

Am 5. April begann ich, das Wutgift gleichzeitig auf die Conjunctival- und Nasenschleimhäute der anderen 3 Tiere zu bringen, außer auf die der beiden, welche mir für die Einzeluntersuchungen der beiden Schleimhäute gedient hatten, auch noch auf die des Tieres, welches dem Experimente mit der Magenschleimhaut unterworfen war; auf dieses mußte ich jedoch verzichten, da, wollte ich Verletzungen vermeiden, die Operation sehr schwierig war und mir außerdem auch eine geeignete Hilfe fehlte. So konnte ich 2 Gruppen unterscheiden; die eine, die von den vier weiblichen Kaninchen gebildet wurde, war der Wirkung des Virus auf die Vaginal- und Rektalschleimhäute ausgesetzt, die andere, die aus zwei männlichen und einem weiblichen Kaninchen bestand, diente zur Untersuchung der Conjunctival- und Nasenschleimhäute.

Ich wiederholte den Versuch bei der einen wie bei der anderen Gruppe in einem Zwischenraume von 10 Tagen, immer jedoch mit negativem Resultat, da alle 7 Kaninchen am Leben blieben.

* * *

Diese meine Versuche mußten einem nun die Ueberzeugung beigebraucht haben, daß die Schleimhäute im allgemeinen, soweit sie intakt sind, nicht für das Wutvirus permeabel sind.

Die Autorität jedoch der oben zitierten Experimentatoren hält mich davon ab, dies als etwas absolut Sicheres hinzustellen, obgleich wiederum andere Autoren sogar derselben Meinung wie ich sind.

Wo liegt nun die Ursache dieser Meinungsverschiedenheiten und dieser Differenzen in den Resultaten?

Meiner Meinung nach ist diese Ursache unabhängig von der Technik des Operateurs, an deren Vollkommenheit zu zweifeln ich keinen Grund habe, abhängig dagegen von den Bedingungen, in denen sich das Tier nach der Operation befindet.

Wenn man in der Tat in Betracht zieht, wie sehr die Nasen- und Conjunctivalschleimhaut, die einzigen, die bisher positive Resultate ergeben haben, schon an und für sich den verschiedensten Traumen ausgesetzt sind, so kann man leicht begreifen, wieviele Male das Tier in einer Stunde bei der Nahrungsaufnahme und beim Herumschnuppern diese Schleimhäute der Möglichkeit einer Verletzung aussetzen kann.

Um nach Möglichkeit dergleichen Irrtümer auszuschalten, hielt ich meine Kaninchen in Käfigen, die eine relative Sicherheit darboten, außerdem gab ich ihnen immer nur frisches Kraut und Kleie und vermied es, andere Futtermittel, wie z. B. Heu und Hafer, zu reichen, welche für diese Versuche gefährlich gewesen wären.

Nachdruck verboten.

Ueber den Befund von Rhizopoden bei zwei Fällen von Poliomyelitis acuta.

[Mitteilung aus dem Blegdamshospital zu Kopenhagen.]

Von V. Ellermann, I. Assistent.

Mit 1 Tafel und 1 Figur.

Da ich Gebilde, die ich für Rhizopoden halte, in der Spinalflüssigkeit bei Poliomyelitis gefunden habe, möchte ich hier eine kurze Beschreibung derselben geben:

Fall I. A. S., 16-jähr. Mädchen. Aufgenommen am 3. November 1905. Vor 6 Wochen ist sie aus Vestergötland (Schweden) gekommen, aus einem Dorfe, in dessen Nähe die Krankheit mit großer Heftigkeit wüthete. An einem einzigen Tage sollen 7 Kinder in der nächsten Umgebung an Poliomyelitis gestorben sein. Sie erkrankte 5 Tage vor der Aufnahme ins Krankenhaus mit Kopfschmerzen und Rhachialgie. Bald nachher entwickelte sich eine Paralyse der beiden Beine und eine Parese des linken Armes. Bei der Untersuchung im Krankenhaus wurden eine schlaffe Paralyse konstatiert. Am 6. November (8. Krankheitstag) wurden durch Lumbalpunktur 3 ccm wasserheller Flüssigkeit entleert. Am 11. November wieder Lumbalpunktur (14. Krankheitstag). Diesmal erhielt man ca. 35 ccm klarer Flüssigkeit.

Mikroskopische Untersuchung. Die Spinalflüssigkeit wurde steril aufgefangen und ca. $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Entleerung während 15 Min. in sterilem Glase mittels Handzentrifuge zentrifugiert. Der Bodensatz wurde für Trockenpräparate verwendet, welche 10 Min. nach Leishman gefärbt wurden (Fixierung in der alkoholischen Lösung 2 Min., Färben mit alkoholischer Lösung und Wasser zu gleichen Theilen). Mikroskopisch zeigte sich folgendes: Keine polynukleären Leukocyten, keine Erythrocyten, dagegen findet man Lymphocyten und außerdem ziemlich zahlreiche, etwas größere Gebilde, die kräftig lila gefärbt sind. Aus einer zentralen Masse, die 10—15 μ im Diameter mißt, strahlen zahlreiche ebenfalls rötlich gefärbte Fäden hinaus (Fig. 1). Die zentrale Masse ist gewöhnlich von regelmäßiger, rundlicher Form, bildet jedoch oft mehr oder weniger plumpe Vorsprünge, von denen die feinen Fäden ausgehen. Die Größe der ganzen Gebilde, einschließlich der Fäden, beträgt 30—40 μ . Zuweilen breitet sich die zentrale Masse zu einem lockeren Fadengeflecht aus. Die Form ist übrigens sehr wechselnd. Man sieht häufig Individuen, die spärliche und kurze, feine Ausläufer besitzen, andererseits solche, die nur ganz wenige, dicke Lobopodien haben. Diese dickeren Ausläufer gehen oft in fadenförmige über (Fig. 2). In allen Individuen, die nicht allzu stark gefärbt sind, läßt sich ein kleiner Kern nachweisen. Derselbe ist blau gefärbt, ringförmig, ohne Innenkörper oder sonstige Differenzierung; gewöhnlich exzentrisch gelagert. Er mißt 1,5 μ . Die meisten Individuen bestehen, wie erwähnt, aus kräftig gefärbtem, rötlichen Protoplasma, aber außerdem haben sie am einen Pole eine hellblau gefärbte, oft vakuolisierte Masse, die wohl als ein spezielles Protoplasma aufzufassen ist. Ein typisches wohlentwickeltes Individuum besitzt also eine zentrale, rötliche, mehr oder weniger kompakte Masse, an dessen einem Pole die Filopodien ausstrahlen, während an dem entgegengesetzten Pole das blaue Proto-

1) Eine vorläufige Mitteilung ist im Hospitalstidende, 22. November 1905, erschienen.

plasma gelagert ist (Fig. 3). Die feinen Fäden umspinnen oft diese letzte Partie. Eine Sonderung in ein Ekto- und Entoplasma ist in den gefärbten Präparaten nicht nachweisbar, sehr oft sieht es doch aus, als ob die Filopodien von einer feinen, fast ungefärbten Schwimnhaut zusammengehalten würden. An anderen Stellen wieder hat man den Eindruck, daß die Filopodien wirklich frei enden.

Es wurden keine Bakterien gefunden.

Es geht aus der Beschreibung hervor, daß diese Gebilde mit den polynukleären Leukocyten keinerlei Aehnlichkeit haben. Es fehlen das granulationsgefüllte Protoplasma und der gelappte Kern. Die starke Entwicklung von Filopodien kommt auch bei Leukocyten nicht vor. Ich habe mir anfangs die Möglichkeit gedacht, daß es sich um Gliazellen oder andere verästelte Zellen handelte. Ferner erwägte ich die Möglichkeit, ob man mit Protozoen zu tun hätte, die aus unreinen Gläsern oder Instrumenten herstammten.

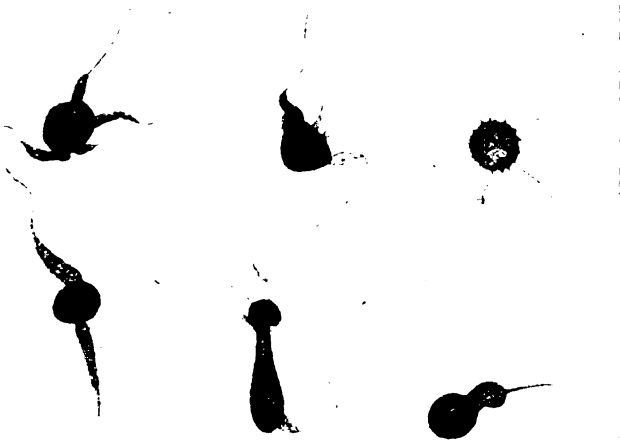


Fig. 4. Färbung mit Loefflers Methylenblau.

Um die Sache zu entscheiden, wurde die Spinalpunktur zum zweiten Male gemacht, und es wurde besondere Sorgfalt auf die Reinigung und Sterilisierung des angewandten Instrumentariums verwendet. 2 Stunden nach der Entleerung wurde die Spinalflüssigkeit 15 Minuten zentrifugiert. Die Flüssigkeit wurde abgossen und die Gläser mit dem Bodensatz kamen in den Thermostaten für 10 Minuten. Darauf wurde der Bodensatz teils für Trockenpräparate, teils für die Untersuchung im frischen Zustande verwendet. Die Untersuchung des lebenden Objectes geschah in einem warmen Zimmer (22° C), und es wurde so viel Flüssigkeit genommen, daß von einem Druck des Deckglases keine Rede sein konnte. Ich fand nun ohne Schwierigkeit Zellen, die denjenigen glichen, die ich aus den Trockenpräparaten kannte (Fig. 4). Von einem rundlichen, zentralen Klümpchen gingen Lobopodien von 10—20 μ Länge aus. Diese dicken Fortsätze gingen wieder in ganz feine, außerordentlich lange (30 μ) Fäden über. Andere Individuen hatten hauptsächlich radiär gestellte, feine Fäden, vereinzelt nur einen einzigen. Soweit ich beurteilen

konnte, besaßen sie Lokomotionsfähigkeit, indem sie immer aus dem Gesichtsfelde herausschwammen. Eine rollende Bewegung war nicht vorhanden, dagegen eine Formveränderung des zentralen Klümpchens, und ferner eine beständige Bewegung der Pseudopodien, die sich streckten oder verkürzten, während die feinen Fäden hin und her bewegt wurden. Sie unterschieden sich in folgenden Punkten von Leukocyten: 1) Sie waren nicht granuliert, wie jene, sondern eher homogen. 2) Die Umrisse waren etwas deutlicher. 3) Die Pseudopodien waren länger und gingen, wie beschrieben, in die feinen, langen Filopodien über. 4) Die amöboide Bewegung war lebhafter, und zwar so schnell, daß es schwierig war, dieselbe mit Skizzen zu begleiten. Eine pulsierende Vakuole habe ich nicht beobachtet, dagegen habe ich bei dem lebenden Objekte zuweilen den Eindruck gehabt, daß ein hellerer Plasmateil bei der amöboiden Bewegung zuerst vorgeschoben wurde, welcher vielleicht als Ektoplasma zu deuten wäre.

In den Trockenpräparaten, die nach Leishman gefärbt wurden, fand ich genau dieselben Bilder wie bei der ersten Punktur. Die gut ausgebildeten Formen mit zahlreichen Strahlen waren diesmal sogar häufiger vorhanden. Ferner habe ich vielfach Bilder gefunden, die als Cytophagose gedeutet werden müssen. In der Fig. 5 sieht man einen Rhizopoden, der im Begriff ist, einen Lymphocyten aufzunehmen, während er ihn mit Hilfe der Pseudopodien festhält. Bei feiner Einstellung sieht man außerdem einige feine Filopodien sich zu einem zweiten Lymphocyten erstrecken. In der Fig. 6 sieht man ein etwas ähnliches Bild. Das Tierchen hat einen Lymphocyten mit seinen Pseudopodien ergriffen und sendet 40 μ lange, feine Fäden bis zu einem zweiten hinzu. Nachdem ich solche Bilder erst einmal richtig aufgefaßt hatte, war es ein leichtes, eine ganze Reihe ähnlicher Stellen zu finden. Die Lymphocyten lagen gewöhnlich von den Pseudopodien umschlungen, bisweilen in direkter Berührung mit dem Körper des Rhizopoden, seltener in denselben aufgenommen. Eine Aufnahme von Erythrocyten habe ich nicht gesehen.

An einzelnen Stellen habe ich eigentümliche Plättchen gefunden, welche von 2 oder 3 Individuen, die mit ihren Fäden vereinigt waren, gebildet wurden. Endlich habe ich mehrmals Bilder gesehen, die wahrscheinlich als Entwicklungsstadien aufzufassen sind. Es waren Individuen, deren zentrale Masse in 2 oder 3 Teile gespaltet war. Sehr spärlich habe ich folgende Bilder getroffen: 1) Gruppen von kleinen, ca. 2 μ großen Körperchen von sichelförmiger, viereckiger oder ovaler Gestalt, deren jedes ein rundes, rotes Chromatinkörnchen besaß. Ich habe leider versäumt, die genaue Zahl festzustellen. Bakterien glichen sie nicht. 2) Kolbenförmige, schwach gefärbte Ausläufer von wabigem Bau, die zwischen den gewöhnlichen Filopodien saßen. 3) Ein blau gefärbtes 12 μ langes Körperchen mit einem 7 μ langen, roten, zweigeteilten Kern. In jeder Kernhälfte lagen 8 kleine dunkle Körperchen von 1 μ Größe (Fig. 7). Dieses Bild habe ich nur einmal gefunden, aber ein anderes Mal ein Uebergangsbild von diesem zu den gewöhnlichen Formen.

Die Rhizopodenkörper wurden von Hämatoxylin schwach grau gefärbt, etwas stärker von Eosin. Die Filopodien blieben bei diesen Färbungen ungefärbt. Bei Färbung mit Loefflers Methylenblau färbten sich sowohl die zentrale Masse wie die Filopodien sehr schwach, dagegen trat der kleine ringförmige Kern sehr deutlich hervor (Fig. 4).

Bakterien wurden nicht gefunden. Es wurde beidemal von dem Zentrifugat auf Agar geimpft, aber jedes Wachstum blieb aus.

Bei der Punktur No. II wurden ca. 8 ccm Spinalflüssigkeit einem Kaninchen intraperitoneal, einem zweiten Tiere ca. 8 ccm unter die Haut eingespritzt. Die Tiere blieben gesund.

Fall II. E. F., 16-jähr. Mädchen. Aufgenommen am 19. September 1905. Ueber Ansteckung läßt sich nichts erläutern. Sie wurde plötzlich krank 3 Tage vor der Aufnahme mit Kopfschmerzen und Schüttelfrost. Kein Erbrechen, keine Krämpfe. Es stellten sich stechende Schmerzen im Rücken ein, und gleichzeitig entwickelte sich eine Paralyse der beiden Beine. Bei der Untersuchung im Krankenhaus wurde eine schlaffe Paralyse der beiden Beine konstatiert. Kein Fieber. Am 22. September (6. Krankheitstag) Lumbalpunktur No. I. Ca. 30 ccm wasserhelle Flüssigkeit. Am 19. November (64. Krankheitstag) wieder Punktur, ca. 30 ccm ähnlicher Flüssigkeit.

Mikroskopische Untersuchung. Bei der Untersuchung der Punkturflüssigkeit No. I wurden nur Erythrocyten gefunden. (Die Zentrifuge konnte leider nicht gebraucht werden, weil sie eben kaputt gegangen war.) Erst nachdem die Flüssigkeit einige Tage gestanden hatte, wurden von dem Bodensatz Trockenpräparate gemacht und nach Leishman gefärbt. Ich fand nun eigentümliche Klümpchen, etwas größer als Leukozyten und gewöhnlich mit 1—3 langen fadenförmigen Anhängen versehen. Die Präparate waren durchaus nicht gut, sie gaben mir aber Veranlassung zu der genaueren Untersuchung bei dem Fall I, die erst später gemacht wurde.

Bei der Untersuchung nach der zweiten Punktur wurde genau die bei dem Fall I beschriebene Technik angewandt. Bei dem frischen Objekt gelang es erst nach etwas Suchen, die amöboiden Zellen aufzufinden, weil sie nur spärlich vertreten waren. Ich fand einige wenige typische Individuen mit schönen radiären Filopodien, außerdem einzelne Exemplare mit wenigen, beweglichen Fäden. Sie glichen den weniger gut entwickelten Tieren aus dem Fall I.

In den Trockenpräparaten wurden nach Leishman-Färbung ziemlich spärlich gleiche Bilder wie in Fall I festgestellt. Die Gebilde hatten dieselbe Struktur und Färbung, nur waren die Filopodien spärlicher und kürzer. Oft fand ich Bilder, die ich als Degenerationserscheinungen deutete (schlechte Färbbarkeit, Schalenbildung). Hämatoxylin- und Eosinblaufärbung gaben dieselbe schwache Färbung wie bei dem Fall I.

Kein Wachstum bei Aussaat auf Agar.

Wegen der eigentümlichen Struktur und Färbung glaube ich, es läßt sich nicht bezweifeln, daß es sich im Fall I um Rhizopoden handelt. Diese Annahme wurde durch die Untersuchung am lebenden Objekt noch wahrscheinlicher gemacht. Ebenfalls gewinnt sie eine Stütze durch den häufigen Nachweis von Cytopagoseerscheinungen. Der Fall II würde vielleicht für sich allein keinen großen Wert haben, es kommt mir doch vor, daß hier wahrscheinlich ähnliche Protozoen vorhanden gewesen sind. Man muß bedenken, daß die Untersuchung erst sehr spät im Verlaufe der Krankheit ausgeführt wurde.

Inwieweit nun diese Rhizopoden mit der Krankheit in irgend welcher Verbindung stehen, das läßt sich natürlich aus diesen wenigen Beobachtungen nicht sagen. Wegen der Spärlichkeit des Materials ist die Untersuchung leider etwas lückenhaft geworden.

Daß die Rhizopoden nur eine Verunreinigung darstellen sollten, ist sehr unwahrscheinlich. Erstens wurde möglichst steril gearbeitet. Zweitens würde man bei einer Verunreinigung wohl vor allen Dingen Bakterien erwarten müssen. Solche wurden weder direkt noch durch Kultur nach-

gewiesen, und eine Verunreinigung mit Protozoen allein scheint mir kaum denkbar.

Meinem verehrten Chef, Herrn Prof. Sörensen, statue ich für die Ueberlassung des Materials und für sein Interesse für die Arbeit meinen besten Dank ab.

Nachtrag.

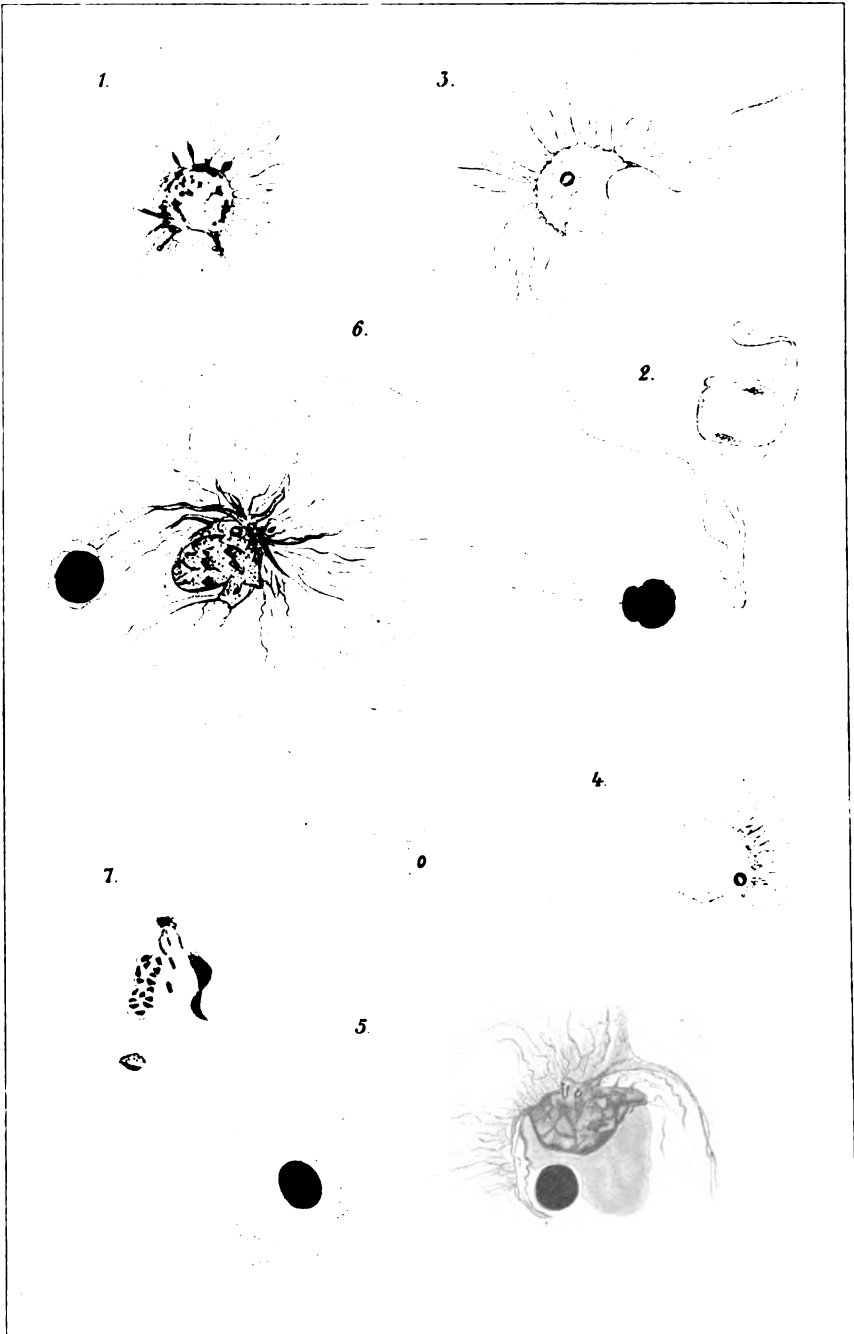
Nachdem obiges geschrieben und eingesandt war, habe ich einige neue Beobachtungen gemacht, die mit den mitgeteilten im besten Einklange stehen.

Ad Fall I. Am 6. Dezember (33. Krankheitstag) wurde zum dritten Male die Lumbalpunktur gemacht, wodurch ca. 20 ccm klare Flüssigkeit entleert wurden. Bei der Untersuchung im frischen Präparat habe ich keine deutlichen Rhizopoden nachweisen können, dagegen gelang es, in den gefärbten Trockenpräparaten spärliche, aber sichere Bilder zu finden. Ich habe ferner diesmal Bilder gesehen, denen ich schon früher, nämlich bei der zweiten (ebenfalls späten) Punktur im Fall II begegnet bin, die ich aber nur flüchtig erwähnt habe. Es handelt sich um eigentümliche schalenförmige Bildungen, die in der Peripherie der Rhizopoden liegen. Sie sind lichtbrechend, oft sichelförmig, in den Leishman-Präparaten braun, in den Methylenblaupräparaten blau gefärbt. Zuweilen sind mehrere solcher vorhanden, und so kommen mehr oder weniger vollständige Ringe zu stande, welche die Tiere umgeben. In diesen Fällen sieht man keine Pseudopodien.

Fall III. H. R., 1 $\frac{1}{2}$ -jähr. Mädchen. Aufgenommen am 4. Januar 1906. Vor 12 Tagen erkrankte sie mit Parese des linken Beines und leichtem Fieber. Seitdem hat sie doch herumlaufen können, erst heute ist sie bettlägerig geworden.

Im Krankenhaus wurde eine linksseitige Hemiparese nachgewiesen. Vielleicht eine leichte Facialisparese, ebenfalls linksseitig. Patellarreflexe vorhanden. Die paretischen Extremitäten machen bei passiven Bewegungen etwas Widerstand. Die Temperatur war nur unbedeutend erhöht (bis 38°). Am 8. Januar Lumbalpunktur mit negativem Resultat. Bei der 2. Punktur am 10. Januar ebenfalls keine Flüssigkeit. Bei der 3. Punktur am 13. Januar 1906 (21. Krankheitstag) Entleerung von ca. 12 ccm wasserheller Flüssigkeit. 2 Stunden nachher wurde ein geringfügiges Koagulum aufgefischt und die Flüssigkeit darauf 15 Min. zentrifugiert. Der Bodensatz kam nun für kurze Zeit in den Thermostaten, dann wurden frische Präparate untersucht (Paraffinfüßchen, Vaselineumrandung, Temperatur 20° C).

Mikroskopische Untersuchung. Es gelang nun ohne Schwierigkeit, große amöboide Zellen aufzufinden, die genau wie die in Fig. 4 abgebildeten aussahen, teilweise waren sie noch schöner. Die amöboide Bewegung war recht lebhaft, ein Ortswechsel fand nicht statt. Viele Individuen hingen an den Fibrinflocken fest. Außer Rhizopoden waren Lymphocyten und Erythrocyten vorhanden, keine polynukleären Leucocyten. — Ich habe diesmal meine besondere Aufmerksamkeit darauf gelenkt, ob ich die von den Trockenpräparaten bekannten Strukturen auch am lebenden Objekte wahrnehmen konnte. Eine Sonderung von Ekto- und Entoplasma habe ich nicht nachweisen können. Die helleren äußeren Partien, die als Ektoplasma imponieren können, stellen sich gewöhnlich bloß als dünne Teile, bezw. Pseudopodienplatten heraus. Der Kern war als kleine lichtbrechende Kugel leicht wahrnehmbar. Die Filopodien waren nicht verbunden, dagegen strahlten sie öfters von dünnen Pseudopodienplatten aus. Die allerfeinsten Fäden, die schon im Trockenpräparate schwer wahrnehmbar sind, sind wohl im lebenden Zustande überhaupt nicht sichtbar. Das „blaue Protoplasma“ habe ich am leben-



den Objekte nicht gefunden. Dieser Protoplasmateil war übrigens in den Trockenpräparaten nur schwach entwickelt und fehlte häufig ganz.

Die Trockenpräparate wurden nach *Leishman* und mit *Löfflers* Methylenblau gefärbt. Ich kann auf die oben (bei Fall I) gegebene Beschreibung verweisen, da der Befund im ganzen der gleiche war.

Bakterien wurden nicht gefunden, weder direkt noch durch Kultur.

Erklärung der Bilder.

Die Figuren 1, 2, 3, 5, 6, 7 sind sämtlich nach Trockenpräparaten bei 1000facher Vergrößerung gezeichnet. Färbung nach *Leishman*.

Die Textfigur stellt 6 verschiedene Individuen dar. Sie waren während der Zeichnung lebhaft beweglich.

Nachdruck verboten.

Ueber die Pocken der Vögel, ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erreger.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Jena (Direktor: Geh. Hofrat Prof. Dr. A. Gärtner).]

Von Oberarzt Dr. **Reischauer**, kommandiert zum Institute.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Die zweite, cancroide Form fand ich häufiger erwähnt. *Bollinger* schreibt: „Ein am rechten Schnabelwinkel sitzender Knoten setzt sich zum Teil auf die Mundhöhlenschleimhaut fort und ist in der Mitte durch tiefe Furchen, welche gleichsam die Fortsetzung der Schnabelspalte bilden, förmlich eingekerbt (makroskopisch entsteht auf diese Weise eine große Aehnlichkeit mit gewissen Formen von Lippenepithelialkrebs beim Menschen).“ *Zürn* sah den Maulwinkel durch fressende Geschwürsbildung viel länger geworden als der Norm entspricht, ferner Substanzverluste an der Backenschleimhaut, und vergleicht diesen Prozeß mit Schankergeschwüren.

Friedberger und *Fröhner* schieben „cancroöse Ulcerationen, welche zu tieferen, bleibenden Substanzverlusten, selbst zur nekrotischen Zerstörung eines Teils, z. B. der Zungenspitze führen können“, wohl fälschlich der Diphtherie zu, von der sie auch annehmen, daß sie sich „vom Maulwinkel aus gewöhnlich auf die allgemeine Decke ausbreite“.

Auch *Vale* kennt diese Form, er bezeichnet sie direkt als Canker (Krebsgeschwür) und beschreibt sie als trockene Ulcerationen in Maul, Rachen, Ohr und anderen Stellen. „Wenn das Krebsgeschwür den Mund befällt, verlieren die ergriffenen Teile ihre natürliche blaßrote Farbe, und ein oder mehrere weißliche Flecken sind zu sehen. Diese krebsigen Stellen nehmen später eine gelbliche bis schmutziggelbe Farbe an.“

Es geht also diese Form in die dritte, pseudokroupöse über, die ebenfalls mehrfach beschrieben ist. *Csokor* sah bis erbsengroße Eruptionen an der Schleimhaut der Maul- und Rachenhöhle. *Zürn* behandelt sie ausführlich, er nennt das Exsudat quarkähnlich, das dann an der Luft zu einer dunkelgelben oder bräunlichen Kruste wird, spricht von Defekten der Zunge und knotigen Verdickungen des Schnabels, ferner von feinzottigen Granulationen, die hineinwuchern in den Belag, ihn festhalten und leicht bluten. Aehnliches schreibt *Pfeiffer*.

Natürlich bilden diese käsigen Massen einen ausgezeichneten Boden für bakterielle Ansiedelungen, so daß häufig zu den pseudodiphtherischen echte diphtherische Prozesse sich hinzugesellen werden. Will man also hier eine exakte Diagnose stellen, so kann nur eine genaue mikroskopische Untersuchung entscheiden.

Nächst den Affektionen der Mundhöhle sind wohl am häufigsten und interessantesten die des Auges, oder besser die seiner äußeren Hüllen, von denen namentlich die Conjunctiva hier in Betracht kommt. Sie bietet klinisch alle Zeichen einer chronischen Blennorrhöe, zeigt eine samtartige, weiche, graurötliche Oberfläche und sezerniert schleimig eiteriges Sekret; in schweren Fällen tritt starke Schwellung und völliger Lidverschluß ein. Hier verschwindet dann die Sekretion und nekrotische Massen sammeln sich an. Klinisch sind diese Symptome häufig beschrieben. Mikroskopisch ist die Zellvermehrung weniger an der dem Tarsus anliegenden Partie, wie am Fornix und an der Lidkante eine ausgesprochene. Vorn am Lidrande gehen die Schleimhautzellen allmählich in die Einschlüsse tragenden Zellen der Epidermis über, weiter nach hinten wird die Zellschicht durch bindegewebige Papillen, die sich weit in das gewucherte Conjunctivaepithel vorschieben, unterbrochen. Die obersten Zellen weichen stark auseinander, so daß die Schnitte wie ausgefranst oder zottig erscheinen. Nicht selten sieht man kleinere oder größere durch feine Fibrillen abgekapselte Höhlungen, ganz ähnlich den früher beschriebenen, in denen sich dicht zusammenliegende Zellhaufen befinden, die manchmal wie Riesenzellen aussehen, manchmal aus den schon erwähnten „Körnchenzellen“ bestehen. Diese Körnchenzellen finden sich in der Conjunctiva sehr häufig, sie durchsetzen meistens die oberflächlichen Schichten derselben, finden sich jedoch auch in den tieferen. Am mächtigsten ist die Zellwucherung im Fornix. Die stark vermehrte fibrilläre Intercellularsubstanz umschließt die Zellen einzeln oder gruppenweise. Hier findet man häufiger Zelleinschlüsse, meistens solche von scholliger und kugeliger Gestalt, während sonst das Cylinderepithel frei von Einschlüssen ist; auch zapfenförmige Tiefenwucherung kommt hier nicht vor. Daneben finden sich noch andere, bei Beschreibung der Tumoren kurz als Cysten erwähnte Bildungen. Sie sind kugelförmig, haben einen Durchmesser von 6—8 μ und zeigen eine feine doppelt konturierte Membran. Die größten haben eine sehr feine Körnung, deren einzelne Körnchen ungleich stark hervortreten. Sie färben sich nach Mann leuchtend rot, die Kugeln, welche einfach konturiert sind und keine so glatte Oberfläche haben, sind mehr rotviolett gefärbt. Mit Alaunfuchsin-Hämatoxylinfärbung nehmen erstere mehr die Fuchsin-, letztere die Hämatoxylinfarbe an. Nach Heidenhain gleichen sie schwarzen Tintenkleben und halten diese Farbe hartnäckig fest. Biondi-Lösung färbt sie tiefrot. Oft liegen 3—4 Cysten dicht zusammen. Sie finden sich am häufigsten im Fornix, seltener in den vorderen Abschnitten der Conjunctiva und in dem lockeren zellreichen Bindegewebe, welches am hinteren Rande des Tarsus unter diesem und seiner sehnigen Fortsetzung liegt. Die kleineren Formen liegen häufig in den Zellen, die größeren werden manchmal von der Zellmembran noch locker umfaßt, viele liegen ganz frei.

Die starken hypertrophischen Veränderungen fand ich nur beim Huhn, bei verschiedenen Tauben, die ich untersuchte, herrschte entschieden die Degeneration vor. Der Zusammenhang der Zellen ist sehr gelockert, sie liegen mehr oder weniger wirr durcheinander, die Ab-

grenzung gegen die Submucosa und das Bindegewebe ist keine scharfe. Letzteres zeigt sehr starke Rundzelleninfiltrationen, zunächst herdweise an den Impfstellen, diese bucklig vortreibend, später diffus, und manchmal das ganze bis aufs dreifache seiner gewöhnlichen Breite verdickte Augenlid umfassend. In anderen Fällen herrschte auch hier wieder die Degeneration vor. Ein auffälliges Verhalten zeigt die Schicht der äußersten Cylinderzellen; sie sind stark, zum Teil außerordentlich vergrößert und ihre freien Enden flaschen- oder kürbisähnlich aufgetrieben. Ich muß hierauf noch zurückkommen.

Sind die Augenlider längere Zeit verklebt, so kann die Conjunctiva ganz verloren gehen.

Interessant sind die Veränderungen, welche bei fortgeschrittener Infektion der Tarsus eines Huhnes zeigte. Er besteht normal aus völlig gleichmäßigem Knorpelgewebe. Bei Serienschnitten durch ein erkranktes Augenlid sah ich in ihm eine Art Markbildung zunächst in der Nähe des Arcus tarsi superior entstehen, die sich allmählich nach vorn ausbreitete. Bei näherer Untersuchung fand ich, daß die Markbildung durch eine Infektion der Knorpelzellen verursacht war, welche wahrscheinlich von den bezeichneten Gefäßen ausgegangen war. Die Knorpelzellen waren in derselben Weise vermehrt und vergrößert, wie die Epithelzellen, und enthielten auch dieselben Einschlüsse (Schollen, Kugeln und zahlreiche Cysten). Die Knorpelgrundsubstanz wurde durch diese Wucherung zum Schwinden gebracht, nahm fibrilläre Struktur an und wurde schließlich zu schmalen bindegewebigen Septen umgewandelt. Dies ursprüngliche Knorpelgewebe unterschied sich jetzt in nichts mehr von dem beschriebenen Schleimhautgewebe der Uebergangsfalte. Von dem kolbig aufgetriebenen Tarsus blieb schließlich nichts weiter über als ein schmaler dorsaler Corticalrand. Von der Conjunctiva war der Knorpelherd nur durch das dünne bindegewebige Perichondrium getrennt.

Auch Pfeiffer weist auf Knorpelveränderungen hin und bildet sie ab. Ob die von mehreren Autoren angeführten Erkrankungen der Knochen, namentlich der Kiefer und der Orbita, spezifisch sind, konnte ich bisher nicht bestätigen.

Weiter habe ich Impfungen der Hornhaut vorgenommen, welche mit feiner Nadel geritzt und infiziert wurde. Hühner sind hierzu geeigneter als Tauben, weil sie eine dickere Epithelschicht haben, bei beiden gelingt die Infektion leicht. Es bildete sich dann nach einigen Tagen, ähnlich wie bei den seit Guarneri häufig vorgenommenen Impfungen der Kaninchen-cornea mit Vaccine, eine feine, leicht prominente Trübung, welche später manchmal mit Hinterlassung eines Leukoms abheilte. Auch histologisch ist das Bild bei beiden Affektionen ein ähnliches. Die Vermehrung der Zellen ist nur geringfügig, ihre Gestalt wird unregelmäßig, ihr Zusammenhang gelockert. Die Intercellularsubstanz wird deutlicher, die einzelnen Zellen oder kleine Gruppen werden durch feine Fibrillen umschlossen. Auch hier tritt eine Vergrößerung der Zellen ein, die durch Einschlüsse verursacht wird. Letztere haben ähnliche Formen wie die bereits beschriebenen, nur erreichen sie, ebenso wie die Zellen selbst, nicht die Größe wie in den Tumoren. Manchmal kommen hier auch maulbeerartige Formen vor, die sich färberisch wie Schollen verhalten; sie scheinen aus dicht zusammenliegenden kleinen Kügelchen zu bestehen. Nicht selten finden sich in älteren Stadien Cystenbildungen. Der Kern zeigt den bereits früher beschriebenen ähnliche Veränderungen.

Am geeignetsten ist hier die Färbung nach Mann, welche sehr

schöne Bilder liefert, auch Biondi-Färbung ist gut, während bei Giemsa-Färbung die Eosintöne schlecht zum Ausdruck kommen.

Im ganzen habe ich von Hornhautimpfungen wenig Nutzen gesehen, und gehe deshalb auch nicht näher hierauf ein.

Auch spontan scheinen Hornhautinfektionen häufig vorzukommen. Zürn erwähnt Hornhauttrübungen und Geschwüre, die perforieren können, worauf dann gelbe käsige Massen im Augeninnern sich bilden. Auch Becker spricht von schweren Zerstörungen des inneren Auges, ebenso Pfeiffer. Friedberger und Fröhner erwähnen ebenfalls Erkrankungen, der *Conjunctiva sclerae*, *Keratitis parenchymatosa* und *Panophthalmie*.

Erwähnen möchte ich noch eine Infektion der Nickhaut, welche anscheinend beim Impfen der Cornea mitverletzt wurde, und gleichzeitig erkrankte. Es bildete sich ein stecknadelkopfgroßes graurötliches Knötchen nahe dem unteren Rande derselben, zu dem erweiterte Blutgefäße hinzogen. Sie besteht histologisch aus sehnigem Bindegewebe, welches nach außen von geschichtetem Plattenepithel bedeckt wird, und an der Innenseite einen Konjunktivalüberzug trägt. Beide zeigten die bereits beschriebenen typischen Veränderungen. Das Pflasterepithel vermehrt sich intensiv und zeigt Einschlüsse, vergrößert waren die Zellen nicht. Die Maulbeerform der Einschlüsse war hier noch häufiger wie in der Cornea. Die Schleimhaut zeigte ebenfalls starke Wucherung, aber keine Einschlüsse. Die Oberfläche war ähnlich wie an der *Conjunctiva* ausgefranst, oder es traten mit Beteiligung des Bindegewebes kleine papillomatöse Bildungen auf. Körnchenzellen konnten ebenfalls, wenn auch in geringerer Zahl, festgestellt werden. Auch hier zeigten sich die bei den Tumoren und der *Conjunctiva* bereits erwähnten kleinen Höhlungen, die teils mit Leukocyten, teils mit Zelltrümmern, Detritus und Fibrinfäden ausgefüllt waren.

Ähnliche Infektionen fand ich ebenfalls mehrfach erwähnt.

Von der *Conjunctiva* aus geht die Infektion nicht selten auf die den Vögeln eigentümliche *Cella infraocularis* und von dieser wieder auf die Nasenhöhle über, oft ist jedenfalls der Weg auch ein umgekehrter. Auch diese Affektion, welche als infektiöser Nasenkatarrh (*Roup*, *Roupie*) bezeichnet wird, ist klinisch wieder schwer von diphtherischen Prozessen abzugrenzen. Ich sah verschiedene Fälle, die sich durch Nasenausfluß und Niesen der Tiere charakterisierten. Man kann eine Infektion leicht durch Injektion von Impfstoff in die *Cella* herbeiführen. Es entsteht dann ein Krankheitsbild, welches äußerlich an Mumps erinnert. Die histologischen Veränderungen kann man konstatieren, wenn man die Lider recht weit exzidiert, sie sind denen der *Conjunctiva* (namentlich am Fornix) analog, ich brauche daher nicht näher darauf einzugehen. Interessant sind die schwereren Fälle. Hier wird die *Cella* durch die sich anhäufenden Degenerationsprodukte oft enorm ausgedehnt (bis 4 cm Durchmesser nach Friedberger und Fröhner), der Augapfel wird manchmal luxiert und wird atrophisch oder perforiert. Die Knochenplatte des harten Gaumens wird usuriert und es erfolgt Durchbruch in die Mundhöhle (Zürn). Äußerlich ist der Kopf der Tiere bis zur Unförmlichkeit angeschwollen, häufig erfolgt in diesem Stadium der Tod. Derartige Veränderungen der bakteriellen Diphtherie zuzuschreiben, wie Friedberger und Fröhner wollen, halte ich nicht für richtig.

Schließlich sind noch einige seltenere Infektionen zu verzeichnen. Zürn erwähnt Erkrankungen der Cloake und beschreibt sie als zackige

Erosionen oder Ulcerationen, die mit gelben, weichen oder mehr trockenen Belagmassen versehen sind. Ich habe ganz ähnliche Veränderungen leicht hervorrufen können, habe sie aber nicht näher untersucht, da ich annehme, daß sie denen der Mundhöhle analog sind. Auch die Gehörgänge lassen sich leicht infizieren. Zürn und Vale beschrieben anscheinend spezifische Veränderungen der Gelenke an den Beinen, letzterer bezeichnet sie mit Gout. Ich habe versucht, das Fußgelenk zu infizieren, es ist aber nicht gelungen, doch halte ich es nicht für ausgeschlossen, daß Tumoren, die sich hier (wie z. B. Polowinkin abbildet) lokalisieren können, auf das Gelenk übergreifen und dieses spezifisch verändern.

Noch weitere in der Literatur beschriebene Erkrankungen, namentlich der inneren Organe, glaube ich auf sekundäre oder überhaupt auf andere Infektionen zurückführen zu sollen.

Ziehen wir aus dem Gesagten unsere Schlußfolgerungen, so ergibt sich zunächst klinisch, daß die Geflügelpocken mit Sicherheit auch die äußeren Schleimhäute, namentlich die des Mundes, des Auges und der Nasenhöhle spezifisch verändern, unter dem Bilde einer bald serös-eitrigen, bald krupös-diphtherischen, bald käsig-nekrotischen Entzündung. Weiter ergibt sich auch hier wieder eine Aehnlichkeit mit den echten Pocken; namentlich die Schafpocken rufen ganz analoge Veränderungen hervor. Bei der Variola wie bei der Ovine finden sich dieselben progressiven Geschwürsbildungen in der Mundhöhle und im Rachen. Auch bei Schafen finden sich häufig meist eiterige Entzündungen der Schleimhaut der Nase und des Auges, dieselbe typische Corneaerkrankung, welche Guarneri zu seinen Hornhautimpfungen bei Kaninchen veranlaßte, dieselbe Panophthalmie, kurz das eingehende Studium der Schleimhauterkrankungen bei den Vögeln ergab Krankheitsbilder, welche den bei den Pocken der Säuger sich findenden durchaus analog sind, und somit eine wertvolle Stütze bilden für die schon oben ausgesprochene Behauptung: die Pocken der Vögel verhalten sich klinisch wie die echten Pocken.

Histologisch ergibt sich aus der Untersuchung der erkrankten Organe und Gewebe folgendes Gesamtbild: Alle Gewebe, in welche der Krankheitserreger sich Eingang verschafft hat, reagieren zunächst durch eine mehr oder weniger intensive Zellvermehrung. Wir sahen dies zunächst beim Epithel sowohl der Haut wie der Schleimhäute, zugleich konnten wir hier sehr häufig eine Hypertrophie der einzelnen Zellen konstatieren. Beim Bindegewebe fanden wir eine ausgesprochene Vermehrung der zelligen Elemente wie der Grundsubstanz und eine Rundzelleninfiltration; diese Reaktion liegt zeitlich später als die des Epithels. Auf der Höhe der Infektion fanden sich in den gewucherten, stark vergrößerten Epithelzellen der Haut typische Zelleinschlüsse, ebenso in den Schleimhäuten mit geschichtetem Pflasterepithel, während die Cylinderepithelzellen seltener solche Gebilde zeigten. Das zweite Stadium ist das der regressiven Veränderungen. Beim Epithel beginnen sie in den Zellen. Es degeneriert der Kern und das Protoplasma, es zerfallen die Zelleinschlüsse, dann die Zellen selbst und schließlich wird das ganze neugebildete Epithelgewebe abgestoßen. Beim Bindegewebe zeigt sich Leukocyteneinwanderung, Degeneration der zelligen Elemente und zum Teil Ulceration. Als dritte Phase folgen dann die Heilungsvorgänge teils mit restitutio ad integrum, teils mit Defekt und Narbenbildung. Es stehen nun Intensität und Verlauf der Infektion in direktem Ver-

hältnis zu den degenerativen Erscheinungen und in umgekehrtem zu den progressiven und hyperplastischen. Ist der Verlauf ein mehr chronischer, die Infektion von mäßiger Virulenz, so entstehen die Knötchen- und Tumorbildungen, ist sie intensiv und rapid, so ist die Zellvermehrung minimal, die Degeneration setzt sehr bald ein und beherrscht das Bild vollständig, es entstehen pustulöse und ulcerative Formen. So erklärt sich auch histologisch die Vielgestaltigkeit des Exanthems.

Dieselben histologischen Veränderungen wie die eben präzisierten bieten auch die echten Pocken dar. Während jedoch bei der Vogelpocke eine ausgesprochene Epithelwucherung die Regel bildet, treten bei der Variolagruppe degenerative Prozesse schneller und intensiver auf, und die Ovine nimmt eine Mittelstellung ein. Daß aber auch bei der Variola die Hyperplasie im Anfang keineswegs fehlt, ist schon von den älteren Untersuchern anerkannt worden. Unna z. B. geht namentlich auf das erste Stadium des Exanthems genauer ein und beschreibt an der Hand seiner Abbildungen die Wucherung unregelmäßiger Epithelzapfen in die Tiefe der Cutis, wodurch die Papillen derselben das 10—20-fache ihrer normalen Größe erreichen. Auch ein Vergleich der abgekapselten „Pockenhöhlen“ mit den oben beschriebenen cystischen Hohlräumen ist naheliegend. Eine intensive Zellvermehrung zeigt auch die vaccinierte Kaninchencornea, während die analoge Affektion bei der Vogelpocke infolge der stärkeren Virulenz nur eine geringe Epithelwucherung darbietet. Auf die Einzelheiten der zwischen Schaf- und Vogelpocken bestehenden Ähnlichkeit einzugehen, würde zu weit führen, ich muß hier auf die französischen Autoren verweisen, welche in den letzten Jahren die Ovine histologisch genauer untersucht haben (Borrel, Morel und Vallée, Bosc). Sie haben auch den bindegewebigen Veränderungen eine größere Aufmerksamkeit zugewandt; hier ergeben sich ebenfalls zahlreiche und zum Teil weitgehende Analogieen. Betreffs der Zeileinschlüsse sahen wir oben, daß ihre Form und Größe in den verschiedenen Geweben wechselte, wir werden also erwarten müssen, daß dies auch bei den anderen beiden Pockenformen der Fall ist, und daß sich auch zwischen diesen wieder gewisse Differenzen ergeben werden.

Am Schlusse dieses Abschnittes kommen wir zu dem Gesamtergebnis: Auch histologisch verhalten sich die Vogelpocken wie die echten Pocken.

Weiter ist dann noch die Frage zu beantworten, wie verhalten sich beide in ätiologischer Hinsicht zueinander?

III.

Schon im Beginne der Arbeit habe ich darauf hingewiesen, daß man als Erreger der Krankheit, nachdem die Pocken theorie verlassen war, zunächst verschiedene Protozoenarten, dann Bakterien und Blastomyceten angesprochen hat. Nachprüfungen ergaben jedoch immer sehr bald, daß es sich um Mischinfektionen gehandelt hatte oder um eine unrichtige Deutung der in den wuchernden Epithelzellen sich findenden Einschlüsse. Wir sind daher hier ebenso wie bei den Pocken augenblicklich ganz auf dem Nullpunkte angelangt und können nur von einem Virus sprechen. In den letzten Jahren haben Untersuchungen von Marx und Sticker und Juliusberg einige interessante Aufschlüsse über die Natur dieses Virus ergeben. Sie fanden übereinstimmend, daß dasselbe filtrierbar ist, daß es aber nur Berkefeld-Filter, nicht auch Porzellankerzen passieren kann, und daß die Inkubationsdauer durch die Filtration um das Doppelte verlängert wird. Es zeigte sich sehr resistent gegen Kälte, Licht und

Austrocknung: in einer Petri-Schale am Fenster stehend, erwiesen sich Krusten nach 2 Monaten noch virulent. Der Impfstoff vertrug 3-stündige Erwärmung auf 60°. Im getrockneten Zustande im Vakuumröhrchen eingeschmolzen, konnte er ohne Schaden 1 Stunde im Dampftopf belassen werden, und nach Verreibung mit Glycerin erwies er sich nach 1 Monat noch ebenso infektiös wie vorher. Eine 1-proz. Karbolsäurelösung bewirkte bei $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung keine Schädigung, eine 2-proz. Lösung tötete ihn in derselben Zeit ab. Schon vorher hatte Sanfelice festgestellt, daß faulende Tumormassen sich 2 Monate virulent erhielten. Der Impfstoff vertrug trockene Hitze von 60° 2—3 Std., von 80° 15—30 Min., von 100° 5 Min. Feuchte Wärme von 60° tötete ihn zwischen 15 und 30 Min., von 100° in 5 Min. ab. Direktes Sonnenlicht soll er hier nur 2—3 Std. ertragen haben. Er wurde abgetötet durch 1-proz. Kalilauge, 1-proz. Essigsäure, 1-proz. Karbolsäure, 1-prom. Sublimat jedesmal in 5 Min.

Bollinger konnte feststellen, daß in einem infizierten Geflügelhof, welcher einen ganzen Winter leer gestanden hatte, im Frühjahr die Krankheit unter einer neuen Hühnerherde wieder ausbrach. Aehnliche Beobachtungen sind mehrfach gemacht.

Wichtig ist die Glycerinbeständigkeit, welche nach von mir angestellten Versuchen 2 Monate überdauert.

Aus alle dem geht soviel hervor, daß das Virus eine ziemlich starke Resistenz gegen äußere Einflüsse besitzt, welche die der vegetativen Bakterienformen übertrifft. Sie legt die Vermutung nahe, daß es sich hier um einen Organismus handelt, welcher in seiner chemischen Zusammensetzung und Struktur den Bakteriensporen ähnlich ist und wegen seiner Filtrierbarkeit außerordentlich klein sein muß.

Das Virus der Schafpocken passiert nach den Versuchen von Borrel ebenfalls Berkefeld-Filter, während es durch Chamberland-Kerzen (Marke F) nicht hindurchging. Siegel konnte unter Anwendung von mehreren Atmosphären Druck das Vaccinevirus durch Chamberland-Filter pressen; welche Marke er benutzte, fügt er nicht hinzu. Nach Versuchen von Negri und de Waele und Sugg passierte es ebenfalls Berkefeld-, nicht aber Chamberland-Filter, im übrigen sind die Angaben hier schwankende, wiederholt ist die Lymphflüssigkeit, nachdem sie durch ein gewöhnliches Papierfilter filtriert war, als nicht mehr virulent befunden worden, was an die Möglichkeit denken läßt, daß der Erreger nicht immer in derselben kleinsten Form in der Lymphe enthalten ist. Die Glycerinbeständigkeit ist dieselbe, und auch die Resistenz gegen Austrocknung, Hitze und Chemikalien ist, soweit sie überhaupt untersucht ist, eine ähnliche.

Was den Modus der Infektion anbetrifft, so hat man wiederholt Insekten als Zwischenwirte angesprochen, Mücken (Mégnin), Läuse und andere Parasiten dieser Tiere. Mingazzini glaubte eine Käferart (*Blaps*) anschuldigen zu sollen, Sanfelice konnte jedoch feststellen, daß das Virus zwar den Darmkanal von *Blaps* passiert, daß es jedoch schon nach wenigen Tsgen aus dem Kot verschwunden ist. Diese Art der Uebertragung scheint demnach um so weniger in Frage zu kommen, als ja für direkte Infektion reichlich Gelegenheit geboten ist, sei es durch die abgefallenen und überall verstreuten Borken und Krusten, sei es durch Infektion der Trink- und Futternäpfe oder der Sitzstangen auf den Hühner- und Taubenschlägen. Auch der Kontaktinfektion ist durch das Schnäbeln und Kämpfen der Tiere, durch das Füttern der Jungen

und durch die Kohabitation Tor und Tür geöffnet. Als Eingangspforten spielen die Schleimhäute, namentlich die der Mundhöhle, eine wichtige Rolle, wie die häufigen sich hier findenden Primäraffekte beweisen. Nach Sanfelice soll das Virus in die intakte Schleimhaut eindringen können, von Anderen wird dies bestritten, jedenfalls genügen hierfür sehr geringfügige Läsionen, seien sie mechanischer oder katarrhalischer Natur, während Infektionen der unverletzten Epidermis kaum anzunehmen sind.

Daß diese Verhältnisse bei den Pocken ähnlich liegen, bedarf keiner weiteren Ausführungen.

Es ist nicht zu bezweifeln, daß das Ektoderm die größte und unter Umständen fast ausschließliche Empfänglichkeit für das Virus aller Pockenarten besitzt.

In zweiter Linie steht das Mesoderm. Ich deutete bereits wiederholt darauf hin, daß seine Erkrankung nicht allein als entzündlich-symptomatische Reaktion gedeutet werden kann, sondern spezifisch sein muß; auf die Einzelheiten werde ich noch genauer eingehen.

Wie schon Weigert gezeigt hat, wird auch das sehr viel weniger empfängliche Entoderm manchmal in Mitleidenschaft gezogen; namentlich haben aber die neueren französischen Untersuchungen sowohl bei natürlichen wie bei experimentellen Infektionen hierüber sehr interessante Ergebnisse geliefert. Wie diese Verhältnisse bei der Vogelpocke liegen, habe ich bisher nicht untersucht.

Weiter muß das Blut eine wichtige Rolle bei der Verbreitung des Virus im Körper spielen. Das Auftreten des disseminierten und diffusen Exanthems läßt sich kaum anders erklären, als daß die Erreger nach Läsion der Hautkapillaren ins Epithel gelangen. Ähnliche Verhältnisse haben wir bei den Roseolen des Typhus und den Petechien der septischen Affektionen. Während es jedoch hier unschwer gelingt, die Erreger im Blut nachzuweisen, haben Versuche ergeben, daß Uebertragungen der Pocken nur mit sehr erheblichen Blutmengen (100 ccm und mehr) einigermaßen sicher gelingen und auch dann nur auf der Höhe des Krankheitsprozesses; ebenso verhalten sich die erkrankten regionären Lymphdrüsen (Bosc, Nocard und Roux, Borrel, Pfeiffer).

Auch bei unserer Affektion müssen die Verhältnisse ähnlich liegen. Ich habe zweimal ohne Erfolg Impfungen mit Blut und Lympfsaft versucht. Da man immer nur kleinere Mengen verwenden kann, sind größere Versuchsreihen nötig, um hier Klarheit zu schaffen.

Man muß also mit Borrel annehmen, daß das Virus nur das Blut passiert, um sehr bald wieder daraus zu verschwinden. Oder man kann annehmen, daß es nur in einer Entwicklungsform im stande ist, in die Zellen einzudringen und so neue Infektionen herbeizuführen, ebenso wie manche Coccidien nur als reife Oocysten den Magen der Wirtstiere passieren und diese infizieren können.

Wiederholt hat man die Frage untersucht, welche Veränderungen das Kontagium durch Uebertragung auf eine andere Tierart, namentlich von Taube auf Huhn und umgekehrt, erleidet. Marx und Stickor, welche größere Versuchsreihen an über hundert Tieren anstellten, kommen zu folgenden Resultaten: Die Uebertragung von Tauben auf Hühner gelingt gut, der Krankheitsverlauf ist bei ihnen ein typischer. Impften sie nach einer Passage durch das Huhn auf Tauben zurück, so zeigte sich, daß die Virulenz für Tauben eine ganz erhebliche Abschwächung erfahren hatte. Es erkrankten von 18 Tieren nur 3 typisch, die Inkubationszeit wurde verlängert. Die Uebertragung von Hühnern auf

Tauben gelang ihnen in 14 Fällen nicht. Sie kommen zu dem Schluß, daß eine sehr schnelle Anpassung und Veränderung biologischer Eigentümlichkeiten des Virus stattfinden müsse.

Sanfelice, der auch über ein sehr großes Tiermaterial — an Tauben allein 200 — verfügte, impfte einen Taubenstamm auf 2 junge und 3 alte Hähne; bei den beiden jungen Tieren trat eine abortive Reaktion ein, die alten Tiere erkrankten gar nicht. Er meint, daß die Parasiten der Geflügelpocken, wenn sie von einer Species auf die andere übertragen werden, nicht so leicht gedeihen. Ich sah bei einer Uebertragung von Taube auf Huhn trotz ausgiebiger Kammimpfung nur eine schwache Krustenbildung, ein zweites hiermit geimpftes Huhn reagierte gar nicht mehr.

Auch hier lassen sich also zweifellos Vergleiche mit den übrigen Pockenformen ziehen und durch Impfungen auch auf andere empfängliche Vogelarten noch ausdehnen.

Um das Auftreten der Immunität festzustellen und zugleich um meine Impftiere möglichst auszunützen, habe ich zahlreiche Successivimpfungen gemacht. Es ergab sich dabei, daß die Infektion in der ersten Krankheitswoche regelmäßig erfolgte; in der zweiten hatte sie einen abortiven Verlauf und gegen Ende derselben haftete sie überhaupt nicht mehr. Sämtliche Affektionen heilten gleichzeitig ab.

Marx und Sticker fanden, daß eine Wiederimpfung vom 12. Tage ab kein Ergebnis hatte.

Beim vaccinierten Kind liegt dieser Zeitpunkt zwischen dem 7. und 10. Tag. Auch hier heilen alle Impfstiche gleichzeitig ab (Pfeiffer).

Es ergibt sich also übereinstimmend, daß die Epithelimmunität sich allmählich entwickelt und noch während des Bestehens des Exanthems so weit fortgeschritten ist, daß Neuinfektionen nicht mehr haften. Ueber die Basis, auf welcher sich dieser wichtigste Immunisierungsprozeß aufbaut, wissen wir bedauerlicherweise nichts.

Es ist bekannt, daß die Pocken erblich sind, namentlich können Lämmer mit ausgesprochenem Exanthem geboren werden, andere wieder zeigen eine gewisse Immunität (Nocard und Leclainche). Bei der Vogelpocke ist hierüber nichts bekannt. Mégnin erwähnt, daß Tauben, welche Tumoren haben, kein einziges Junges aufziehen können, sie sterben alle im Verlauf von 48 Stunden an diphtherischen Prozessen. Ferner sagt Pfeiffer, daß die von den englischen Taubenzüchtern als Cancer beschriebene Form von diesen für erblich erklärt wird. Es wäre von Interesse, festzustellen, wie hier die Verhältnisse liegen.

Fassen wir unsere Untersuchungen zusammen, so ergibt sich, daß, soweit ein Vergleich bei den unvollständigen Kenntnissen, die wir über das Virus besitzen, überhaupt möglich ist, die Erreger aller Pockenarten die gleichen oder doch sehr ähnliche Eigenschaften besitzen. Wir fanden dieselbe sporenähnliche Resistenz, Glycerinbeständigkeit und Filtrierbarkeit, denselben Modus der Infektion, dieselben Eingangspforten, dieselbe Verbreitung im Körper, eine ähnliche Abschwächung der Virulenz und eine ähnliche Entstehung der Immunität. Ueber weitere Punkte, z. B. die Ursachen der Immunität, die Erblichkeit, die Art des Pockentodes, soweit er nicht durch Mischinfektionen bedingt ist, über die Eliminierung des Virus aus dem Körper etc. kann uns erst die genaue Kenntnis des Erregers weiteren Aufschluß geben.

Ueberblicken wir nochmals die drei vorliegenden Abschnitte der Arbeit, so ergibt sich, daß diese Krankheit sich in keinem wesent-

lichen Punkte, weder klinisch noch histologisch noch ätiologisch, von den übrigen Pockenarten unterscheidet, und demnach den echten Pocken, der Variolagruppe und der Ovine, als dritte selbständige Form an die Seite gestellt werden kann, und daß es durchaus berechtigt ist, von den Pocken der Vögel zu sprechen. Der wissenschaftliche Name *Epithelioma contagiosum* ist, wie wir sahen, schon klinisch unzutreffend, deckt histologisch nur einen kleinen Teil der Veränderungen, und ätiologisch hat unsere Affektion mit einem Epitheliom gar nichts zu thun. Auch der von Borrel vorgeschlagene Name Epitheliose hat wenig für sich. Richtiger wäre es jedenfalls, durch die Bezeichnung Avine ihre Zugehörigkeit zu der Pockengruppe zu charakterisieren, wobei vorläufig, d. h. so lange der Erreger noch unbekannt ist, die Frage offen bleiben muß, ob es sich hier um identische oder um nahe verwandte Krankheitsprozesse handelt.

Es erhebt sich nun die Frage, ist es möglich, diese neue Pockenform auf Menschen oder Säugetiere zu übertragen und lassen sich umgekehrt die ersten beiden Pockenarten auf die Vögel übertragen? Die wenigen nach dieser Richtung hin angestellten Impfversuche mit Vaccine bei Vögeln und mit der Vogelpocke beim Menschen und einigen Haustieren sind wohl zweifellos fehlgeschlagen und einige gegenteilige Angaben (z. B. Infektion von Jürgens bei Friedberger und Fröhner) sind unbewiesen. Auch das *Molluscum contagiosum* des Menschen kann wohl sicher nicht auf diese Infektion bezogen werden. Die Wahrscheinlichkeit der Infektiosität der Vogelpocke für Säuger ist demnach sehr gering, für die Unmöglichkeit der Uebertragung liegen jedoch bisher keine Beweise vor, zumal man über das Verhältnis der Ovine zur Avine gar nichts weiß. Bedenkt man ferner die schwierige, ja zum Teil unmögliche Uebertragung zwischen den ersten beiden Formen und den minimalen immunisatorischen Effekt derselben, welche zur Aufgabe der Vaccinierung der Schafe geführt hat, so erscheint es nicht auffällig, wenn das an die Vogelkörper angepaßte Virus sich in der Tat nicht mehr auf Säuger übertragen ließe und umgekehrt.

Es liegt nahe, hier eine Parallele mit der Tuberkulose des Menschen, der Rinder (und der anderen Säugetiere), der Vögel und der Kaltblüter zu ziehen. Ob die von Doflein u. A. beschriebene Pockenkrankheit der Karpfen mit in diesen Vergleich hineingezogen werden kann, ist sehr fraglich, doch nach den Untersuchungen von Lühe durchaus nicht ausgeschlossen, jedenfalls besteht hier ebenfalls eine von entzündlichen Erscheinungen des Mesoderms begleitete mehr oder weniger intensive Hyperplasie des Ektoderms.

Indessen haben diese Erwägungen ein mehr theoretisches Interesse, doch läßt sich auch praktisch aus dem Vorstehenden insofern ein gewisser Nutzen ziehen, als die prophylaktischen Maßnahmen gegen die Vogelpocken verbessert werden können. Unter Zugrundelegung der bei der Ovine gemachten Erfahrungen wird es zweifellos gelingen, falls die Seuche in großen und wertvollen Geflügelhöfen ausgebrochen ist, durch Impfungen mit künstlich oder durch Tierpassagen abgeschwächtem Virus den jetzt oft erheblichen Schaden einzuschränken. Die Veterinärpolizei wird ihr Augenmerk auf die fortwährende Neueinschleppung der Seuche namentlich durch italienisches Geflügel zu richten haben.

Auf den Wert, den diese Affektion für das Studium des Pockenerrregers hat, habe ich schon in der Einleitung hingewiesen, er ist derselbe, welchen für das Studium der Malaria die analogen Vogelkrank-

heiten (*Proteosoma*, *Halteridium*) gehabt haben und noch haben. Es folgt hieraus, daß das Studium der Avine nicht lediglich veterinäres Interesse bietet, sondern eine genauere Beachtung auch der Bakteriologen durchaus verdient.

Zweck des letzten Teiles der Arbeit ist es, einen Beitrag zur Lösung der Frage nach dem Erreger der Krankheit und zugleich die noch fehlende genauere Schilderung der Zellveränderungen zu geben. Auch hier will ich versuchen, meine Befunde mit den bei den übrigen Pockenkrankheiten gemachten zu vergleichen.

IV.

Vorauszuschicken sind noch einige technische Bemerkungen.

Wir sahen, daß es sich um einen filtrierbaren Organismus handelt, hieraus ergibt sich ohne weiteres, daß derselbe überhaupt oder doch während einer Entwicklungsstufe sehr klein sein muß. Daß er sichtbar sein würde, ließ sich schließen aus Versuchen Borrel's, welcher bei der Filtration der Schafpocken häufig feinste Wasservibrionen und Kokken im Filtrat vorfand, die er nur durch Abkochen des Wassers ausschließen konnte; fehlten sie, so war auch das Virus nicht im Filtrat. Auch v. Esmarch fand ein *Spirillum* (*Sp. parvum*), welches nicht nur Berkefeld- sondern auch Chamberland-Filter glatt passierte. Die Länge desselben stellte er auf 1—3 μ , seine Dicke auf 0,1—0,3 μ fest (Länge des Influenzabacillus 1—2 μ , Dicke 0,4 μ) [Lehmann]. Für unsere Untersuchungen ergibt sich hieraus, daß es nötig sein wird, starke Vergrößerungen zu verwenden; ich habe fast nur mit Zeiss Komp.-Ok. 12 u. 18 gearbeitet. Um die nötige Helligkeit namentlich für Schnittpräparate zu erreichen, empfiehlt es sich, bei künstlichem Licht zu arbeiten, sehr geeignet ist Acetylenlicht (Prowazek), ich bin ebenso wie Hückel mit Auerlicht vollständig ausgekommen. Weiter ist es nötig, ein größeres Material zur Untersuchung heranzuziehen, da mit dem Fortschreiten der Krankheit das Bild ein anderes wird, namentlich ist die Erzielung schwerer Infektionen, sei es durch ausgiebige subkutane, Schleimhaut- oder Cella-Impfungen, sei es durch anderweitige Schädigungen des Tieres, von großem Wert. Schließlich ist ein genaues Studium der normalen zelligen Elemente unbedingt erforderlich, da es sich hier um Zellparasiten handelt und man sich nur so vor Täuschungen schützen kann.

Der natürliche Ausgangspunkt für das Suchen nach dem Erreger der Pocken wie aller in diese Gruppe gehörender Affektionen sind und bleiben die Zelleinschlüsse. Diese rätselhaften Gebilde sind von den verschiedensten Autoren studiert und beschrieben worden, immer wieder hat man versucht, sie als Parasiten zu deuten, sie bei den Protozoen unterzubringen; viele hielten sie für Coccidien. „So entstand die fast wertlose umfangreiche Literatur über die Pseudococcidien der perniciosen Geschwülste und der akuten Exantheme.“ Dies das Urteil Schaudinns und vieler anderer Autoren, namentlich der Pathologen. Sie sehen in den Einschlüssen nichts weiter als Zerfallsprodukte der Zellen und Degenerationserscheinungen. Eine dritte Gruppe nimmt eine vermittelnde Stellung ein, sie sagen mit Recht, daß die Beweise für die Protozoennatur der Einschlüsse nicht ausreichend genug sind, daß jedoch andererseits diese wohlcharakterisierten Gebilde, welche durch Kontrollen künstlich hervorzurufen man sich vergeblich bemüht hat, so sehr aus dem Rahmen der bekannten Degenerationen heraustreten, daß z. B. selbst Hückel

gar keinen Versuch macht, sie irgendwo „einzuzwängen“. Man behilft sich mit dem Begriff der „spezifischen Degeneration“ und bezeichnet die Einschlüsse mit dem vielsagenden Ausdruck „Körperchen“. Von diesen kennt man schon eine ganze Anzahl, außer den Guarnierischen der verschiedenen Pockenarten die Negrischen der Lyssa, die Ruffer und Plimmerschen der malignen Tumoren, die Molluscumkörperchen beim *Molluscum contagiosum*, ferner solche bei Scharlach, Masern und Röteln, bei der Rinderpest, bei Maul- und Klauenseuche, beim Herpes zoster, bei der Pagetschen und Darierschen Krankheit und neuerdings bei der Hühnerpest (Kleine), womit die Reihe der „spezifischen“ Degenerationen keineswegs erschöpft sein dürfte.

v. Wasielewski bemerkt hierüber: „Aehnliche Anschauungen über spezifische Gewebs- und Zellveränderungen, welche durch Parasiten oder besondere Krankheitsstoffe erzeugt sein sollen, sind bisher stets als irrig nachgewiesen und verlassen worden“. Wie dem auch sei, jedenfalls muß man konstatieren, daß die Zelldegeneration, welche sonst nach bestimmten, im ganzen doch monotonen, Gesetzen vorgeht, hier eine merkwürdige Produktivität und Vielgestaltigkeit zeigt.

Die Entstehung der Guarnierischen Körperchen im besonderen führt man zurück auf Degeneration des Kernes, des Cytoplasmas, von Nukleolen, von Centrosomen und von eingedrungenen Leukocyten. Das Für und Wider dieser Theorien ist von Hückel, v. Wasielewski und Prowazek eingehend behandelt worden, ich kann diese ganze Frage hier nur streifen. Doch war dies nötig, da auch die letzten Arbeiten über die Vogelpocke, namentlich die von Apolant, ganz auf dem Boden dieser Anschauungen stehen. Apolant hält die oben beschriebenen Einschlüsse sämtlich für Degenerationsprodukte, doch ist es bemerkenswert, daß er nicht mit einer der eben genannten Theorien auskommt, sondern genötigt ist, anzunehmen, daß sie teils vom Kern, teils vom Cytoplasma abstammen. Weiter haben sich die Anhänger der Degenerationstheorie mit folgenden Tatsachen abzufinden: Die normale Epithelzelle des Rete Malpighii hat beim Huhne einen größten Durchmesser von 6—8 μ , der Kern einen solchen von 4—5 μ , bei der Tumorzelle beträgt er dagegen gewöhnlich 30 μ , nicht selten erreicht er 40 μ und in einzelnen Fällen sah ich Zellen von 50 μ Länge. Der Durchmesser des häufigsten Zelleinschlusses, der Kugel (oder der Scholle), beträgt 12—14 μ . Das Volumen des Einschlusses ist demnach (für die Kugelform berechnet) etwa $2\frac{1}{4}$ mal so groß als das der normalen Zelle, fast 6mal so groß als das des Kernes, und die Tumorzelle ist 25mal so groß als die normale! Die Guarnierischen Körperchen in der Corneazelle des Kaninchens erreichen höchstens die Größe des Kernes und die ganze Zelle vergrößert sich nur wenig. Füge ich noch hinzu, daß, wenn auch selten sich 2, und in einzelnen Fällen 3 solcher Kugeln in einer Zelle fanden, so dürfte es von vornherein klar sein, daß es zum mindesten schwieriger als bei der Kaninchencornea sein muß, hier die Degenerationstheorie exakt durchzuführen.

Indessen verlangt Hückel als Vorbedingung für die Annahme der Parasitentheorie mit Recht „den Nachweis, daß die Körperchen unmöglich von der Epithelzelle oder überhaupt vom Tierkörper selbst herkommen könnten“. Diesen Nachweis werde ich im folgenden zunächst für die oben als Scheiben charakterisierten Gebilde zu erbringen suchen, welche zwar nicht in allen, aber doch in einer großen Anzahl von Zellen sich finden. Fig. 1 zeigt eine stark vergrößerte polygonale

Epithelzelle, nach Giemsa gefärbt, welche unten eine Scholle, darüber einen degenerierten Kern und der Membran anliegend Spuren von Protoplasma erkennen läßt. Außerdem 3 der fraglichen Körperchen, wie sie in wechselnder Größe ($1-8 \mu$) und Menge ($1-5$ und mehr) sich in den Tumorzellen finden. Weiter kamen sie zahlreich vor in den erkrankten Zellen der Schleimhaut des Platten- wie des Cylinderepithels, sowie in denen der Cornea und des Knorpels. Es kommt hinzu, daß sie sich nicht nur in den Zellen, sondern auch gar nicht selten in der verdickten Intercellularsubstanz nachweisen lassen. Ferner habe ich sie in schweren Fällen im hämorrhagisch infiltrierten Bindegewebe des Augenlides zahlreich angetroffen (bis 21 in einem Gesichtsfelde) und schließlich konnte ich sie vereinzelt auch im Blute und in den Lymphschläuchen nachweisen. Ein Blick auf ihre nicht eben komplizierte Struktur zeigt, daß es nicht schwer ist, sie hier überall sicher zu identifizieren, zumal sie durch ihre leuchtend rote Färbung nach Mann mit zartem blauen Saum sehr auffallen (Fig. 2) und ich für diesen Zweck nur solche von etwa 5μ Durchmesser berücksichtigt habe. Eine Verwechslung mit Leukocyten oder Zellen des normalen Gewebes ist nicht möglich. Auch kann man sie nicht als Eleidin- oder Keratohyalinröpfchen oder ähnliche Vorstufen des Verhornungsprozesses deuten, wie man dies bei ähnlichen Einschlüssen in der Epidermiszelle getan hat.

In meinem reichen Untersuchungsmaterial habe ich diese Gebilde in Tausenden von Exemplaren gesehen, ferner schreibt auch Pfeiffer: „Zu bemerken ist noch, daß Rundzellen obiger Beschaffenheit sich auch finden im kreisenden Blute der kranken Tauben, im Ductus thoracicus und vor allem in dem Sekret am Grunde der Exsudatmassen im Maul und auf der Haut“.

Aus alledem sehe ich keinen anderen Ausweg als den, daß es sich hier um körperfremde Gebilde, um Parasiten handeln muß.

Es kam nun in erster Linie darauf an, irgendwelche Lebensäußerungen dieses Parasiten nachzuweisen, um über seine Natur Aufschlüsse zu bekommen. Untersucht man auf der Höhe der Krankheit Tumormaterial in Zupfpräparaten oder im hängenden Tropfen, so findet man häufig Gebilde, welche diesen Scheiben entsprechen. Es sind kugelige Körper, die alle einen grünlichen Glanz haben, wie das von den Voruntersuchern bereits wiederholt erwähnt ist. Die kleinsten von ihnen sind $1/2-1 \mu$ groß und kokkenähnlich. Sie haben in der Mitte ein stark lichtbrechendes, bräunliches Körnchen und einen feinen, hellgrünen Saum (Fig. 16). Größere ($4-6 \mu$) zeigen eine feine, hellgrüne Randkontur und ein großes, schwach granuliertes, gelbgrünes Zentrum (Fig. 17, 18). Die größten ($6-8 \mu$) zeigen häufig etwa in der Mitte ein bräunliches, stärker lichtbrechendes, kernartiges Gebilde (Fig. 19), manchmal auch deren zwei (Fig. 20) dicht zusammen, oder weiter auseinander liegend, gleichen sonst den vorigen, haben aber noch einige stärker hervortretende bräunliche Granula unter den zarteren, grünlichen. Wieder andere zeigen eine stärkere, dunklere Randkontur und eine gröbere, schärfer lichtbrechende, grünliche Körnung (Fig. 21). Alle diese Körperchen haben eine deutliche Bewegung, welche bei den größeren oft sehr schwach, bei den kleineren dagegen eine ausgesprochene ist. Sie besteht in Achsendrehungen vor- und rückwärts, und einer mehr oder weniger kreisförmigen Ortsbewegung. Gestaltsveränderungen habe ich nicht feststellen können. Beim Zusatz von Sublimat, aber auch schon von Alkohol, tritt alsbald völlige Ruhe ein, es muß sich also hier

um aktive Bewegungserscheinungen handeln. Beim Zusatz von Alkohol sieht man an manchen von diesen Zellen eine eigenartige Kammerung oder einen wabigen Bau hervortreten; es zeigen sich durch hellgrüne Scheidewände abgetrennte kleine bräunliche Felder, bei den kleinen weniger (3—8; Fig. 27), bei den größeren mehr (Fig. 26).

Während diese kugeligen Gebilde (Fig. 16—21, 26 u. 27) frei in der Flüssigkeit schwimmen, tritt in den Zupfpräparaten das regelmäßige Mosaik des Tumorgewebes deutlich zu Tage. In den Zellen heben sich die Einschlüsse durch denselben grünlichen Glanz von dem Körpergewebe scharf ab. Ihre Struktur ist ganz dieselbe, wie sie eben beschrieben ist. Auch hier haben wir schwach granulirte, kernlose und kernhaltige Gebilde (Fig. 22 u. 24). Ferner solche mit gröberer, stärker lichtbrechender Körnung (Fig. 23) und schließlich solche mit der oben beschriebenen Kammerung (Fig. 25), wie sie ähnlich auch in einigen Abbildungen Pfeiffers hervortritt (Fig. 5, 6 u. 8); er erzielte sie durch Maceration mit künstlichem Magensaft. Läßt man solches Tumormaterial vollständig austrocknen und untersucht nach Monaten wieder im hängenden Tropfen, so findet man die Einschlüsse zwar noch deutlich hervortreten (das Bild ist mit dem einer Butzenscheibe vergleichbar), aber sie sind vollständig homogen, geschrumpft, vertrocknet. Nur die Gebilde mit der gröberen, stärker lichtbrechenden Körnung haben sich völlig unverändert erhalten. Dies Bild ändert sich auch nicht nach mehrtägigem Aufenthalt im Brutschrank. Man kann also diese Form als Dauerform von den übrigen vegetativen Bildungen abgrenzen und sie ihrem ganzen Aussehen nach als Cyste mit feinen, kaum $\frac{1}{2}$ μ großen Sporen angefüllt auffassen, und ich habe sie deshalb oben als Cyste bezeichnet. Einen sicheren Beweis hierfür, Austreten der Sporen oder dergleichen, kann ich nicht erbringen. Ueberhaupt habe ich andere Lebensäußerungen als die beschriebene Eigenbewegung, wie Kernteilungen oder Wachstum der Körperchen, selbst bei längerer Beobachtung nicht wahrgenommen. Ich habe zwar nicht mit geheiztem Objektisch gearbeitet, indessen scheint mir aus den analogen Untersuchungen bei den übrigen Pockenarten hervorzugehen, daß es zum mindesten nicht leicht sein wird, die Biologie dieser Gebilde klarzulegen.

Schließlich zeigen sich auch im ungefärbten Präparat in den Zellen liegende, völlig strukturlose, schollenartige Bildungen; sie haben keinen grünlichen Glanz, sehen aus wie leere Hüllen und entsprechen den schon früher beschriebenen Schollen (Fig. 1 unten, Fig. 14 und 15). Sehen wir von diesen zunächst ab, so haben wir folgende 4 Gruppen gut abgrenzen können: 1) kleinste, $\frac{1}{2}$ —1 μ große Kügelchen mit sehr feinem Kern; 2) 4—6 μ große Körperchen mit allen Uebergängen zu 1; 3) vegetative, kernhaltige und gekammerte Formen; und 4) Dauercysten. Ferner ließ sich feststellen, daß die Zelleinschlüsse und die beweglichen freien Formen dieselbe Struktur haben, ein Unterschied besteht nur insofern, als erstere mehr oval oder eiförmig sind, etwas größer werden (12—14 μ) und eine einfache Kontur haben, die nur bei den Cysten etwas stärker hervortritt.

Um weitere Aufschlüsse über die Entstehung dieser Gebilde zu erhalten, müssen wir uns wieder dem gefärbten Präparat zuwenden. Wir sahen im histologischen Teil, daß in den jüngsten Zellen (Keimschicht) und bei ganz frischer Infektion sich noch keine Einschlüsse in den Zellen fanden und konnten an ihnen nichts Auffälliges feststellen. Die ersten Veränderungen zeigen sich am Kern; wenn Fig. 3 eine normale

Zelle mit Kern und Kernkörperchen darstellt (Fig. 3—10, 13—15 sind nach Altman gefärbt), so zeigt Fig. 4, wie das Kerngerüst zerstört ist und die Kernsubstanz sich um den vergrößerten Nucleolus gruppiert hat. In diesem sieht man häufig ein sehr feines, stark lichtbrechendes, dunkles Körnchen. Fig. 5 zeigt weiter eine Zelle, deren vergrößerter Kern lediglich aus der dünnen Kernmembran und dem stark vergrößerten Nucleolus mit dem beschriebenen Körnchen besteht. Diese eigenartige Bildung scheint bereits Apolant aufgefallen zu sein. Er sagt, daß bei der Färbung nach Benda sich manchmal ein oder mehrere blaugefärbte Punkte in dem braunen Kernkörperchen zeigten (Fig. 19, dann Fig. 37), und deutet dies Verhalten als partielle Nucleolusdegeneration. Hiergegen möchte ich einwenden, daß ich dieses Körnchen, welches sich bei der großen Mehrheit aller jüngeren Tumorzellen nachweisen ließ, gleichgültig welche Fixierung oder Färbung verwendet war, bei anderen Degenerationen (den beschriebenen diphtherischen und Kontrollen durch Verbrennung der Haut) nicht vorfand.

Ferner ist das färberische Verhalten doch recht auffällig. Färbt man mit Hämatoxylin-Eosin, so hebt sich das rosagefärbte Körnchen scharf von der Kernfarbe des Nucleolus ab. Nach Giemsa leuchtet es, meist gar nicht gefärbt, aus dem tiefblauen Nucleolus hervor (Fig. 11 und 12). Auch nach Heidenhain färbt es sich sehr schwer. Verfolgen wir die Zelle weiter in ihrem Wachstum, so wäre anzunehmen, daß sich die partielle Degeneration zu einer vollständigen entwickeln würde. Dies ist jedoch nicht der Fall, sondern bei den etwas älteren Zellen verschwindet das Körnchen sehr häufig und gleichzeitig sehen wir die Plasmadegeneration ihren Anfang nehmen (Fig. 10). Diese doch sehr auffällige Tatsache legt die Annahme nahe, daß das winzige Körnchen die Ursache der Veränderungen des Plasmas ist. Jedoch durchaus nicht in allen Zellen finden wir dieses Verhalten. Ziemlich häufig treffen wir bei schon bestehender Plasmadegeneration noch ein Körnchen im Nucleolus an. Dann sehen wir jedoch, wie es sich vergrößert (Fig. 12), Achterform annimmt, wir finden 2, 3, wohl auch 4 Körnchen in einem Nucleolus, manchmal sieht man auch 2 Kernkörperchen, die je ein Körnchen oder ebenfalls mehrere enthalten (Fig. 6—9). Sehr selten sieht man 2 Kerne in einer Zelle, niemals sah ich Einschlüsse im Plasma auftreten, ohne daß der Kern bereits degeneriert wäre. Lassen wir es vorläufig unentschieden, ob es sich hier um eine spezifische partielle Degeneration des Nucleolus handelt, oder ob ein Keim unseres Parasiten in den Kern eingedrungen ist und, nachdem er dort ein Entwicklungsstadium durchgemacht hat, in das Plasma übertritt. Hier müssen sich nun die Vorgänge sehr schnell abspielen, so daß es nur bei mehr chronisch verlaufenen Fällen gelingt, sie zu verfolgen. Ich sah auch das Körnigwerden, die Tüpfelung und das Zusammenballen des Plasmas, wie Apolant sie beschreibt. Sehr bald verschmelzen alle diese Klümpchen zu einem unregelmäßigen kugeligen Gebilde, ebenso wie die Kernsubstanz sich um den Nucleolus sammelte; die Filarmasse ist fast ganz zerstört (Fig. 10). Bei der Färbung nach Mann tritt nun in der Mitte dieser blauen Plasmamasse ein rotgefärbtes Zentrum auf, das sich schnell vergrößert (cf. auch Apolant, Fig. 19 und 20), während das Plasma mehr und mehr schwindet und zur typischen Kugel, wie sie im II. Teil beschrieben ist, heranwächst, der nur noch Spuren von Plasma anhaften.

Die Einzelheiten dieses Vorganges entziehen sich in der Plasma-

wolke unseren Blicken. Die Kugel erfordert wegen ihrer Bedeutung eine besondere Besprechung; verfolgen wir zunächst ihr weiteres Schicksal. Bei nach Flemming fixierten und nach Altmann gefärbten Präparaten treten an den zuerst rotgefärbten Körperchen schwärzliche Flecke auf, welche auf beginnende Verfettung hindeuten. Ist diese weiter fortgeschritten, so entstehen Lücken in der Wand, die Kugel wird zur Scholle. Gleichzeitig sieht man häufig feinste, schlecht gefärbte, stark lichtbrechende Körnchen erscheinen, die meist in Häufchen zusammenliegen (Fig. 14). Sie sind an der Grenze der Sichtbarkeit, färben sich auch nach Heidenhain sehr schlecht und unterscheiden sich durch ihre gleichmäßige Gestalt und ihr Lichtbrechungsvermögen deutlich, wenn auch nicht sicher, von den in der Zelle vorhandenen Detrituskörnchen. In noch älteren Zellen sind diese Körnchenhaufen wieder verschwunden, man sieht an ihnen nichts weiter, als den völlig degenerierten Kern und eine Scholle in der Form, wie sie Fig. 15 zeigt, oder in allen möglichen anderen, ähnlichen Gestalten. Diese Schollen, die, wie wir sahen, sich auch im ungefärbten Präparat scharf von den übrigen Einschlüssen abheben, unterscheiden sich auch hier durch ihren Fettgehalt, ihre Form- und Strukturlosigkeit wesentlich von ihnen, sie sind als Zerfallsprodukte, als leere Hüllen aufzufassen und interessieren uns hier nicht weiter. In den ältesten Zellen können sie allmählich verschwinden und die Maschen der verdickten Interzellularsubstanz enthalten leere Räume. Zu bemerken ist noch, daß bei rapidem Wachstum oder in älteren Tumoren 80 Proz. und mehr aller Einschlüsse Schollen sein können, man kann also bei oberflächlicher Untersuchung sehr leicht zu der Ueberzeugung kommen, daß man es nur mit Zerfallsprodukten zu tun hat. Kommen wir nochmals auf die Scheiben, von denen wir ausgegangen sind, und auf Bilder wie Fig. 1 zurück, so treten sie ebenso wie die feinen Körnchen erst dann in den Zellen auf, wenn die Kugeln zerfallen sind, also bei völlig degeneriertem Zellinhalt, ein Umstand, der ebenfalls sehr für ihre parasitäre Natur spricht, und ferner einen Beweis bildet, daß auch ihr Ursprung, die Kugel, ein Fremdkörper sein muß. Es ist also hervorzuheben, daß wir hier anscheinend zwei Generationen von Parasiten in einer Zelle sich entwickeln sehen. Ob sich diese Scheiben erst aus den feinen Körnchen entwickeln oder ob letztere aus den Zellen auswandern, läßt sich nur am lebenden Objekt feststellen. In seltenen Fällen kommt es vor, daß 2—3 Kugeln in einer Zelle heranwachsen oder daß neben einer Kugel eine größere Scheibe oder Cyste sich findet. Schließlich ist noch ein eigenartiger Prozeß zu erwähnen, welcher sich in älteren degenerierten Zellen abspielt. Wie wir sahen, bestehen sie aus der Kernmembran und dem stark vergrößerten Nucleolus meist ohne Körnchen, an dessen Stelle oft eine Lücke zurückgeblieben ist. Während die Kerne nun gewöhnlich bis zur völligen Formlosigkeit weiter degenerieren, treten in einzelnen von ihnen nach Giemsa violettgefärbte Körnchen auf, welche sich durch diese Färbung von den blaugefärbten Chromatinkörnchen und den ungefärbten im Nucleolus unterscheiden. Es können sich 20 und mehr entwickeln, so daß der ganze Kern mit ihnen angefüllt ist, wie das Fig. 83 andeutet (vergl. Apolant, Fig. 13). Man hat den Eindruck, als ob sich hier neues Leben in den Kernruinen entwickelte; eine Deutung dieses Prozesses ist vorläufig nicht möglich. Dieselben violetten Körnchen, welche Kokkengröße nicht überschreiten, kommen auch im Plasma vor, es sind die oben unter „Bendasche Körperchen“ aufge-

fürten Gebilde. Sie sind die einzigen Einschlüsse, welche nach Giemsa den Kernfarbstoff annehmen und sich dadurch scharf von den Scheiben unterscheiden.

Eine ähnliche Auffassung von den Vorgängen in den Tumorzellen hat Pfeiffer. Er ist ebenfalls der Ansicht, daß das Auftreten kleiner runder Scheiben „innerhalb der Epithelzellen gekörnt, außerhalb oft hyalin mit Körnerandeutung“ „neben dem größeren Fremdling“ „für die Vermehrung der Parasiten aus dem Cystenstand“ spreche und erinnert an ähnliche Befunde Neissers beim *Molluscum contagiosum*. Auch Csokor spricht von großen, glänzenden Kugeln, welche manchmal platzen und deren Inhalt dann nicht mehr wahrnehmbar sein soll, während die leere, dicke Hülle dem Balg einer ausgequetschten Traubenbeere gleiche. Apolant dagegen, welcher, wie schon bemerkt, ganz auf dem Boden der Degenerationstheorie steht, erwähnt über die Entstehung der Scheiben nichts. Eine Unterscheidung der Kugeln von den doch so charakteristischen Schollen sucht man bei ihm vergebens, er hat anscheinend keinen Versuch gemacht, sich seine Degenerationsprodukte im ungefärbten Zustande anzusehen, es dürfte daher nicht auffällig sein, wenn er zu einer anderen Anschauung gekommen ist.

Immerhin bedarf es für die parasitäre Auffassung des wichtigsten Einschlusses, der Kugel, weiterer Beweise. Wir konnten an ihr am ungefärbten Präparat drei Formen, die segmentierte, die fein granuliert und die Cystenform unterscheiden. Sehen wir uns nun im gefärbten Präparat nach ihnen um, so ist zunächst zu konstatieren, daß hier von einer Struktur sehr wenig zu sehen ist, indessen läßt sich die Segmentierung feststellen. Bei Färbung nach Altmann heben sich die kleinen Felder heller von den Zwischenräumen ab (Fig. 13), am deutlichsten sieht man sie bei der überhaupt sehr scharf zeichnenden Färbung nach Heidenhain, die Septen sind hier schwarz, die Felder nur schwach gefärbt. Apolant erwähnt sie ebenfalls (Fig. 2, 3, 5, 7) und konstatiert eine entfernte Ähnlichkeit mit Sporencysten. Auf der Naturforscherversammlung in Braunschweig (1897) hat Benda auf diese Bildung aufmerksam gemacht und hat sich auf Grund derselben für die Protozoennatur (möglicherweise Amöben) der Einschlüsse ausgesprochen; ebenso Ziegler und Stroebe, letzterer sprach sie als Sporozoen in Sporulation an. Außer in den Tumorzellen begegnen wir diesen Körperchen in denen der Schleimhaut und des Knorpels. Diese höchst eigenartige Knorpelinfektion legte den Gedanken nahe, ob nicht auch andere bindegewebige Zellen ähnliche spezifische Veränderungen zeigen würden. In der Tat fand ich in dem tödlich verlaufenen Falle im lockeren Gewebe des Augenlides dicht am gewucherten Epithel eine Menge von eigentümlichen großen Zellen, wie sie Fig. 47, 48, 50, 51 darstellen, während Fig. 49 eine Zelle aus der Conjunctiva zeigt, welche sich in nichts von den nebenstehenden Figuren unterscheidet. Sie zeigen einen lang ausgezogenen Kern, schlecht gefärbt, manchmal nur noch einige Chromatinschollen enthaltend, oder mit ähnlichem Nucleolus wie Fig. 4. Die kleineren (8—10 μ) zeigen ein grauviolettes Plasma (Fig. 47), die größeren haben nur noch einen Saum von diesem Plasma, das Zentrum hebt sich, rotgefärbt, scharf ab. Fig. 50 zeigt die hier in Frage kommende netzförmige Struktur, die Maschen sind bläulich gefärbt, die Zwischenräume schwach rosa. Weiter findet man ebenso wie bei den Scheiben solche Formen auch frei, nicht in Zellen eingeschlossen, und zwar intercellulär in der Schleimhaut und in den cystischen Hohlräumen,

welche den „Pockenhöhlen“ entsprechen, sowie im Bindegewebe. Sie sind meist klein, 3–6 μ groß, nach Mann sind die Felder der größeren rötlich gefärbt. Fig. 58–60 zeigen ganz dieselben Körperchen in Epithelzellen der Conjunctiva eingeschlossen, während Fig. 57 eine der großen oben erwähnten, flaschenförmig aufgetriebenen Conjunctivazellen darstellt, welche die Größe von 30 μ und mehr erreichen. Im Bindegewebe finden sich auch eigenartige größere Formen (8–10 μ ; Fig. 52 bis 56) von ovoider Gestalt, welche den Fig. 47–51 entsprechen. Ich sah sie nur selten bei dem tödlichen und einem anderen schweren Falle dann, wenn alle umliegenden bindegewebigen Zellen bereits degeneriert oder mit Einschlüssen versehen waren. Fig. 52 und 55 zeigen dieselbe netzförmige Struktur. Sie haben nicht selten einen blaugefärbten Kern, dessen Nucleolus ebenso wie das Körnchen Fig. 4 und 16 lichtbrechend ist und sich schwer färbt. Dieselbe Struktur zeigen die unter Fig. 10 von Pfeiffer abgebildeten Zellen. Die zweite Gruppe von Einschlüssen, die mit feinen, schwach lichtbrechenden Granulationen, weisen diese Körnung auch nach Heidenhain auf, entfärben sich aber ziemlich leicht, nach Giemsa erscheinen sie fast homogen, sich rosafärbend. Sie finden sich häufig in den Tumorzellen, in der Schleimhaut (Fig. 49), im Knorpel, in den großen Bindegewebszellen (Fig. 48) und selten frei (Fig. 53 und 54).

All diese Körperchen sind 10–14 μ groß. Von kleineren Formen kommen hier nur Bildungen in Betracht, wie sie Fig. 65 und 66 zeigen, und wie sie ähnlich Pfeiffer als „jüngste amöboide Form des Parasiten“ abbildet. Es sind dies 2–5 μ große Gebilde mit homogenem, nach Giemsa schwach graublau gefärbtem Plasma und einem oder mehreren ganz unregelmäßig gelagerten Kernen. Sie sind dadurch auffällig, daß sie zwischen den Tumorzellen und in den Knorpelhöhlen sich finden, während sie im Bindegewebe leicht mit Kerntrümmern verwechselt werden können.

Schließlich kommen die als Cysten bezeichneten Gebilde in Betracht, deren Größe etwa 8 μ beträgt. Sie finden sich seltener im Tumorgewebe, häufiger dagegen in der Conjunctiva und im Knorpel. Auch in den großen Bindegewebszellen sieht man wie Fig. 51 das andeutet, bei Giemsa-Färbung schwach rötlich gefärbt, rundliche sehr kleine Körnchen den Zelleinbruch ausfüllen. Fig. 56 zeigt eine freie Cyste, wie man sie im hämorrhagisch infiltrierten Augentide in schweren Fällen antreffen kann. Ob diese Endstadien der Scheiben oder der Körperchen Fig. 53 und 54 sind, läßt sich nicht entscheiden, jedenfalls entsprechen sie den Bildungen, wie wir sie unter Fig. 21 beschrieben haben. Auch in der Cornea findet man Zellen, wie sie Fig. 47–51 zeigen.

Fassen wir unsere bisherigen Ausführungen nochmals zusammen, so konnten wir feststellen, daß sämtliche Einschlüsse, die Scheiben und Cysten sowohl wie auch die verschiedenen Formen der Kugeln sich nachweisen ließen in den Tumorzellen der Haut, in denen der Schleimhaut, im Knorpel, in den großen Bindegewebszellen, in der Cornea, in der verdickten Interzellulärsubstanz, in den cystischen Hohlräumen und schließlich im hämorrhagisch infiltrierten Bindegewebe. Hierdurch ist klar erwiesen, daß es sich nicht um Produkte irgendwelcher Degeneration der erkrankten Zellen, sondern um selbständige Bildungen, um Parasiten, um die Erreger der Krankheit handeln muß.

Weiter müssen wir noch auf einige auffällige Bildungen eingehen, welche sich im Bindegewebe finden.

Es sind dies zunächst die bereits früher erwähnten Körnerzellen,

wie sie Fig. 28—32 nach Giemsa gefärbt uns zeigen. Wir sehen hier Zellen mit verschiedenen gestalteten blauen Kernen, deren Plasma angefüllt ist mit lichtbrechenden, länglichen Körnchen in wechselnder Anzahl, 20 und mehr, die intensiv rot gefärbt sind. Betrachten wir die Kerne dieser Zellen genauer, so läßt sich eine große Aehnlichkeit zwischen ihnen und den benachbarten bindegewebigen Kernen feststellen (Fig. 28, 29). Forschen wir weiter nach der Entstehung dieser auffälligen Zellen, so ergibt sich folgendes Bild: Fig. 34 stellt eine normale sternförmige Bindegewebszelle dar. Man kann nun nicht selten beobachten, wie sie ihre Fortsätze verliert und sich in eine stark gefärbte unregelmäßige Kugel umwandelt (Fig. 35). Weiterhin erscheint neben der Kugel eine intensiv rot gefärbte homogene Plasmamasse, die sich scharf von der schwach gefärbten Umgebung abhebt (Fig. 36). Diese Masse vergrößert sich, bekommt eine feine Körnung (Fig. 37), die allmählich deutlicher wird, bis schließlich die typische Körnerzelle entstanden ist (Fig. 38), der blaue Kern degeneriert und die roten Körnchen werden frei. Derselbe Vorgang läßt sich bei anderen bindegewebigen Zellen ebenfalls beobachten. Am interessantesten ist er am Knorpel. Fig. 39 zeigt eine normale, in einer Höhlung der schwach gefärbten Grundsubstanz liegende Knorpelzelle, ihre Ausläufer in die Kanälchen weit vorstreckend. In Fig. 40 hat sie dieselben verloren. Der Kern ist abgerundet und stark gefärbt. Weiterhin ist dann ihre Umbildung in die Körnerzelle dieselbe wie oben beschrieben. Fig. 41 zeigt neben mehreren Knorpelzellen in einer Höhle eine bereits geplatze Körnerzelle, deren Körnchen zum Teil in den Knorpelkanälen liegen. Das genaue Studium dieser Knorpelveränderungen ist außerordentlich instruktiv.

Von größtem Interesse sind weiter die Gefäßveränderungen. Fig. 44 zeigt eine große Vene, deren Endothel verloren gegangen ist. Ihre bindegewebigen Zellen sind zum großen Teil ebenfalls verschwunden, zum Teil in Körnerzellen umgewandelt, auch sieht man einzelne Häufchen von Körnern frei im Gewebe liegen. Die Blutkörperchen — die einzigen normalen Gebilde in der ganzen Figur — treten ungehindert durch die völlig degenerierte Gefäßwand hindurch. Die Entstehung der häufigen kleineren und größeren Hämorrhagien erklärt sich ohne weiteres. Fig. 45 veranschaulicht eine ihrer Zellen beraubte Kapillare, angefüllt mit Körnern. Vergleicht man weiterhin die Kerne von Fig. 30, 31, 32, so ergibt sich eine große Aehnlichkeit mit denen des polynukleären Leukocyten (Fig. 33). Es liegt daher die Annahme nahe, daß auch diese in Körnerzellen umgewandelt werden, sie wird noch gestützt durch das häufige Vorkommen solcher Zellen, im adenoiden Schleimhautgewebe und in den kavernen Venen des Hühnerkammes, wo wir ihnen zuerst begegnen. Fig. 42 und 43 zeigen Körnerzellen, welche keinerlei Kern erkennen lassen.

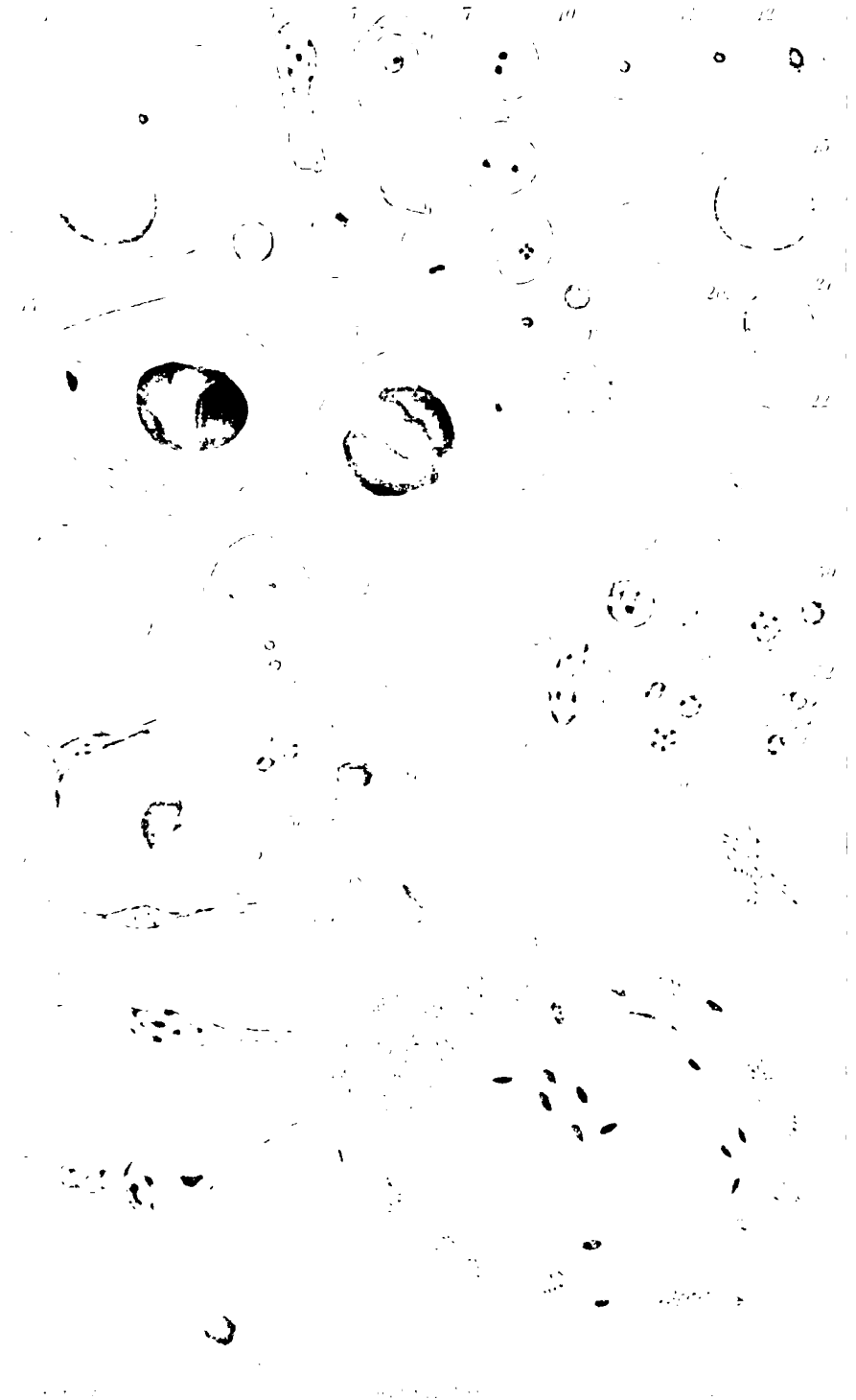
Sehen wir uns die Form dieser Körner genauer an, so läßt sich folgendes feststellen. Ihre Größe schwankt zwischen $\frac{1}{2}$ —3 μ Länge, ihre größte Breite beträgt $\frac{1}{2}$ μ . Ihre Form ist keine gleichmäßige, die kleinsten sind einfach stäbchenförmig, andere sind sichelförmig oder spindel-, komma- oder Pfeilspitzenförmig (Fig. 78). Die kleinsten lassen keinerlei Struktur erkennen, die größten haben etwa in der Mitte ein glänzendes ungefärbtes Körnchen. Nach Heidenhain färben sie sich schwarz, nach Biondi rot, das Kernkörnchen bleibt auch hier meist ungefärbt. Manche der Körner zeigen indessen auch ovoide Form, und es kommen auch Körnerzellen vor, die nur runde Körner enthalten

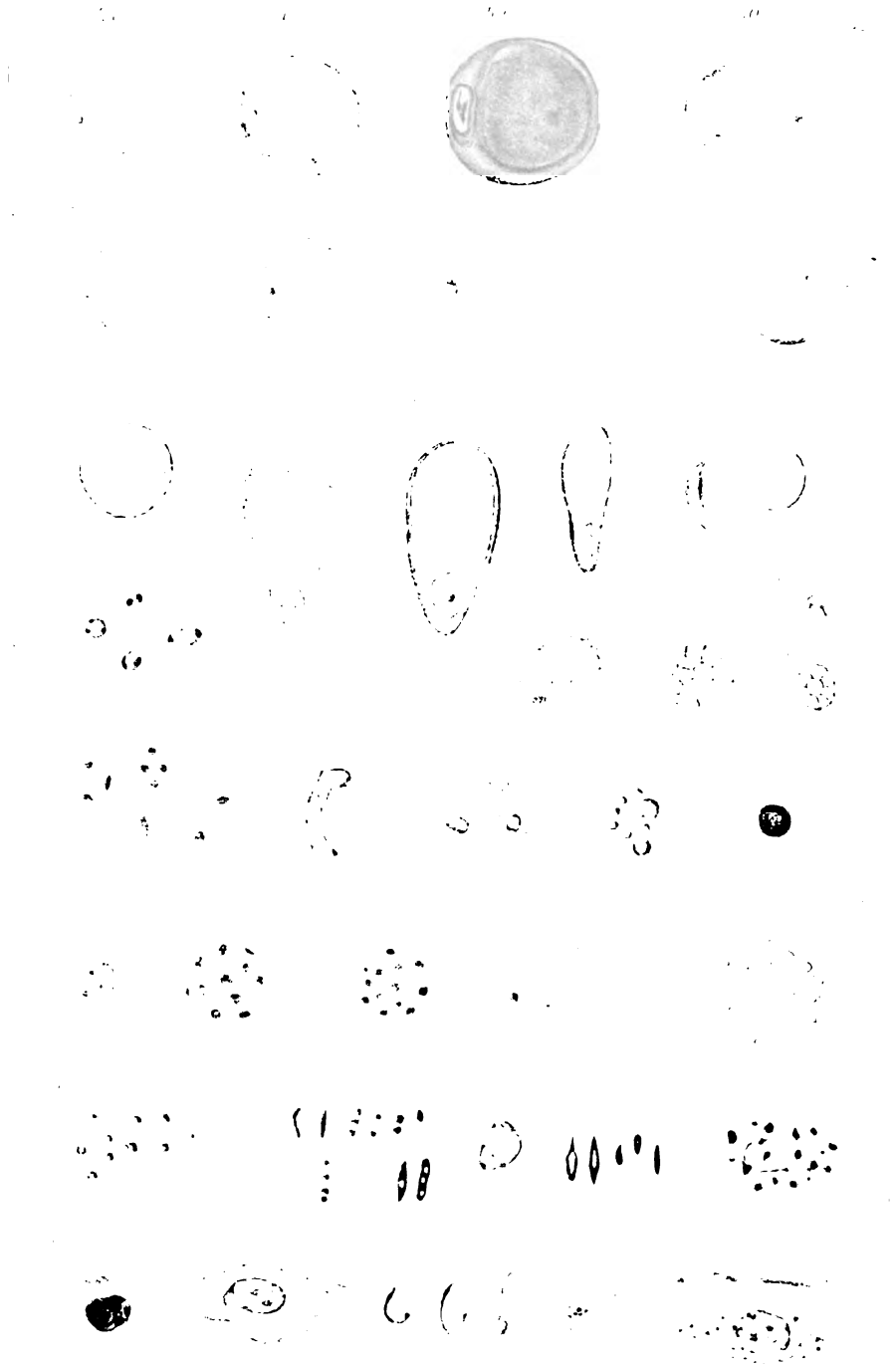
(Fig. 67 und 68). Auch diese haben in der Mitte ein meist ungefärbtes Kernkörnchen, daß beim Drehen der Mikrometerschraube dunkel aufleuchtet. In manchen Körnerhaufen, deren blauer Kern bereits verschwunden ist, sieht man größere Exemplare (Fig. 69), sie sind nach Mann rot gefärbt, enthalten keine Kernkörnchen mehr und haben einen feinen blauen Saum ebenso wie die Scheiben (Fig. 2 und 64). Erinnern wir uns ferner, daß die kleinsten Scheiben im hängenden Tropfen ein lichtbrechendes Kernkörnchen enthielten (Fig. 16), welches später ebenfalls verschwand (Fig. 17), so erscheint es wahrscheinlich, daß die im Bindegewebe sich findenden Scheiben aus diesen Körnerzellen ihren Ursprung nehmen. Auch im Ausstrichpräparat mit Tumormassen findet man sie nicht selten; sie sind hier blau gefärbt, das Kernkörnchen rot (Fig. 76), differenziert man mit schwacher Essigsäure, so tritt ebenfalls die Färbung wie bei Fig. 68 ein. Im übrigen muß hervorgehoben werden, daß sich in Ausstrichen fast alle diese Körperchen sehr schlecht färben.

Werfen wir einen Blick auf die Fundstätten dieser Körnerzellen, so trifft man sie am häufigsten im Bindegewebe. Ich sah sie hier in Mengen in einigen schweren Fällen, namentlich bei dem tödlich verlaufenen, manchmal zu Hunderten frei im Gesichtsfelde. In Querschnitten durch das Augenlid sah man fast keine normale Zelle mehr, sowohl im Epithel wie im Bindegewebe. Die Gefäße waren fast sämtlich hochgradig verändert (Fig. 44) und das ganze Augenlid hämorrhagisch durchtränkt; es leuchtet ein, daß die Parasiten sich hier ausgezeichnete Existenzbedingungen geschaffen hatten. Fast völlig fehlte die entzündliche Infiltration und die Leukocytenwanderung. Wo diese Erscheinungen wie in den chronischen Fällen ausgesprochen sind, fehlen die Körnerzellen völlig, oder sind doch nur vereinzelt namentlich in der Nähe der Schleimhaut nachweisbar. Die entzündliche Reaktion des Bindegewebes bildet also bei mäßiger Virulenz des Erregers einen Wall gegen das weitere Vordringen der Infektion, während es bei starker Virulenz der Infektion selbst anheimfällt. Bei dem gestorbenen Tier, welches nur am linken Augenlid geimpft war, fanden sich auch an Hautstellen, die am Schnabel und am rechten Augenlid entnommen waren, die Zellen der Cutis in großer Anzahl in Körnerzellen umgewandelt. Dieser Prozeß (Fig. 41) bildet den Beginn der Knorpelinfektion, es folgt eine Vermehrung der Knorpelzellen mit Erweiterung der Höhlungen, gleichzeitig treten Zellen auf, wie Fig. 65 und 66 sie zeigen, und schließlich wird, wie bereits beschrieben, der Knorpel in typisches Tumorgewebe umgestaltet.

Dieselben runden Körnerzellen wie im Bindegewebe, fand ich bei Serienschnitten nach Biondi auch im Blut (Fig. 75), indessen nur selten und in mehr chronischen Fällen. Manchmal sieht man Häufchen, in denen (4—8) blaue Körnchen liegen. Weiter finden sich Zellen, die nur aus blauen Körnchen und einer sehr zarten Zwischensubstanz bestehen. Ob sie den Ursprung der Körnchen bilden und ob sie andererseits aus Zellen, wie sie Fig. 70 und 71 darstellen, hervorgehen, erscheint möglich, indessen findet man ganz ähnliche Zellen auch im entzündeten Bindegewebe, und die analogen Gebilde, die man im hängenden Tropfen findet (Fig. 73), haben nicht den typischen grünlichen Glanz. Im allgemeinen habe ich sowohl im frischen wie im gefärbten Blut trotz eifrigem Suchens selten positive Resultate erzielt.

Schließlich sind noch einige wegen ihrer Färbung auffällige Zellen, wie sie im Infiltrat häufig vorkommen, zu erwähnen (Fig. 80, 81, 84). Der Zellkern (Fig. 80) entspricht in seiner Struktur ganz dem der ge-





wöhnlichen Rundzellen (Fig. 79), ist aber nach Giemsa, nicht wie diese, blau, sondern intensiv rotviolett gefärbt, in einem ähnlichen Farbton färben sich häufig auch die zunächst gelegenen Bindegewebsfibrillen (auch beim Knorpel kommt dies vor), so daß die Zellen wie in einer Art Kapsel liegen. Der Kern vergrößert sich weiterhin (Fig. 81) und schließlich erscheint das Plasma gefüllt mit violetten feinen Körnchen (Fig. 84). Ob es sich hier um basophile Körnungen oder um einen ähnlichen Prozeß handelt, wie wir ihn oben beim Kern sich abspielen sehen (Fig. 83), läßt sich nicht entscheiden, jedenfalls sind diese Bildungen, welche sich schon bei schwacher Vergrößerung scharf von der Umgebung abheben, sehr auffällig. Manchmal zeigt der violette Kern keine Struktur, sondern ist ganz homogen und scheint ein einfaches Bläschen darzustellen. Fig. 85 endlich zeigt einen größeren vakuolisierten Kern mit etwas größeren Körnchen, er stammt aus einer Gefäßwand.

Es fragte sich nun, wie sich diese Körnchen im lebenden Zustande verhalten würden. Da sie sehr bakterienähnlich sind, ist hier Vorsicht geboten, am besten verfährt man so, daß man subkutan impft, und einen mittels Einstichs entnommenen Tropfen Gewebssaft untersucht, oder jüngere Tumoren, welche noch keine Drüsen tragen. Hier finden sich, wie ich in meinen Schnitten tausendfach feststellen konnte, noch keine Bakterien, die in älteren Tumoren, welche sezernieren, natürlich reichlich vorhanden sind. Vergleichsweise kann man namentlich für die Untersuchung der größeren Formen auch Affektionen der Mundhöhle, der Cella und des Gehörgangs heranziehen. In der Mundhöhle fand ich die Pfeifferschen Flagellaten, im Gehörgang die Blastomyceten von Sanfelice, beide haben entschieden Aehnlichkeit mit den Gebilden Fig. 17—21; ihre Verwechslung ist also erklärlich. Die hier in Frage kommenden Körnchen finden sich, allerdings nur spärlich, auch im Blut. Untersucht man also unter obigen Kautelen entnommenen Gewebssaft, so findet man darin unter Umständen die geschilderten Körnchen in Menge vor. Die kleinsten sind wenige Zehntel Mikra groß, oval, lichtbrechend ohne Differenzierung in Kern und Plasma. Sie haben eine lebhafte tanzende Bewegung, die auf Zusatz von Sublimat oder Alkohol sehr bald aufhört, und zwar möchte ich sie vergleichen mit der Bewegung, welche von Siegel für seine beweglichen Körperchen gegeben ist. Sie vollzieht sich unter fortwährenden Oscillationen in kleinen Schleifen oder kreisförmigen Bahnen, ohne daß die Körnchen dabei wesentlich ihren Platz im Gesichtsfeld ändern. Ob sie einen beweglichen Fortsatz haben, läßt sich bei der Kleinheit der Gebilde nicht sicher entscheiden. Weiterhin sieht man auch Stäbchen, welche bipolar lichtbrechende Körnchen enthalten; manche haben 3 oder 4 Körnchen (Fig. 77). Ferner sieht man auch die spindelförmigen Körnchen. Diese führen neben tanzender und wackelnder Ortsbewegung eigenartige Gestaltsveränderungen aus, und zwar Abknickungen, Verbiegungen und ziemlich schnell ablaufende Wellenbewegungen, wie sie ähnlich von den Sporozoen, der Coccidien und Hämosporidien ausgeführt werden. Ob unsere Körnchen auch dieselbe Bedeutung haben, muß die Zukunft lehren. Andere größere (4 bis 6 μ), mit eigenartigen Anschwellungen, zeigen direkt wurmartige Krümmungen (Fig. 42). Im Zupfpräparat sieht man manchmal im Gewebe Häufchen sehr feiner Körnchen liegen, welche auch ohne Abblendung durch ihre braunschwarze Eigenfarbe sich sehr scharf abheben (Fig. 46). Sie kriechen äußerst langsam, aber kontinuierlich im Gewebe weiter und zerstreuen sich nach allen Richtungen.

Uebersehen wir das in diesem Abschnitte Gesagte, so konnten wir hier den Nachweis erbringen für die oben aufgestellte Behauptung, daß im Bindegewebe und zwar in fast allen zelligen Elementen desselben (daß auch der Knochen spezifisch erkrankt, erscheint wahrscheinlich cf. Pfeiffer, Vale u. A.), sowie intercellulär in den Lymphspalten und im hämorrhagisch infiltrierten Gewebe eine Entwicklung und oft enorme Vermehrung unseres Parasiten stattfindet, welche neben der Entwicklung im Epithel hergeht; letzteres zeigt die größere Empfänglichkeit. Weiter gelang es, Keime unseres Parasiten festzustellen, welche wegen ihrer außerordentlichen Kleinheit ($1\ \mu$ und kleiner) wohl zweifellos Berkefeld-Filter passieren können. Wir fanden zwei Arten von ihnen, feinste Körnchen, schlecht färbbar in den Cysten, und Körner, nach Giemsa rot gefärbt, die sich meist in bindegewebigen Elementen entwickelten. Die Infektion der Leukocyten kann von Wichtigkeit sein für das Zustandekommen der Infektion neuer Wirte, für die Verbreitung im Körper, für die Entstehung der Immunität und der Sekundärinfektionen.

Weitere objektive Feststellungen, welche über die Natur des Erregers hätten sichere Auskunft geben können, gelangen bisher nicht wegen der Schwierigkeit der Beobachtung des lebenden Objektes, der schlechten Färbbarkeit und der Kleinheit der in Betracht kommenden Formen. Kombinationen und Deutungen an die vorstehenden, mit möglichster Sorgfalt zusammengestellten Beobachtungen anzuknüpfen, halte ich für zwecklos. Der Zweck meiner Ausführungen war vorläufig lediglich der, nachzuweisen, daß wir hier Zelleinschlüsse haben, welche als Parasiten gedeutet werden müssen, ein Umstand, der bei der nahen Verwandtschaft der Vogelpocken zu den übrigen Pockenkrankheiten von Wichtigkeit ist.

Werfen wir zum Schluß noch einen Blick auf die über den Erreger der anderen Pockenarten vorliegenden Untersuchungen. Nicht in Betracht kommen dabei diejenigen, welche sich mit Bakterien und mit den Guarnierischen Hornhautimpfungen beschäftigen, sondern nur die, welche ähnlich wie van der Loeff und namentlich wie Pfeiffer (1887) vorgegangen sind und den Erreger unter den Protozoen suchen. Schon der „*Monocystis epithelialis*“ Pfeiffers, der „Sporen in beträchtlicher Menge“ bildet, die von Mikrokokken nicht zu differenzieren sind und welche zu „diaphanen Blutkörperchen ähnlichen Scheiben auswachsen“, durch dessen Wachstum die Epithelzellen „aufgetrieben und unförmlich werden, bis schließlich von ihnen nur eine saumartige Umhüllung bleibt,“ zeigt eine unverkennbare Aehnlichkeit mit unseren Parasiten.

Doehle fand (1892) $\frac{1}{2}$ — $1\ \mu$ große Kügelchen mit stark lichtbrechendem, fettropfenähnlichem Kern und schmalem, mattem Saum, mit tanzender und fortschreitender Bewegung im Blut und im Pustelinhalt, ebenso feinste Körperchen, die dem Kern der beschriebenen entsprachen, ferner größere kugelige Formen. Im Inhalt von Variolapusteln konnten Piana und Galli-Valerio (1894) kugelige hyaline Körperchen, ferner kugelige Gebilde mit Kern und zart granuliertem Protoplasma und mehreren lichtbrechenden Körnchen feststellen, ferner solche, die eine deutliche Kapsel hatten. Auch Monti (1894) konnte die kugeligen Gebilde in den Epithelzellen der Haut feststellen.

Bei Variolakranken wie im Pustelinhalt konnte Weber (1896) $1,8\ \mu$ große kugelige, stark lichtbrechende grünliche Körperchen mit Rotations- und manchmal auch mit Progressivbewegung nachweisen. Dann fand

er 7μ große Kugeln, die sich sehr schlecht färbten und deren Inhalt aus solchen Körnchen bestand. Er bezeichnete sie mit dem schönen und nach mancher Richtung hin recht passenden Namen „Sirenenkörperchen“. Ebenfalls bei Variolakranken, ferner bei geimpften Kindern und Affen fand Sternberg (1897) spärliche bewegliche Körperchen, $\frac{1}{3}$ so groß wie rote Blutkörperchen. Diese Untersuchungen sind von Reed (1897) weiter ausgeführt worden, er konnte ähnliche Befunde erheben wie L. Pfeiffer.

Spezifische Veränderungen des Bindegewebes erwähnt zuerst Hückel (1898). Er beschreibt genau, wie die normal sehr feinen, fast strichförmigen Kerne der fixen Hornhautzellen sich vergrößern, aufquellen, wie das Cytoplasma sich vermehrt, die Spalten, in denen die Zellen liegen, sich erweitern und die Wandung der Höhle sich mit Säurefuchsin stark färbt. Und nicht eben selten fand er dann neben dem Kern ein oder mehrere typische Körperchen „mit allen ihren Attributen“. Er hält es nicht für nötig, ein Wort darüber zu verlieren, wie seine „dissociierende und chemisch verändernd wirkende Giftkomponente“ diese völlig gleiche spezifische Degeneration zweier genetisch, funktionell und morphologisch so absolut verschiedener Zellen herbeiführen soll. Er untersuchte 24 000 Corneaschnitte, hielt es aber nicht für angebracht, sich davon zu überzeugen, wie diese Verhältnisse im eigentlichen Sitz der Pocke, in der Haut liegen. Einen Beweis für seine Degenerationstheorie hat Hückel, wie auch v. Wasielewski bemerkt, nicht erbracht.

Roger und Weil (1900) fanden im Eiter von Pockenpusteln zwischen und in Leukocyten kleine $1,7 \mu$ messende runde oder ovale Körnchen, ferner auch im Blut, namentlich bei der hämorrhagischen Form.

Von Funck sind (1901) für Vaccine und Variola Körperchen genauer beschrieben worden, die sich in den Epitheleinschlüssen (seinen „Cysten“) entwickeln sollen, später aus diesen austreten und dann als $1-10 \mu$ große, lichtbrechende, glänzend grüne Kugeln, mit deutlicher Bewegung sich zahlreich im Pustelinhalt und in der Lymphe finden. Er nennt sie „Sporen“. Einen Monat lang eingetrocknet, erhielten sie sich vollständig unverändert, in Ausstrichen färbten sie sich mit Methylenblau nicht, hoben sich jedoch als runde lichte Stellen von der Umgebung ab. Dombrowski fand (1902) im Pustelinhalt feine runde dunkle Körnchen, meist mit hellem Saum, in steter rascher Pendel- und außerdem in langsamer progressiver Bewegung, ferner größere, regelmäßig geformte Kugeln auch in Abscessen und im Blut.

De Korte (1902) fand im Pustelinhalt runde Körperchen, die in ihrem Inneren Sporen enthielten und sich in Ausstrichen schwer demonstrieren ließen. Er hielt sie für Sporozoen.

In einer sehr sorgfältigen Arbeit hat Ishigami (1902) den Entwicklungsgang seines Pockenparasiten genau beschrieben, welchen er in frischer Lymphe, in den 2—5-fach vergrößerten Epithelzellen der Haut zwischen diesen Zellen, im Blut und auch in den Lymphspalten der inneren Organe nachweisen konnte. Der erwachsene Parasit, etwa 20μ groß, war glänzend, gelblich grün, hatte einen Kern und ein fein granuliertes Plasma. Weiter unterscheidet er Cysten von etwa 15μ Größe mit fein gefaseter, bei den extracellulär liegenden etwas dickeren Wand, gefüllt mit 50 und mehr feinen grünlich glänzenden Körnern, die er sich durch fortgesetzte Kernteilung aus der ersten Form entstanden denkt. Er fand sie in $1\frac{1}{2}$ Jahre eingetrockneten Krusten unverändert. Untersuchte er diese in einem Wärmeschrank im hängenden Tropfen, so

konnte er beobachten, wie sich diese runden Körnchen in die Länge streckten, es trat dann an einem Ende wie aus einer Kapsel ein feiner kommaförmiger Fortsatz heraus, mit dem sie sich schwingend fortbewegten. Diese beweglichen Sporozysten, 0,3—4 μ groß, hatten Stäbchen-, Sichel-, Halbmond- oder Spindelform. Sie entwickeln sich zu ovalen oder runden grünlich glänzenden Körperchen, etwa 8 μ groß, homogen, die freiliegenden haben eine dünne Hülle, aus ihnen entstehen dann wieder die erwachsenen Parasiten, welche er als Sporozysten anspricht und mit dem *Microsporidium bombycis* vergleicht. Ferner fanden Thomson und Brownlee (1903) im Blut stark lichtbrechende sphärische Kugeln von 1—5 μ Größe, dann in Schnitten durch Pusteln häufig Hämorrhagien in der Cutis, in diesen, sowie in den Lymphräumen und in den kleinsten Blutgefäßen runde Körperchen, größer als Kokken, die sich nach Biondi rot färbten, dieselben fanden sich auch in den Zellen. Weiter folgt das amerikanische Sammelwerk von Councilman (1904), an dem acht Autoren, Vertreter der verschiedenen in Frage kommenden Disziplinen, mitgearbeitet haben. Sie halten die Einschlüsse bei Variola und Vaccine einstimmig für Parasiten und stellten einen Entwicklungskreis auf, welcher demjenigen der Coccidien entspricht. Die Vermehrung erfolgt bei der Vaccine nur durch Schizogonie, während bei der Variola eine sexuelle Differenzierung angenommen wird. (Die Arbeit stand mir leider im Original nicht zur Verfügung.)

Spezifische Veränderungen des Bindegewebes haben bei der Ovine, Vaccine und Variola geschildert Morel und Vallée, Borrel und Bosc, letzterer ein eifriger Vorkämpfer der parasitären Theorie. Sie schildern in den „cellules claveleuses“, den „grandes cellules vaccinales und varioliques“ unseren großen Bindegewebszellen ähnliche Gebilde. Borrel hält sie für große Makrophagen, und ihre Einschlüsse für eingedrungene Leukocyten, welche von den ersteren verdaut werden; ganz ähnlich deutet er die Einschlüsse in den Epithelzellen. Diese Leukocytenhypothese, welche zuerst Salmon (ebenfalls Institut Pasteur, Metschnikoff) aufgestellt hat, ist von den Nachuntersuchern wohl einstimmig abgelehnt worden. In der Tat ist die Vorstellung, daß die Leukocyten sich gewohnheitsmäßig gegenseitig verzehren sollen, oder daß das Wesen des Pockenexanthems darauf beruhe, daß in jede der Millionen von erkrankten Epithelzellen ein Leukocyt eindringt, um darin zu degenerieren, wohl nicht jedermanns Sache. Borrel beschreibt ausführlich die Vermehrung des Virus im subkutanen Gewebe und die sterile Gewinnung des claveau, dieser serösen Flüssigkeit, welche in 20000-facher Verdünnung noch virulent war. Uebrigens ist schon 1877 von Chauveau die Vaccination mit vollem Erfolg durch subkutane Impfung ohne jede Beteiligung des Epithels ausgeführt worden. Auch Borrel fand feine Körnchen im Plasma von Makrophagen und außerdem massenhaft im subserösen Bindegewebe und beschreibt sie ausführlich. Er hält sie für Bakterien oder für allerdings sehr feine Mastzellgranula und sagt weiter: „Man müßte in diesem Falle annehmen, daß mit Granulationen vollgestopfte Zellen, zu klein, als daß sie bisher beschrieben wären, sich nach Art von Klammatocyten entwickelten und in das ödematöse Gewebe sehr lange und sehr feine Fortsätze aussendeten. Sie würden dann im interstitiellen Gewebe die in Frage kommenden Körnchen zurücklassen, welche sehr feine Mikroben vortäuschen, um die Bakteriologen irrezuführen.“

Bonhoff (1905) sah im Pustelinhalt sehr zahlreiche bewegliche

Körnchen von 1μ Länge und $\frac{1}{3} \mu$ Breite; die meisten hatten Kommaform, andere waren S-förmig oder sahen aus wie „Spirochäten“¹⁾, $2,5 \mu$ lang, sie hatten auffällige Bewegungen, „ein eigenartiges Zusammenschnellen und Verlängern des Körpers mit starkem Verbrauch an Energie ohne entsprechende Fortbewegung“. Einige interessante Befunde konnte er feststellen, wenn er kleine Schwämmchen mit Lymphe in eine Hauttasche von Kaninchenohren einnähte, so fand er nach 4 Tagen in dem bisher klaren Inhalt eine Menge äußerst feiner Körnchen, die sich im Laufe der nächsten Tage zu $3-12 \mu$ großen schwach färbbaren Gebilden mit wabigem Bau entwickelten. Etwa am 8. Tage verschwanden diese, dann aber zeigten sich die zahlreich vorhandenen Leukocyten „eigentümlich verändert“ und es traten Bakterien in großer Zahl auf, die vorher gefehlt hatten. Impfungen mit diesem Schwämmcheninhalt waren erst dann positiv, wenn die wabigen Körperchen verschwunden und Bakterien aufgetreten waren; ähnliche Erscheinungen traten in Kontrollen nicht auf. Falls diese Gebilde den oben beschriebenen analog sind — aus den Photogrammen läßt sich das nicht erkennen — wäre damit der Beweis erbracht, daß sich eine Generation des Parasiten extracellulär entwickeln kann. Das könnte den Umstand erklären, weshalb so manche Züchtungsversuche (Funck, Ishigami etc.) einen gewissen Erfolg hatten, nach verschiedenen Ueberimpfungen, aber immer „avirulent“ wurden. Weiter würden die Impfesultate beweisen, daß nur die Sporen Neuinfektionen herbeiführen können, nur dann, wenn diese im Blute kreisen, ist dasselbe infektiös. Copeman sah in Kolloidiumsäckchen, die mit lymphehaltiger Bouillon gefüllt waren, ähnliche Bildungen, welche er als Sporozoen ansprach.

Auf die sehr kleinen Keime seiner Parasiten hat Siegel (1905) nachdrücklich hingewiesen und hat ihre Bewegungen genauer verfolgt. Etwas wesentlich Neues bringen seine Untersuchungen nicht.

Schrumpf (1905) beschreibt bei Variola interessante Einschlüsse im Zellkern. Ihre einfachste Form war ein ganz kleines, hellglänzendes Körnchen im Chromatingerüst, es hatte in seiner Mitte oft einen hellen Punkt. Die Zahl der Körnchen kann sich vermehren und schließlich den ganzen Kern anfüllen. Die Kernstruktur wurde dabei undeutlich, das Chromatin körnig, und verschwand allmählich, so daß von dem zugleich beträchtlich vergrößerten Kern nur noch die Membran übrig blieb. Im übrigen ist er Anhänger der Degenerationstheorie, faßt die Einschlüsse zum Teil auf als „versprengte Partikelchen chemisch veränderten Chromatins“ oder als Vakuolenkränze oder Spiralen, die manchmal Chromatinkörner enthalten, oder als „Komplexe von Schaumblasen“ etc. Einen Beweis für seine Anschauungen erbringt er nicht. Seine Ausführungen bilden eine objektive Bestätigung der von Councilman und Bosc ähnlich beschriebenen Kernveränderungen.

Es sei mir gestattet, auch noch einen vergleichenden Blick auf die den Pocken nahestehenden Exantheme zu werfen.

Am meisten nach dieser Richtung hin studiert ist von ihnen wohl die Maul- und Klauenseuche. Hier hat zuerst Behla exakte Angaben gemacht über Körperchen, die er im Blut der erkrankten Tiere fand. Er schildert runde, scharf umschriebene, grünlich schillernde Gebilde,

1) Anmerkung bei der Korrektur: Die später von Bonhoff als *Spirochaeta vaccinae* beschriebenen längeren Gebilde sind inzwischen von Carini und von Süpfle (diese Zeitschr.) mit Recht zurückgewiesen worden.

manche bewegten sich lebhaft zwischen den roten Blutkörperchen, manche innerhalb derselben, manche auch im Inneren von Epithelzellen, einzelne hatten Geißeln. In den größeren dieser Kügelchen, welche ungefähr die Größe von roten Blutkörperchen erreichten, sah er schwarz pigmentierte und helle Kügelchen, darunter ungemain kleine. Er vergleicht diese Gebilde mit den Malariaparasiten, glaubt, daß die im Speichel, Blut und in der Blasenlympe vorkommenden sich durch Teilung und Sprossung vermehren, auch Schwärmer mit Geißeln (also Gameten) bilden; die zuletzt beschriebenen Kügelchen hält er für Sporen, die in den größeren Rundzellen mit fester Hülle der Außenwelt trotzen. Die Hülle platzt und, zu Staub verpulvert, gelangen sie in die Luft, werden weitergetragen und vermehren sich in einem neuen Wirt wieder in ungeheurer Menge. Während aber die Malariaparasiten „Hämamöben“ sind, sind die der akuten Exantheme „Epithelamöben“, „sie dringen jedoch auch ins Blut, können sich auch dort vermehren, eine Zeitlang sich aufhalten (fakultative Hämamöben), aber ihr Drang ist wieder zum Epithel der Haut und Schleimhäute, dort werden sie ausgeschieden.“ Auch darüber, wie er sich den Verlauf der Infektion denkt, macht er genauere Angaben (p. 58). Diese Theorie Behl's läßt sich nach den jetzigen Anschauungen etwa in der Weise formulieren, daß es sich hier um eine Zwischenform zwischen den Coccidien und den Hämosporidien, namentlich den noch wenig bekannten der Kaltblüter, handeln kann. Die Lokalisation im Epithel zeigt eine gewisse Aehnlichkeit mit Coccidienherden, eine weitgehende dürfen wir nicht erwarten, denn wir kennen die Coccidien besonders bei Warmblütern bisher nur als Bewohner des Intestinaltraktes. Ihr Vorkommen und ihre teilweise Vermehrung im Blut und im Mesoderm spricht für Hämosporidien. Sie können bei den starken Temperaturdifferenzen unseres Klimas auf eine propagative Vermehrung mit Hilfe von Zwischenwirten nicht rechnen, nehmen daher ihre Sporulation im Ektoderm ihrer Wirte vor und bilden eine Unmenge von resistenten, bakterienähnlichen Keimen, die mit den Borken und Hautschuppen überall verstreut werden, eine Anpassung, welche für diese Gruppe von Erregern spezifisch ist, und ihnen eine weite Verbreitung gesichert hat und noch sichert. Erfährt ihre multiplikative Vermehrung durch vorzeitiges Auftreten der Immunität in resistenten Wirten eine Störung, so findet die Sporulation nicht statt (Scarlatina etc. sine exanthemate, Vaccine). Statt „Epithelamöben“ kann man sie besser als Cythämospodien bezeichnen. Ich glaube, daß diese Ansicht die bisher vorliegenden Untersuchungen am besten erklärt und möchte mich in dieser Form ihr anschließen, exakte Beweise liegen vorläufig nicht vor.

Piana und Fiorentini, welche sich eingehend mit diesem Gegenstand beschäftigt haben, fanden lichtbrechende Kügelchen von $\frac{1}{2}$ —5 μ Durchmesser mit schwingender Bewegung, die größeren zeigten einen hellen Kern und eine protoplasmatische Substanz, die noch mehrere stark lichtbrechende Körnchen enthielt, oder aber eine Segmentierung in 5 oder 6 kugelförmige Teile, oder sie waren ovoid und mit einer doppelt konturierten Kapsel begrenzt. Die kleineren waren ganz hyalin, oder hatten einen oder mehrere lichtbrechende Kügelchen in ihrer Mitte. Im Ausstrich waren sie schlecht färbbar und zeigten keine Differenzierung. Sie fanden Leukocyten mit Körperchen, die sie ganz bestimmt von den gewöhnlichen Körnungen unterschieden. Fundstätten: Bläschen der Haut und der Schleimhaut, Epithelzellen, Corium, Blut. Sie ver-

gleichen diese Körper, die sie bestimmt als die Erreger ansprechen, mit den Malariaparasiten. Die gleichen Körperchen sind von Jungers gefunden und mehrfach beschrieben worden; auch Löffler und Frosch (Kommission zur Erforschung der Krankheit) fanden sie von den feinsten lichtbrechenden Körnchen bis zu den Scheiben in fortwährender oscillierender Bewegung. Für spezifisch halten sie dieselben jedoch nicht, und zwar anscheinend hauptsächlich deshalb, weil sie das Virus durch Berkefeld-Filter filtrieren konnten (durch Kitasato-Kerzen passiert es nicht). Sie ziehen hieraus den Schluß: „Wären die supponierten Erreger der Maul- und Klauenseuche nur $\frac{1}{10}$ oder selbst nur $\frac{1}{5}$ so groß wie die Influenzabacillen (die kleinsten bis dahin bekannten), so würden sie auch mit den besten Immersionssystemen nicht mehr erkennbar sein. Es würde damit für die Vergeblichkeit der angestrebten Versuche, die Erreger in der Lymphe mit dem Mikroskop zu entdecken, eine sehr einfache Erklärung gefunden sein.“

Während sich also die Kommission mit Recht sehr vorsichtig ausdrückt, ist diese ja allerdings sehr einfache Erklärung vielfach zitiert und alleseitig mit Freuden begrüßt worden, und hat so der hier zur Diskussion stehenden Frage erheblich geschadet. So behauptete z. B. Schüder kurzerhand, die Negrischen Körperchen könnten nicht spezifisch sein, weil das Virus der Lyssa ebenfalls filtrierbar wäre, und doch häufen sich in letzter Zeit die positiven Befunde derartig, daß man die Körperchen mit demselben Recht als zu dem Entwicklungskreis des Erregers gehörend ansprechen kann, wie man die Spirochaete pallida auf Grund ihres regelmäßigen Vorkommens bei der Lues als den Erreger derselben ansieht. Ein Beispiel hierfür bilden weiter die Ausführungen von Kolle und Hetsch (Kolle und Wassermann, Bd. III, p. 908). Sie schreiben: „Nach den Untersuchungen von Löffler und Frosch gehört das spezifische Virus der Maul- und Klauenseuche zu den unsichtbaren Mikroorganismen, welche Porzellanfilter (zwei Seiten weiter steht das Gegenteil) passieren können.“ Nach diesen Untersuchungen können die oben beschriebenen Gebilde (Behla etc.) „als spezifisch nicht angesehen werden“. Ja, sie haben einen eigenen Abschnitt für „unsichtbare Krankheitserreger“, unter denen sich auch das „Molluscum“ der Vögel vorfindet. Eine ähnliche Auffassung vertritt Günther in der neuesten Auflage seines Lehrbuchs (1906). Auch Apolant erklärt, daß durch den Nachweis der Filtrierbarkeit des Virus die parasitäre Theorie „unverkennbar einen gewaltigen Stoß erlitten habe“. Dies ist der Grund, weshalb ich mich nachdrücklich gegen diese „Unsichtbarkeitstheorie“ wenden mußte. Die Untersuchungen über die Peripneumonie der Rinder, die bereits oben zitierten Befunde v. Esmarchs und Borrels lassen keinen Zweifel darüber, daß es filtrierbare Bakterien gibt, die sehr wohl sichtbar sind, auch Siegel weist darauf hin. Aus der Filtrierbarkeit eines Erregers kann man höchstens schließen, daß er in einem Stadium seiner Entwicklung sehr klein, wahrscheinlich kleiner als der Influenzabacillus sein muß. Daß dies für Protozoen möglich ist, ist bereits von Schaudinn (1904) (cf. auch Prowazek) anerkannt worden.

Als letzte der Untersuchungen über Maul- und Klauenseuche sind die von Siegel zu nennen. Seine Blutbefunde bieten nichts Neues, doch konnte er die wichtige Tatsache feststellen, daß die Sporulation seiner Parasiten sich im Kern der Epithelzellen der Haut abspielt.

Werfen wir noch einen kurzen Blick auf die bei Scharlach und

Masern gefundenen Parasiten, so stammen auch hier die ersten Blutbefunde und Zelleinschlüsse von Pfeiffer (1887). Doehle (1892) fand bei Scharlach kleine kugelige Gebilde bis $1\ \mu$ groß in- und außerhalb von roten Blutkörperchen, bei Masern kleine Körnchen von $\frac{1}{2}$ — $1\ \mu$ Größe mit einem zentralen dunklen Kern und hellem Hof, die auch in roten Blutkörperchen langsame und deutliche Ortsveränderungen vornahmen, dann größere (2 — $2\frac{1}{2}\ \mu$) mit 2 — 8 Teilstücken und schließlich solche, welche einen großen Kern zeigten. Behla (1893) konstatierte während der Eruption des Exanthems kleine, runde Kügelchen im Blute, die Ortsveränderungen zwischen den roten Blutkörperchen machten, einzelne schienen sich auch im Innern derselben zu bewegen. Ganz ähnliche Körperchen fand er auch bei Masern. Mallory (1904) fand bei Scharlachkranken Gebilde in und zwischen den Zellen der Epidermis und in den Lymphbahnen des Coriums, ferner eine Rosettenform, welche einen Komplex verschiedener, später frei werdender Einzelindividuen darstellt; diesen Vorgang vergleicht er mit der Schizogonie der Malaria-plasmodien. Den von Mallory „cyclaster scarlatinalis“ genannten Parasiten fand Field (1904) intra- wie extracellulär in den tieferen Epithelschichten der Haut. Siegel (1905) fand im Plasma der erkrankten Epithelzellen glänzende Körperchen, welche Segmentierung zeigten und bildet sie ab. Aehnliche Elemente ließen sich im Blute von Kranken und von geimpften Kaninchen nachweisen, ferner bewegliche Körperchen von $\frac{1}{2}$ — $1\ \mu$ Größe. Etwas Neues hat Siegel in seinen (Januar 1905) der Preußischen Akademie der Wissenschaften vorgelegten Arbeiten nicht gefunden, war also zu seinen Nomenklaturen nicht berechtigt. Die Befunde Mallorys konnte schließlich auch Duval (1905) bestätigen. Er fand in der Lymphe in und zwischen den Epithelzellen ebenfalls Körperchen, die er sicher als die Erreger anspricht, sie fehlten in seinen Kontrollen. Er unterscheidet kugelige Formen (3 — $6\ \mu$), amöboide Formen, Rosettenformen, welche an ihrer Peripherie regelmäßig 20 — 22 kleine Kugeln mit Kern zeigten und schließlich ebenfalls kleinste bewegliche 1 — $2\ \mu$ große Gebilde. Schließlich hat Field im Blute Masernkranker Körperchen festgestellt, welche den von ihm bei Scharlach festgestellten ähnlich waren.

Die im vorstehenden gegebene Zusammenstellung der einschlägigen Arbeiten macht auf Vollständigkeit in keiner Weise Anspruch und soll nur auf die angefügte Literatur hinweisen.

Welche Schlußfolgerungen lassen sich aus diesen Untersuchungen ziehen? Zunächst ist eine Aehnlichkeit zwischen unserem Parasiten und den bei den übrigen Pockenarten gefundenen Gebilden unverkennbar, sie wird von Pfeiffer ausdrücklich hervorgehoben, auch ihre Verbreitung im Körper, namentlich im Bindegewebe, scheint eine ähnliche zu sein. Weiterhin sind aber die Erreger der akuten Exantheme, wie von allen, die sie vergleichend untersucht haben, bestätigt wird, wieder unter sich ähnlich. Es ist demnach klar, daß sie alle nahe verwandt sind, daß sie entweder alle als Parasiten anzusehen sind, oder gemeinsam in die Rubrik der Pseudoprotzoen gehören. Nun sind die Beweise für die Protozoennatur dieser Gebilde, wie ich schon oben hervorhob, entschieden mangelhafte, die Schilderung der objektiven Befunde ist vielfach unklar und noch entsteht durch die daran geknüpften, oft weitgehenden Deutungen. Auf der anderen Seite aber ist es keineswegs leicht, was im Hinblick auf die oben gelieferten Fragmente hervorgehoben werden muß, ihren ja hier ausschlaggebenden Entwicklungskreis auf-

zustellen. Weiter gibt der Umstand, daß diese Gebilde, und außer Bakterien nur diese, immer wieder beschrieben und als die Erreger angesprochen sind, ganz unabhängig, von den verschiedensten Beobachtern und in allen möglichen Ländern, doch entschieden sehr zu denken. Ferner basieren die gegen sie erhobenen kritischen Einwände, namentlich die Theorie der spezifischen Degeneration und die der Unsichtbarkeit, auf ebensowenig sicherer Grundlage und sind nicht geeignet, das vorliegende Tatsachenmaterial zu erschüttern. Die einzigen diesbezüglichen Untersuchungen, die namentlich in den letzten Jahren eine eingehende kritische Würdigung gefunden haben, sind die Guarnierischen Corneaimpfungen gewesen. Wenn man bedenkt, daß die Vaccine doch wahrscheinlich eine abgeschwächte Variola ist (daher schon an und für sich zur Klärung dieser ganzen Frage ungeeignet), daß Kaninchen nur wenig empfänglich sind, und daß die Cornea dem Erreger nur kümmerliche und abnorme Existenzbedingungen bieten kann, so ist es nicht gerade wunderbar, daß auf diese Weise Resultate nicht erzielt worden sind. Und doch hat selbst hier bisher niemand den Beweis zu erbringen vermocht, daß es sich um Degenerationsprodukte und nicht um den Erreger handelt. Ein stichhaltiger Grund für das ablehnende, ja direkt skeptische Verhalten, welches man diesen wissenschaftlich wie praktisch gleich wichtigen Untersuchungen entgegengebracht hat, läßt sich kaum finden. Auch der Umstand, daß vorläufig über die Stellung dieser „Pseudoprotzoen“ zum System der übrigen Protozoen noch keine Auskunft gegeben werden kann, könnte doch höchstens dazu anspornen, ihre Morphologie und namentlich ihre Biologie durch weitere Untersuchungen klarzustellen, und so allmählich diese klaffende Lücke in unserem Wissen auszufüllen. Und wenn Schaudinn in seiner mehrfach zitierten Arbeit die Hoffnung ausspricht, daß auf Grund seiner Ausführungen „die unfruchtbare Coccidienjagd“ ein Ende nehmen möge, möchte ich der Hoffnung Ausdruck geben, daß sie nicht eher aufhört, bis wir über die letzte der Zelleinschlußkrankheiten Klarheit gewonnen haben.

Zum Schluß sage ich Herrn Geheimrat Gärtner für die Anregung zu diesen Untersuchungen, das ihnen entgegengebrachte Interesse und das zur Verfügung gestellte Material meinen besten Dank.

Literatur.

- 1) Apolant, Beitrag zur Histologie der Geflügelpocke. (Virchows Arch. Bd. CLXXIV. p. 86.)
- 2) Becker, Krankheiten des Geflügels. (Pfenningstorffs Handb. Berlin.)
- 3) Behla, Die Erreger der Klauen- und Maulseuche etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII. p. 50.)
- 4) Benda, Zelleinschlüsse des Molluscum contagiosum und der Taubenpocke. (Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. VIII.)
- 5) Bollinger, Ueber Epithelioma contagiosum beim Haushuhn und die sogenannten Pocken des Geflügels. (Virchows Arch. Bd. LVIII. p. 349.)
- 6) Bonhoff, Studien über den Vaccineerreger. (Sitzungsber. d. Marburger Ges. f. Naturwissenschaften. 1905.)
- 7) Borrel, Epithélioses infectieuses et epithéliomas. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVII. p. 81.)
- 8) Bosc, Les epithéliomas parasitaires. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV.) Les maladies bryocytiques. (Ibid. Bd. XXXVII u. XXXIX.)
- 9) Councilman, Calkins etc., Studies on the pathology and on the etiology of variola and of vaccinia. Boston 1904.
- 10) Csokor, Ueber den feineren Bau der Geflügelpocke. (Vortr. f. Tierärzte. Serie 6. Heft 11. Leipzig 1884.)

- 11) Doehle, Blutbefunde bei Masern. (Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. III. p. 150. — Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. p. 907.)
- 12) Doflein, Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena 1901.
- 13) Dombrowski, Untersuchungen über das Contagium der Pocken. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLVI. p. 1.)
- 14) Duval, Die Protozoen des Scharlachfiebers. (Virchows Arch. Bd. CLXXIX.)
- 15) Field, On the presence of Mallorys cyclaster scarlatinalis etc. (Proceedings of the New York pathol. soc. 1904.)
- 16) Friedberger u. Fröhner, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Stuttgart 1904.
- 17) Funck, Der Vaccine- und Variolaerreger. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXIX. p. 921.)
- 18) Gorini, Ueber die bei den Hornhautvaccineherden vorkommenden Zelleinschlüsse. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. p. 111.)
- 19) Hückel, Die Vaccinekörperchen. (Zieglers Beitr. II. Supplementheft. 1898.)
- 20) Ishigami, Ueber die Kultur des Vaccine- resp. Variolaerregers. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. p. 794.)
- 21) Juliusberg, Ueber das Epithelioma contagiosum von Taube und Huhn. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 43.)
- 22) Jungers, Beitrag zum Wesen der Maul- und Klauenseuche. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1896. p. 629.)
- 23) de Korte, Parasites of smallpox and vaccinia. (Brit. med. Journ. 1902. Vol. II.)
- 24) Loeffler u. Frosch, Bericht der Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. p. 371.)
- 25) Marx u. Sticker, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum des Geflügels. (Dtsche med. Wochenschr. 1902. p. 893.)
- 26) — —, Weitere Untersuchungen über die Mitigation des Epithelioma contagiosum des Geflügels. (Ibid. 1903. p. 79.)
- 27) Mallory, Scarlet fever. (Journ. of med. research. 1904.)
- 28) Mégnin, Médecine des Oiseaux. Vincennes 1893.
- 29) Monti, Ueber die Aetiologie der Variola. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI.)
- 30) Morel et Vallée, Contribution à l'étude anatomo-pathologique de la clavelée. (Arch. de méd. expér. T. XII. p. 341.)
- 31) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. Paris 1903.
- 32) Piana u. Fiorentini, Untersuchungen über die Aetiologie der epizootischen Aphthen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII. p. 450 u. Bd. XXIII. p. 323.)
- 33) Piana e Galli-Valerio, Sulla morfologia dei parassiti del vaiuolo umano. (La Riforma med. 1894. No. 126.)
- 34) Pfeiffer, L., Beiträge zur Kenntnis der pathogenen Gregarinen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. p. 363.)
- 35) — —, Die modernen Immunitätslehren und die Vaccination. (Ibid. Bd. XLIII. p. 426.)
- 36) Polowinkin, Beitrag zur pathologischen Anatomie der Taubenpocke. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXVII. p. 86.)
- 37) Prowazek, Untersuchungen über die Vaccine. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXII. p. 535.)
- 38) Reed, On the appearance of certain amoeboid bodies etc. (Journ. of exper. med. 1897. Sept.)
- 39) Rivolta e Delprato, L'Ornitologia. Pisa 1880.
- 40) Roger et Weil, Recherches microbiologiques sur la variole. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. p. 970.)
- 41) Salmon, Diseases of poultry. Washington 1899.
- 42) Sanfelice, Beiträge zur Aetiologie der sogenannten Pocken der Tauben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVI. p. 298.)
- 43) Schaudinn, Cyclospora caryolytica. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. p. 378.)
- 44) Schrumpf, Ueber die als Protozoen beschriebenen Zelleinschlüsse bei Variola. (Virchows Arch. Bd. CLXXIX. p. 461.)
- 45) Siegel, Untersuchungen über die Aetiologie der Pocken, der Maul- und Klauenseuche und des Scharlachs. (Abhandl. d. kgl. Preuß. Akad. d. Wissensch. Berlin 1905.)
- 46) Sternberg, The malaria parasite and other pathogenic protozoa. (Med. surgical Bull. 1897. No. 7.)
- 47) Thomson and Brownlee, Preliminary note on the parasites of smallpox and chicken pox. (Brit. med. Journ. 1903. Vol. I.)
- 48) Unna, Ueber den Sitz der Pocke in der Epidermis und die ersten Stadien des Pockenprozesses. (Virchows Arch. Bd. LXIX. p. 409.)

- 49) Vale, Manual of poultry and Manual of pigeon diseases. London.
 50) v. Wasielewski, Beiträge zur Kenntnis des Vaccineerregers. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVIII. p. 212.)
 51) — —, Studien und Mikrophotographien zur Kenntnis der pathogenen Protozoen. Leipzig 1904.
 52) Weber, Zur Aetiologie der Variola. (Medycyna. 1896. No. 14. [Warschau].)
 53) Woodroffe Hill, The diseases of poultry. London.
 54) Zürn, Krankheiten des Hausgeflügels. Weimar 1882.

Nachdruck verboten.

Ueber den neuen Infektionsweg der Ankylostomalrve durch die Haut¹⁾.

Von Dr. W. Schüffner,

Arzt der Senembah Maatschappij, Deli-Sumatra.

Mit 4 Figuren.

Der Infektionsversuch am Menschen, den Looss mit *Ankylostoma*-Larven anstellte, und der neuerdings von Tenholt wiederholt und bestätigt wurde, sowie die Tierversuche von Schaudinn, Liefmann u. A., lassen keinen Zweifel mehr, daß das *Ankylostoma* auch durch die unverletzte Haut eindringen und danach zur Reife gelangen kann. Auch das Pierische Experiment, wiewohl von ihm selbst gegen die Richtigkeit der Loosschen Entdeckung verwertet, muß bei genauer Betrachtung als eine Bestätigung gelten.

Wenn daher die Annahme der neuen Lehre im Prinzip als gesichert erscheinen darf, so hat sie doch eine Reihe von Fragen geworfen, die noch der Beantwortung harren. Es entzieht sich heute z. B. noch aller Berechnung, in welchem Zahlenverhältnis die stomachale zur perkutanen Infektion steht, d. h., welcher Weg bei der natürlichen Infektion der mehr begangene ist, und unter welchen Umständen sich dieses Verhältnis verschiebt. Unbekannt ist auch noch, wieviele der perkutan in den Wirt gelangten Larven ihre volle Entwicklung erreichen, wieviele durch die Schutzorgane des Körpers vernichtet werden. Nur das scheint nach den bisherigen spärlichen Experimenten gesichert, daß bei stomachaler Infektion die Ansiedlung des Wurmes im Darm reichlicher, sicherer und schneller gelingt.

Der Weg, den die Larve im Körper des Hundes nimmt, ist durch Looss gefunden; sie benutzte die Lymph- und Blutbahnen. Auf jenem Wege geraten die Eindringlinge in die Lymphdrüsen, die sie abfiltrieren und zum Teil abtöten sollen; auf diesem lassen sie sich durch die Venen in die Lunge schwemmen, treten dort wieder auf die Oberfläche und gelangen durch Bronchien, Trachea, Kehlkopf zum Pharynx; von da schleppt sie ein Schluckakt in den Magen: hier stoßen also die beiden Infektionsbahnen, die stomachale und die perkutane, wieder zusammen.

Ob das nun auch der Weg für die Larve im Menschen ist? Darf man direkt vom Hund auf den Menschen schließen? Ein Beweis wird recht schwer zu erbringen sein. Daß es bei den bisherigen Experimenten an allen Lungensymptomen gefehlt hat, kann man nicht gegen den Weg

1) Nach Vorträgen vor der Vereeniging tot bevordering medischer Wetenschappen, Afd. Medan, Sumatras O-K. Juli 1904 und auf der 77. Versammlung deutscher Naturforscher in Meran.

durch die Lunge ausspielen. Die Verlegung der kleinsten Arterien durch die Würmchen wird kaum von so langer Dauer sein, daß sich ein Infarkt würde ausbilden können; die Larve wird sich wahrscheinlich, wenn sie wieder festes Gewebe unter sich fühlt, rasch weiterbohren, und so das Blutästchen wieder gangbar machen.

Aber rätselhaft ist die große Zeitdifferenz, die zwischen der Entwicklung des Wurmes nach stomachaler gegenüber der nach perkutaner Infektion besteht. Bei letzterer braucht es der doppelten Zeit, bis Eier im Stuhle die Geschlechtsreife der Würmer verraten (4—5 Wochen gegen 10 Wochen). Wenn die Larven im Körper per Blutbahn vorwärts kommen können, so sollte doch wenigstens ein Teil von ihnen sehr rasch in der Lunge eintreffen. Für den Schleimhautweg von da bis zum Pharynx bleiben dann noch 5—6 Wochen. Das bedeutet für die leichtbeweglichen Tiere eine recht lange Frist, und man fragt mit Recht, warum diese große Verzögerung für ein Tier, dessen Entwicklung bei stomachaler Infektion so rasch dem Abschluß, d. h. der Geschlechtsreife zudrängt^{1) 2)}).

Bei meinen Arbeiten mit dem *Ankylostoma* habe ich mich im wesentlichen auf den Beginn des neuen Infektionsweges beschränkt, auf die anatomische Grundlage und die Symptome der Hautinfektion. Vollständige Experimente am Menschen zu machen, verbot sich in einem Lande, wo die *Ankylostomen* ubiquitär sind, von selbst. Es schien mir aber der Mühe wert, zu versuchen, ob es durch genauere Analyse der künstlichen Infektion gelingen werde, der natürlichen auf die Spur zu kommen in vollkommener Weise, als es bisher geschehen.

Zuerst einige Bemerkungen über die Gewinnung des Larvenmaterials. Das *Ankylostoma duoden.* Dubini ist in Niederländisch-Indien so verbreitet, daß mir genügend Stühle mit reichlich Eiern zu Gebote standen. Trotzdem ich nun das von Looss angegebene Verfahren: Mischen des Stuhles mit Knochenkohle benutzte, wollte es lange nicht gelingen, reife Larven, d. h. solche, die vor der zweiten Häutung standen, zu erhalten. Das hatte, wie ich später sah, recht einfache Gründe. Es ergab sich nämlich zu meiner Ueberraschung bei den vielen Stuhlproben, die zur Züchtung von *Ankylostoma*-Larven angesetzt wurden, daß der *Strongylus ster-*

1) Unter Umständen soll die Larve sogar jahrelang im Körper wandern. Looss beschreibt eine der Creeping eruption ähnliche Hautaffektion, die er an sich selbst wahrnahm, und die so lange wiederkehrte, bis er von seiner A-Infektion ganz genesen war. Das Leiden ist der Beschreibung nach recht prägnant, und kann selbst so heftige Beschwerden machen, daß es nicht leicht zu übersehen ist. Looss hat jedoch die Larve selbst nicht gefunden, auch nicht die Gelegenheit gehabt, die langen Quaddel-leisten mikroskopisch zu untersuchen, es sind nur Indizienbeweise, auf die hin er das Tier anschuldigt. Da ich selbst nun bei jährlich mehr als 1000 Wurmkranken nie etwas beobachtet habe, was der Creeping eruption geglichen hätte, so trage ich doch Bedenken, jene Affektion auf wandernde Larven zurückzuführen, oder gar umgekehrt in dem Hautleiden einen Beweis für die Wanderlust der Larven zu sehen.

2) Durch neuere Arbeiten wird das Zahlenverhältnis übrigens schon wesentlich verschoben. Es verliefen vom Moment der Infektion bis zum Erscheinen von Eiern im Stuhle

	bei Looss	71 Tage
	„ Pieri	71 „
dagegen	bei Boycott	50 Tage
	„ Tenholt	46 „
	„ Bruns I	53 „
	„ Bruns II	46 „

Damit kommt man den 30 Tagen nach stomachaler Infektion schon wesentlich näher.

coralis viel verbreiteter war, als nach mikroskopischer Durchmusterung des Stuhles angenommen werden durfte. Ein anguillulafreier Stuhl bei den Inländern war fast eine Ausnahme. Abgesehen davon nun, daß die Rhabditiform der *Anguillula* zur Verwechslung führt, machten wir die Erfahrung, daß neben jenen die *Ankylostoma*-Larven nicht recht aufkommen wollten. Unter dem Mikroskope beobachtete ich mehrfach, wie die stärkere *Anguillula*-Larve die junge *Ankylostoma*-Larve angriff und mitschleppte. Danach liegt es sehr nahe, anzunehmen, daß die *Ankylostoma*-Brut der Raubgier der *Anguillulas* zum Opfer fiel.

Noch hinderlicher waren meinen Züchtungen kleine Fliegenmaden, und zwar nicht etwa solche, welche erst auf dem Stuhle abgesetzt wurden — das wäre ja leicht zu umgehen gewesen — sondern Maden, welche Eiern entstammten, die bereits mit der Nahrung aufgenommen waren. Sie entwickelten sich fast in allen Stühlen außerordentlich schnell. Gewöhnlich begannen die Proben schon den zweiten Tag zu leben, und wo sie auftraten, war Züchtung der *Ankylostoma*-Larve vergebene Liebesmühe. Ich kann nicht sagen, ob die Maden direkt den Larven schädlich wurden, oder ob es die Veränderung des Kotes war, die er unter Einwirkung der Larve einging. Auch über die Rolle, welche Reaktion des Stuhles oder seine chemische Zusammensetzung für die Larvenentwicklung spielt, kann ich mich nicht äußern.

Es sollte mich nicht wundern, wenn sich auch andere Untersucher in den Tropen durch solche Schwierigkeiten von der Fortsetzung der Versuche hätten abschrecken lassen. Ich war erst 1904 bei der Wiederaufnahme der Versuche so glücklich, gleich im Beginn einen geeigneten Stuhl unter die Hände zu bekommen, der mir Massen der ersehnten reifen Larven lieferte. Sie wurden durch Filtrieren nach Looss rein gewonnen und blieben fast 4 Monate am Leben. In den Tropen empfiehlt es sich, dem Wasser, in welchem die Larven suspendiert sind, anfangs etwas Chinin zuzusetzen, etwa 2—3 Tropfen einer 1-proz. Lösung auf 10 ccm Wasser. Man läuft sonst Gefahr, die Kulturen, wie Looss sie nennt, rasch einzubüßen durch Infusorien, die sich den Larven ansetzen und sie binnen wenigen Tagen abtöten. Das Chinin schadet in jener hohen Verdünnung den Larven nicht.

Wie hier im Laboratorium, so werden wohl auch in der Natur zahlreiche Feinde der *Ankylostoma*-Brut hart zusetzen und einen hohen Prozentsatz vernichten. Eine weitere erhebliche Reduktion dürfte die Entwicklung der *Ankylostoma*-Eier in den Tropen durch die fast ausschließliche Pflanzenkost der Eingeborenen erfahren; nach Looss finden die Eier in dem Stuhl, der davon stammt, keinen günstigen Boden. So wird es verständlich, daß sich der Wurm in den Tropen nicht ins Ungemessene vermehrte und daß der Schaden, den er im Laufe von Jahrhunderten anrichtete, sich immerhin in Grenzen hielt.

Um den genaueren Weg zu studieren, den die Larve durch die Haut einschlägt, verfuhr ich ebenso wie Looss. Ich brachte einen Tropfen sehr reichlich Larven enthaltenden Wassers auf die Außenseite des Vorderarms eines Javanen und überließ ihn sich selbst. Etwa 30 Minuten später — das Wasser war inzwischen verdunstet — setzte das sehr heftige Jucken und die Quaddelbildung ein. 10 Minuten später, zu einer Zeit also, wo die Larven aller Wahrscheinlichkeit nach noch nicht weit gewandert sein konnten, wurde die Hautpartie exzidiert. Härtung in Sublimat, Alkohol in steigender Konzentration. In den davon angefertigten mikroskopischen Schnitten findet man die

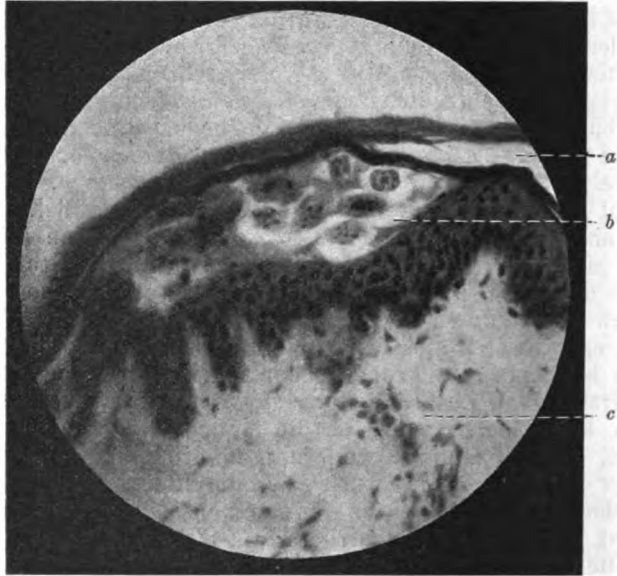


Fig. 1. Erstes Stadium des Durchtritts. a) Natürlicher Spaltraum in der Hornschicht der Epidermis; b) ein durch die Larven geschaffener Raum unter der Hornschicht; c) eosinophile Zellen.

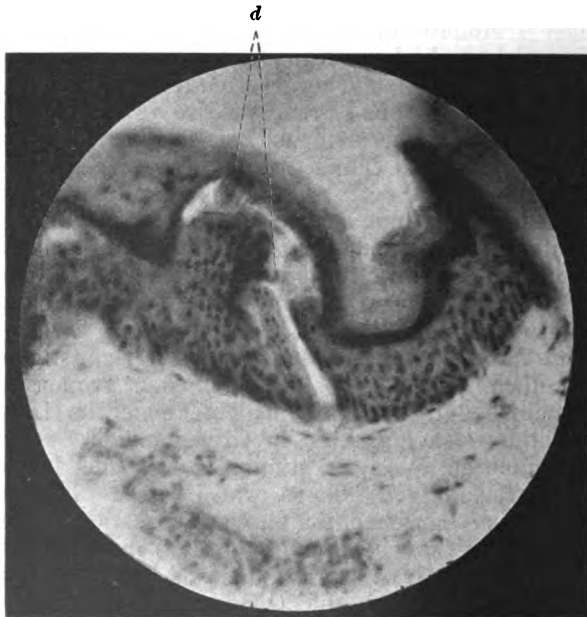


Fig. 2. Zweites Stadium des Durchtritts. d) Quer- und längsgetroffene Larve, bei Durchgang durch das Stratum germinativum.

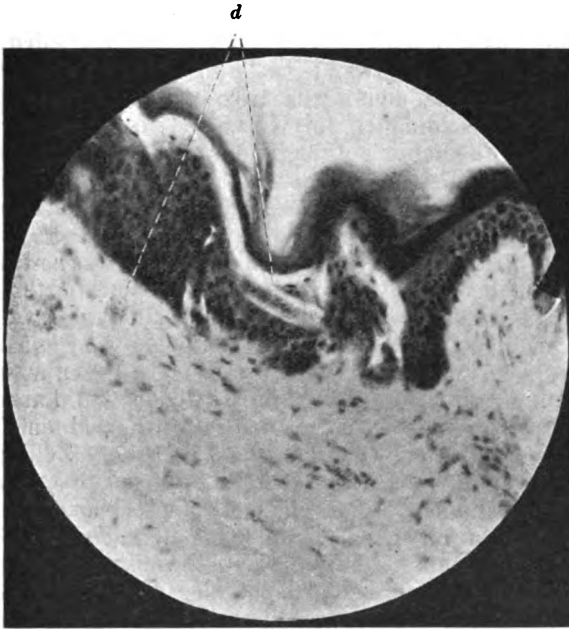


Fig. 3. d) Längs- und quergetroffene Larve, letztere schon in der Cutis liegend; die Germinativschicht förmlich zerwühlt von den dort mehrfach eingedrungenen Larven.



Fig. 4. Haarbalg in der unmittelbaren Nähe, frei von Larven

Larven in allen Stadien des Durchtritts, ganz oberflächlich liegende und solche, die schon bis zur Tiefe der Knäueldrüsen vorgedrungen sind.

Ueber die Art des Einwanderns nun geben meine Präparate ein Bild, das durchaus von dem durch Looss beschriebenen abweicht. Dort waren es fast ausschließlich die Haarbälge, deren sich die Larven als Eintrittspforten bedienten. Längs der Haarscheide sollen sie sich dann bis zur Haarzweibel durcharbeiten, um da erst in die Cutis einzutreten. Ganz vereinzelt durchbrach eine Larve die eigentliche Epidermis.

In meinen Präparaten dagegen bleiben die Haarbälge völlig frei. Die Larven bedienen sich auch nicht präformierter Kanäle, wie Schweiß- oder Talgdrüsengänge, durch welche sie ohne Zweifel bequemer in die Cutis gelangen würden, nein, sie wählen hier sämtlich den direkten Weg durch die Haut, dessen Looss nur als einer Ausnahme Erwähnung tut. Die Epidermis wird von den Larven an Stellen durchsetzt, die weder mit Drüsen noch mit Haarbälgen in Beziehung stehen (s. Figuren). Es scheint, als ob die saftigen Zelllagen der Epidermis den Larven keinen Widerstand entgegenzusetzen vermögen. Jedes Tierchen bahnt sich seinen eigenen Weg. Man findet die durch sie gebohrten Kanäle oft ganz dicht nebeneinander, so daß das Rete Malpighi wie zerwühlt aussieht (Fig. 3). Die Gänge verlaufen annähernd in senkrechter Richtung zur Oberfläche der Haut; die Larven haben demnach wohl das Bestreben, auf kürzestem Wege in die Cutis einzutreten.

Auf welche Weise nun kommen die zarten Tierchen durch die verhornten Schichten der Epidermis? Sind sie im stande, mit ihrem ja etwas zugespitzten Kopfende die Hornzellen auseinanderzutreiben, oder besitzen sie etwa die Fähigkeit, die Verklebung der Zellen durch ein Sekret aufzuweichen? Dieser Vorgang erschien so unverständlich, daß man sich lange bedachte, die Lehre von Looss anzunehmen.

Die Erklärung würde sehr einfach sein, wenn man annehmen dürfte, daß in der Hornschicht Spalten bestehen, die durch die ganze Dicke derselben gehen und direkt bis auf die erste Lage der noch weichen Epidermiszellen führen. Die Tierchen würden es dann sehr leicht haben, sie hätten nichts anderes zu tun, als den Zugang zur Lücke aufzusuchen und dort einzuschlüpfen. An den Rauigkeiten der Hautoberfläche, den Fältchen und Einsenkungen würden sie genug Halt finden, um selbst einen Widerstand zu überwinden.

Aber es ist doch fraglich, ob solche tiefgehenden Spalten normalerweise in der Epidermis vorhanden sind. Oberflächliche Spalten, auch solche, die bis in die Mitte der Hornschicht reichen, sieht man regelmäßig, aber bis unter die Hornschicht gehende müssen als etwas besonderes angesehen werden. Die untersten Hornlagen scheinen doch sehr fest auf der Eleidinschicht zu haften. In Fig. 1 ist bei *a* ein natürlicher Spaltraum ersichtlich, der bei *b* befindliche, unter der Hornschicht, ist durch die Larve geschaffen. Um dahin zu gelangen, hat sie sich durch die trennende Hornschicht durcharbeiten müssen. Dafür scheint die Kraft, die das Tierchen, sich an die Wand des Hohlraumes stemmend, zu entfalten vermag, ausreichend zu sein.

Mag nun das Eindringen der Larven auf diese oder jene Weise erleichtert werden, das eine sieht man wenigstens aus der vorliegenden Arbeit, daß eine besondere Beziehung der Larven zu den Haarbälgen nicht besteht. Da die meisten Nachuntersucher der Looss'schen Arbeit

nur noch von den Haarbälgen als Eintrittspforte sprechen, verdient das wohl hervorgehoben zu werden. Man geht von einer verkehrten Vorstellung aus, wenn man den Weg durch den Haarbalg für eine Erleichterung der Passage hält. Der Haarbalg ist ja keine Hautöffnung, die Larve muß also, um die Cutis zu erreichen, hier mindestens die gleiche Bohrarbeit verrichten, wie auf dem direkten Wege. Diesen muß ich nach meinen Präparaten für den natürlichen halten; besondere äußere Verhältnisse der Oberhaut werden die Tiere zwingen, davon abzugehen, und den umständlicheren durch den Haarbalg, wie in dem Loosschen Falle, zu wählen.

Recht auffallend war in den gefäß- und nervenführenden Cutispalten, welche nahe der Epidermis lagen, die bedeutende Anhäufung eosinophiler Leukocyten. Daß zwischen diesen und Wurminfektionen aller Art Beziehungen bestehen, ist ja bekannt, und schon Leichtenstern (später Boycott) hat für die Ankylostomiasis bestimmte Angaben gemacht, die mehr als andere Wurmkrankheiten durch eine bedeutende Eosinophilie ausgezeichnet ist. Eine Erklärung dieser Eigentümlichkeit steht noch aus. Sollten nun schon von den Larven bei ihrem Einbruch in die Haut chemotaktische Kräfte ausgehen und jene lokalen eosinophilen Ansammlungen hervorrufen? Man müßte dann rechnen, daß sie sich binnen 10 Minuten etwa, der Zeit vom ersten Jucken an bis zur Excision, gebildet hätten.

Der Befund, den ich zufällig machte, sei hier ohne weiteren Kommentar mitgeteilt. Um Betrachtungen daran zu knüpfen, hätte vorher genau das Blut bestimmt sein müssen, und man hätte auch Haut außerhalb des Bereichs der Infektion, sowie solche nach künstlicher, der Wurmdurchbohrung etwa gleichwertiger Verletzung untersuchen sollen. Es wird sich lohnen, darauf bei neuen Experimenten speziell Rücksicht zu nehmen.

Nach Klarstellung des anatomischen Bildes galt es als nächstes, die natürliche Infektion möglichst genau nachzuahmen und zu untersuchen. So, wie das eben angestellte Experiment, wird die zufällige Infektion des Menschen niemals verlaufen. Die Natur gibt zu solchen Massenüberfällen keine Gelegenheit. Die Larve ist ein Wassertier und besitzt einen lebhaften Wandertrieb, zwei Eigenschaften, die der raschen Verbreitung von ihren ursprünglichen Depots aus Vorschub leisten. Bei solcher Zerstreuung über relativ große Gebiete hin wird es immer nur einzelnen Larven gleichzeitig möglich sein, ihren zukünftigen Wirt zu erreichen. Daß man auch so leicht zu schweren Infektionen kommt, lehrt ein einfaches Exempel. Lassen wir nur jeden Tag 5 Larven einschlüpfen, so summiert sich das in einem Jahre schon auf 1800, eine Wurmzahl, die für den Menschen rasch tödlich sein würde.

Ich begann daher mit einzelnen Larven zu experimentieren: 1 bis 3 Stück brachte ich mir und anderen auf die Haut und beobachtete die nun eintretenden Erscheinungen. Es ist gut, dazu Larven zu wählen, die schon einige Zeit im Wasser gestanden haben, man erhält mit solchen sicherer Resultate. Dabei ergab sich nun im Gegensatz zu anderen Angaben, daß selbst die Miniarbeit einer einzelnen Larve deutlich wahrnehmbar ist: subjektiv durch ein leichtes Jucken, kaum eben zu einem Kratzreflex verleitend, und objektiv durch ein kleines, rotes Pünktchen, dem nach einigen Minuten die Bildung einer Quaddel folgt. Von einer Beziehung der Makel oder Quaddel zu den Haarfollikeln war nichts zu bemerken. Bei einiger Aufmerksamkeit kann

man diese leichten Reizerscheinungen nicht übersehen¹⁾. In 2—3 Stunden aber ist alles vorbei, und nur ein kleinster, roter Fleck verrät auch später noch, daß hier ein Insult stattfand.

Vergleicht man nun hiermit, was dem anatomischen Bilde nach zu erwarten sein mußte, so sehen wir, daß beides recht gut im Einklang steht. Die Larve macht nur einen feinen Stich in die Epidermis, eine Verletzung, kleiner als sie ein Mückenstachel verursacht. Sie hält sich nicht lange in der Gegend der Hautpapillen auf, da, wo die Nervenendapparate liegen (im Gegensatz zur Krätzemilbe, bei der sich das heftige Jucken aus ihrem Sitz leicht erklärt), sondern sie passiert diesen empfindlichen Bezirk sehr rasch und verschwindet in die Tiefe.

Aber dienen nun nicht vielleicht die Larven ab und zu als Träger einer bakteriellen Infektion, oder könnte es nicht nachträglich noch zu Infektionen ihrer Eintrittsverletzung kommen?

Auf der Suche nach den Symptomen der natürlichen Hautinfektion bedarf dieser Punkt auch einer kurzen Erörterung.

In der Theorie läßt sich die Möglichkeit solcher sekundärer Infektionen mit anschließenden heftigeren Hauteruptionen nicht in Abrede stellen. Aber derartige Vorkommnisse dürften doch recht selten sein. Bei unseren Experimenten sahen wir auch nichts davon. Die Larve streift ja beim Einbohren die alte Hülle ab, das eventuell infektiöse bleibt auf der Außenseite. Sie gelangt nach unseren Begriffen aseptisch in die Haut. Und was Kratzinfektionen anbelangt, welche bei exquisiten Juckkrankheiten die an sich unschuldige Verletzung des Insektes häufig komplizieren, so können diese für die vorliegende Frage kaum in Betracht kommen; zu energischerem Kratzen liegt ja beim Durchwandern der Larve kein Grund vor. Die Juckbelästigung durch die Larve ist gering, geringer als die von Mückenstichen abhängige. Wie selten aber sehen wir selbst von diesen ernstere Erscheinungen, trotz der ungeheuer großen Zahl von Mückenstichen, welcher ein jeder in den Tropen ausgesetzt ist!

Man ist daher wohl berechtigt, unsere kleinen Experimente als Maßstab zu nehmen für die Intensität, in welcher wir bei der natürlichen Infektion Symptome von seiten der Haut zu erwarten haben. Die Belästigung wird beträchtlich geringer sein als die von einzelnen Mückenstichen herrührende; wie bei jenen wird es sich um vereinzelte rasch verfliegende Urticaria-Eruptionen handeln, und die Infektion kann an allen Teilen des Körpers statthaben, welche dauernd oder zeitweilig einer Beschmutzung von außen ausgesetzt sind.

Was finden wir nun davon bei unseren Wurmkranken resp. aus ihrer Anamnese wieder? Erhebungen, die ich in Indien anstellte, sind bisher ganz resultatlos verlaufen. Allerdings hatten sie dort bei der größeren Masse stechender und beißender Insekten ihre besonderen Schwierigkeiten. Es bedarf dann schon erhöhter Aufmerksamkeit, die nicht durch körperliche Arbeit abgelenkt oder durch andere Stiche irreführt wird. Ich habe wohl an mir selbst die Beobachtung gemacht,

1) Beim Menschenexperiment zum Zwecke voller Infektion muß man mit dieser Tatsache Rechnung halten. Wo es bei solchen Experimenten nicht zu lebhaftem Jucken an der Infektionsstelle kam — man macht ja stets den Versuch mit 100 und mehr Larven — da darf man auch versichert sein, daß keine Larven eindringen. In solchen Fällen noch monatelang nach Eiern im Stuhle suchen zu wollen, ist ganz zwecklos. Die negativen Experimente von Leichtenstern, Boycott und Haldane erklären sich allein auf diese Weise.

daß man gelegentlich durch leichtes Jucken auf eine Stelle aufmerksam wird, ohne dann irgend etwas von einem Insekt bemerken zu können. Natürlich blieb da immer die Frage, ob der Schmerz nicht erst auftrat, nachdem das Insekt längst über alle Berge war; ja, und wer nicht sehr genau hinblickt, übersieht einfach die äußerst feinen Fliegen, die in den Tropen zu allem Ueberfluß zeitweilig eine Plage sind. Bei der eigenen Unsicherheit gab ich es daher bald auf, die Angaben Anderer noch zu verwerten.

Soweit ich die Literatur zu übersehen vermag, sind andere Autoren darin ebensowenig glücklich gewesen. Zwar fehlt es nicht an allerlei Vermutungen; eine ganze Reihe von Hautaffektionen, denen man in Wurmgebieten begegnete, haben es sich gefallen lassen müssen, als Larvenexantheme angesprochen zu werden. Aber man ist dabei, wenigstens möchte ich das nach meinen kleinen Experimenten behaupten, nicht immer von richtigen Voraussetzungen ausgegangen. Man hat sich zum Vergleich nur an das Bild heftiger Reizerscheinungen gehalten, das bei der Infektion einer kleinen Hautinsel mit zahlreichen Larven auftritt. Das gibt aber einen verkehrten Maßstab.

So brachten Bentley, Manson, Smith u. A. eine in den Tropen vorkommende Grundkrätze, Ground-itch oder Pani-ghao, sore feets, mit der Einwanderung von *Ankylostoma*-Larven in Verbindung. Auf Grund von epidemiologischen Tatsachen, nach denen sich Grundkrätze und Ankylostomiasis in ihrem Vorkommen durchaus nicht decken, wurde diese Hypothese schon von Elliott, Looss verworfen. Ihrer Anatomie, Symptome und Lokalisation wegen¹⁾, die gänzlich von unserem Schema abweichen, mußte man sie gleichfalls fallen lassen.

Für eine ähnliche Grundkrätze, die in Sumatra stellenweise recht lästig wird, und in deren dunkle Natur die Larveninfektion auch Licht zu bringen schien, fanden wir später eine befriedigendere Lösung. Sie tritt an Füßen und Unterschenkeln auf, beginnt auch mit heftigem Jucken und Brennen, nachdem man einige Zeit auf einem infizierten Platze weilte. Es bilden sich dann Quaddeln und daraus Knötchen, welche sich besonders dicht um die Knöchel gruppieren und erst nach ca. 8 Tagen wieder verschwinden. War man so unvorsichtig, zu kratzen, so kommt es auch hier zu eitrigen Prozessen, mit allen Konsequenzen bei weiterer Vernachlässigung. Als Störenfried entpuppte sich hier eine äußerst kleine, eben noch mit bloßem Auge sichtbare, rote Zecke, die an umschriebene Stellen des Waldes mit einer besonderen Moosvegetation gebunden zu sein scheint. Farbige, wie Europäer, ja auch Tiere, wie Hunde, haben unter ihr in gleicher Weise zu leiden.

Bei einer anderen Art Grundkrätze, die der eben beschriebenen bezüglich der Symptome ganz identisch ist, suchten wir bisher vergebens nach der Ursache. Beider Formen erwehrt man sich, wenn man die Füße mit Perubalsam, Kajuputiöl oder grauer Salbe einreibt.

Vor der von uns skizzierten Kritik können sich ebensowenig die von Boycott und Holdane als sump bunches oder new sump bunches beschriebenen Hautkrankheiten halten. Es sind dies furunkuloseartige Affektionen, die sich vorzugsweise auf dem Vorderarm lokalisieren. Sie experimentell zu erzeugen durch Aufbringen von Larven

1) Grund-itch ist eine Hautkrankheit der Kulis, die nur die Füße befällt; sie geht mit heftigem Jucken einher, führt zu Quaddel-, Knötchen-, Bläschen- und Pustelbildung, und nimmt einen wochenlangen Verlauf. Konsekutive Eiterinfektionen wie bei Krätze vervollständigen das Bild.

und larvenhaltigem Material auf den eigenen Arm, gelang den Autoren nicht. Außerdem aber berichten sie auch über häufige, bei den Grubenarbeitern auftretende Urticaria. Hier könnte meines Erachtens schon eher das gesuchte Kausalverhältnis vorliegen.

Etwas näher kommt unserem Schema auch die Schweriner Krätze, auf welche Dieminger die Aufmerksamkeit lenkt, wenschon der Name, die Heftigkeit des Juckens und die lange Dauer hier doch auf einen andersartigen Prozeß hindeutet.

Ueber Vermutungen ist man bisher, das sieht man aus alledem, noch nicht hinausgekommen. Völlige Klarheit können darin auch nur mikroskopische Untersuchungen ganz frischer Hauteruptionen bringen. Aber für solche geben unsere Experimente jetzt eine bessere Unterlage; die Richtung, nach der man suchen muß, ist klarer bestimmt und so dürfte weiteres Nachforschen nicht aussichtslos sein.

Literatur.

- Bentley, Ch. A., On the causal relationship between „Ground-itch“ or „pani-ghao“ and the presence of the larvae of *Ankylostomum duodenale* in the soil; 1902. (Brit. med. journal. No 2143. p. 190. No. 2160. p. 1310.)
- Browne, O., Pani-ghao, or sore feet of Assam in British Honduras. (Journ. trop. Medic. Vol. IV. p. 56.)
- Boycott, A. E., Ankylostomiasis. (Journal of Hygiene. 1904.)
- , and Haldane, J. S., Ankylostomiasis in England. (Ibid. 1903.)
- , Ankylostomiasis II. Ibid. 1904.
- Dalgetty, A. B., Water-itch, or sore feet of coolies. (Journ. trop. Med. Vol. IV. 1901. p. 73.)
- Liefmann, Zeitschr. für Hygiene. Bd. L. 1905. Heft 3.
- Lloyd Elliott, On the relationship between ground-itch or pani-ghao and the presence of the larvae of the *Ankylostoma duodenale* in the soil. (Brit. med. Journ. 1902. No. 2152. p. 807.)
- Looss, A., Die Ankylostomafrage. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXV. 1899. p. 662.)
- , Ueber das Eindringen der Ankylostomalarven in die menschliche Haut. (Ibid. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. p. 733.)
- , Weiteres über die Einwanderung der Ankylostomen von der Haut aus. (Ibid. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. p. 330.)
- , Einige Bemerkungen zu Pieris „kurzer Erwiderung“ etc. (Ibid. Abt. I. Bd. XXXV. 1904. p. 602.)
- , Handbuch der Tropenkrankheiten, herausg. von C. Mense. 1905. (Ankylostomiasis. Bd. I. p. 118.)
- Manson, Patrik, Tropical diseases. 1903. p. 650.
- Pieri, G., Sur le mode de transmission de l'*Ankylostoma duodenale*. (Arch. italien. de Biologie. T. XXXVII. p. 269.)
- Smith, Uncinariasis in the south with special reference to mode of infection. (Journ. of the Americ. med. assoc. 1904. Zit. nach Centralbl. f. Bakt. 1905. Abt. II. p. 147.)
- Sandwith, F. M., Proof that *Ankylostoma* larvae can enter the skin. (Journal trop. medic. Vol. V. 1902. p. 380.)
- Schaudinn, F., Ueber die Einwanderung der Ankylostomularven von der Haut aus. (Deutsche med. Wochenschr. Bd. XXX. p. 1338.)
- Tenholt, A., Ueber die Loossche Lehre, betr. die Einwanderung der Ankylostomularven durch die Haut. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1905. No. 4.)

Nachdruck verboten.

Gibt es beim Menschen endoparasitär lebende Acariden?

Von J. de Haan,

Direktor des Geneeskundig Laboratorium zu Weltevreden (Java).

Die Frage, ob es Acariden gibt, die im menschlichen Körper ein parasitäres Leben führen, ist immer noch eine offene. Bei den Tieren kommt auch nur eine sehr beschränkte Zahl solcher Milben vor. Nach Braun¹⁾ lebt bei den Hühnern im intermuskulären und im Unterhautbindegewebe *Laminosioptes gallinorum* und in den Luftsäcken desselben Tieres der *Cytolichus sarcoptoides*. Auf der Nasenschleimhaut der Kegelrobe (*Halichoerus grypus*) lebt die *Halarachne halichoeri* und in den Lungen eines Affen wurde von Grijns²⁾ und mir in bindegewebigen Cysten der mit *Halarachne* verwandte *Pneumonyssus simicola* gefunden.

Der endoparasitäre Charakter des von Miyake und Scriba³⁾ beschriebenen *Nephrophages sanguinarius*, der aus den Nieren eines an Hämaturie und Chylurie leidenden Japaners stammen sollte und im Harn gefunden wurde, ist von verschiedenen Seiten angezweifelt worden. Braun⁴⁾ glaubt nicht an den Endoparasitismus wegen des Vorkommens von Augen. Oudemans⁵⁾ hebt hervor, daß die bisher bekannten endoparasitisch lebenden Milben sehr wenig Chitin haben, mit Ausnahme eines oder zwei Paaren langer Tasthaare an den Hinterbeinen und am Ende des Hinterleibes unbehaart und blind sind, während der *Nephrophages* stark chitinisirt war, eine große Anzahl Haare und zwei Paar Augen hatte. Der *Nephrophages* ist von den Entdeckern zu den *Sarcoptiden* gerechnet worden. Nach Oudemans gehört aber die beschriebene und abgebildete Milbe nicht zu diesen, sondern zu den *Tarsonemidae*, die stets frei leben, nur Pflanzensäfte saugen und nur dann auf Tieren vorkommen, wenn sie diese als Vehikel brauchen. Die Weibchen der *Tarsonemidae* atmen durch Tracheen, was gegen Endoparasitismus spricht. Die *Tarsonemidae* sind blind und haben nadelartige Mandibulae; die birnförmigen pseudostigmatischen Organe haben Miyake und Scriba wahrscheinlich für Augen angesehen und auch die Mundteile nicht richtig beschrieben und abgebildet.

Van der Harst⁶⁾, der auch öfters Milben im Harn fand, überzeugte sich, daß diese stets von den Lentizellen des Korkes herrührten, mit dem die Flasche, in welcher der Harn aufbewahrt wurde, geschlossen war. Gewöhnlich waren es *Tyroglyphus putrescentiae* und *Glycyphagus privatus*.

Vor kurzer Zeit wurde hier im Harn eines Kranken, der schon während längerer Zeit an einer Harnblasenentzündung litt und regelmäßig selbst seine Blase ausspülte, eine große Anzahl Milben gefunden. Eines Nachts wurde der Kranke plötzlich durch außergewöhnlich schmerz-

1) Braun, Die tierischen Parasiten des Menschen. 3. Auflage.

2) De Haan und Grijns, Eine neue endoparasitäre Acaride. (Centralbl. für Bakt. Abt. I. Bd. XXX. Heft 1.)

3) Miyake und Scriba, Vorläufige Mitteilung über einen neuen Parasiten des Menschen. (Berl. klin. Wochenschr. 1893. No. 16.)

4) Braun l. c.

5) Oudemans, Over mijten in de urine en in de nieren. (Medisch Weekblad. 1904. No. 12.)

6) Van der Harst, Mijten in urine. (Pharmaceutisch Weekblad. 1903. No. 6.)

hafte Blasenkrämpfe gequält und deponierte eine kleine Menge stark eiterhaltigen Harns. Dieser Harn wurde in einer gut gereinigten Flasche mit gläsernem Stöpsel aufbewahrt. Am folgenden Morgen wurden die oben genannten Milben in großer Anzahl in dem Eiter aufgefunden. In dem später gelösten Harne waren keine Milben mehr; die Krampfanfälle haben sich auch nicht wiederholt.

Auch jetzt war es wieder die Frage: Wo stammen diese Milben her? Das Vorkommen im Eiter und die Fürsorge, die bei der Aufbewahrung des Harnes genommen waren, um Verunreinigungen vorzubeugen, konnten es wohl wahrscheinlich machen, daß sie aus der Blase stammten. Da sie nicht zu den bekannten Species gehörten und wir sehr gerne zu wissen wünschten, ob ein Endoparasitismus dieser Milbe überhaupt für möglich gehalten werden konnte, wurde zur Bestimmung die Hilfe des Bureau of Entomology at the United States Department of Agriculture zu Washington erbeten. Dr. Banks gab die folgende Beschreibung:

Carpoglyphus alienus n. sp.

Body nearly elliptical, rather pointed in front, broadly rounded behind; without separation between cephalothorax and abdomen; with but few hairs above; a pair in front between legs I and II, a submarginal pair above leg IV, and two pairs of longer ones behind, the median pair are on the dorsum, the other pair on the posterior margin; a large dark elliptical spot each side behind. Legs of moderate length and slenderness; leg I has the long hair from near the middle of penultimate joint; the basal clavate hair of tarsus is curved near tip. The caroncles are not very distinct, but the claws are large. In leg IV the tarsus is fully twice as long as the metatarsus. The vulva of the female, which is well forward and intercoxal, shows two divaricate lines, and each side two oval suckers. The male opening is farther back, and nearly three times as long as broad, rather broader behind, and the sides slightly concave; there are two circular suckers each side.

It differs from *Carpoglyphus passularum* in the less hairy legs, and apparant lack of short hairs on dorsum, as well as in genital apertures.

Various specimens found in urine. Batavia, Java.

Es wäre nach Dr. Banks nicht unmöglich, daß der *Carpoglyphus alienus* in der Harnblase gelebt hat, obwohl es doch etwas ganz Außergewöhnliches und abweichendes von demjenigen, was wir über die Familie der *Tyroglyphidae*, wozu der *Carpoglyphus* gehört, sein würde, da diese gewöhnlich auf getrockneten und auf frischen Früchten leben.

Wenn nun die Möglichkeit, daß die im Harne gefundenen Milben in der Harnblase, sei es vielleicht auch nur während kurzer Zeit, gelebt haben, zugegeben wird, dann sind sie aller Wahrscheinlichkeit nach mit dem vom Kranken selbst aufbewahrten Katheter da hineingelangt. In der Harnblase haben sie sich dann vermehrt und eine eiterige Cystitis veranlaßt. Durch eine starke Blasenkontraktion sind dann Milben und Eiter zusammen herausbefördert worden.

Die Frage, ob es beim Menschen endoparasitär lebende Acariden gibt, ist durch diese Wahrnehmung nicht gelöst worden. Sie schien mir aber doch wichtig genug, um hier mitgeteilt zu werden, da aus ihr hervorgehen kann, daß es für diese Parasiten möglich ist, wenn auch vielleicht nur während kurzer Zeit, im Innern des menschlichen Körpers zu leben und sich zu vermehren.

Nachdruck verboten.

So-called "Complementoids".

[From the Pasteur Institute, Brussels.]

By Frederick P. Gay, M. D.

In some of their earlier experiments on haemolysis Ehrlich and Sachs¹⁾ thought they had demonstrated the presence of so-called "complementoids", the existence of which had been presupposed by Ehrlich. These "complementoids" are depicted as possessing a "haptophore group", but no "toxophore group" in distinction from "complements" which have both; that is, they have none of the haemolytic activity of "complements", but may unite with "amboceptors". The experiments which were used to prove the existence of "complementoids" were made with dog serum which, as is known, readily haemolyzes the red corpuscles of the guinea pig. According to these authors, dog serum heated for one half hour to 50–51° C loses entirely its haemolytic power for guinea pig corpuscles, but, since it contains an "amboceptor", may be reactivated by the addition of fresh guinea pig serum (alexine). If, however, dog serum heated to this temperature is left in contact with the corpuscles for a time at 37° C the subsequent addition of guinea pig serum brings about no haemolysis; this phenomenon is ascribed to the presence of "complementoids", in the dog serum which plug the "complementophilic arm" of the dog "amboceptor", thus preventing the fixation and action of the guinea pig "complement".

I have recently discussed²⁾ this phenomenon of so-called „Komplementoidverstopfung“ and have been able to show conclusively that, although there is undoubted "plugging" of the corpuscles in question by dog serum heated to 50° or 51°, in reality such a plugging is always accompanied by distinct haemolytic activity on the part of this serum, as can be shown by using small enough amounts of the guinea pig corpuscles. I further demonstrated that in proportion to the destruction of the toxic power of the alexine by a higher temperature (56°) the combining or plugging power was likewise destroyed *pari passu*. From these experiments I was justified in concluding that 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.

Sachs³⁾ has replied to my article and denied my conclusions, not, I am pleased to note by a further hypothesis, but by a categorical denial of my experimental findings. Dr. Sachs' paper contains the repetition of former experiments of his, which are here quite irrelevant, as well as certain unimportant criticisms or misrepresentations⁴⁾ of my results. In order that discussion of detail may not serve further to obscure the real point of contention between us, I shall deal only with the essential fact which I sought formerly to establish.

1) Ehrlich and Sachs, Berliner klin. Wochenschr. 1902. No. 21. p. 492.

2) Gay, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. No. 2.

3) Sachs, H., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. No. 1.

4) I may note in passing that — „Zwar erwies es sich (dog serum 50–51°) in seinen Versuchen für die übliche 5-proz. Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung unwirksam“ — is not a proper transcription of my tables or explanatory text.

Sachs states emphatically that dog serum heated to 50–51° C for one half hour possesses no haemolytic power and he remarks that in his endeavor to prove the accuracy of my assertion to the contrary he has carefully repeated my experiments as I have described them. It does not inspire confidence in his desire to be impartial when one notes, that in the single example which bears directly on this point (Tabelle 3), the author has introduced no less than three distinct modifications of my stated experimental conditions; he has used dog serum "already distinctly weakened by age as regards its haemolytic activity"; he has diluted this serum with salt solution (equal parts), before heating; and consequently he has used only one half the actual serum dosage which I have given.

In the interest of anyone who may wish to convince himself of the haemolytic activity of dog serum heated to 50–51°, I may be pardoned for recapitulating my former results in a few experiments, with emphasis on the technical detail, sufficient to obviate any further errors as to the exact conditions under which, I have worked.

Experiment I.

Dog serum, removed from the clot 18 hours after bleeding, is centrifuged, decanted, and, in a sealed tube heated to a temperature ranging from 50½–51° C in a water bath, for one half hour. With this serum and freshly washed guinea pig corpuscles are prepared the following tubes:

	Washed guinea pig corpuscles in suspensions in 0,85 % salt solution at	Dog serum heated to 50–51° C	Haemolysis
1.	5% 1 ccm	½ ccm	trace
2.	3% 1 "	½ "	marked
3.	1% 1 "	½ "	complete.

Haemolysis is noted after 2 hours at 37°. This experiment clearly shows that the haemolytic property of the alexine is not destroyed at this temperature. A further experiment with the same serum and with serum heated to 56° shows that when the haemolytic activity of the dog alexine is wholly destroyed the power of combination or "plugging" is likewise destroyed¹⁾.

Experiment II.

A suspension of guinea pig corpuscles in 0,85 % salt solution at 5 % is used:

1.	Suspension 5% 1 ccm	Dog serum 50–51° ½ ccm
2.	" 5% 1 "	" " 56° ½ "

These two tubes are left for 1 hour at 37° C, after which contact there is added to each tube, serum of the guinea pig (alexine) ½ ccm. At the same time are prepared tubes:

3.	Suspension 5% 1 ccm	Alexine guinea pig ½ ccm	S. dog 50–51° ½ ccm
4.	" 5% 1 "	" " ½ "	" " 56° ½ "

Haemolysis is as follows:

Tube 1, a trace. (This slight haemolysis is due to the dog alexine, Exp. I).

Tubes 2, 3, 4. Haemolysis complete in 15 minutes.

1) A trace of haemolytic activity and consequently a trace of plugging may, in certain individual sera, remain even after heating to 56° as was evidenced in the former experiment which I published.

In tube 2 there is no "plugging" because the alexine has been destroyed. Tubes 3 and 4 serve as controls to show the normal action of heated dog serum with guinea pig alexine and to show that there is no perceptible weakening of the normal immune body in the serum heated to 56°, at least in the doses given. The objection of Sachs that the dog "amboceptor" is slightly weakened by heating to 56° whereas it is not weakened by heating to 51° (demonstrated in no very striking manner by his Tabelle 2) can have no possible effect on the validity of my conclusions drawn from the last experiment.

That there may be no possible doubt of the haemolytic activity of dog serum heated to 50–51° C for a half hour. I have further made several experiments on various corpuscles treated previously each with an inactive specific immune serum. A single example will suffice.

Experiment III.

Washed corpuscles of the rabbit were treated with two portions of inactive specific serum [s. guinea pig-rabbit 56°] ¹⁾ and after contact were washed free of serum by an excess of physiological solution and the blood restored to its primitive volume. The following tubes were prepared:

	Sensitized rabbit corpuscles	Dog serum	Haemolysis marked
1.	$\frac{1}{20}$ ccm	50–51° C $\frac{1}{10}$ ccm	marked
2.	$\frac{1}{20}$ "	50–51° " $\frac{2}{10}$ "	nearly complete
3.	$\frac{1}{20}$ "	50–51° " $\frac{5}{10}$ "	complete
4.	$\frac{1}{20}$ "	56° C $\frac{1}{10}$ "	nul
5.	$\frac{1}{20}$ "	56° " $\frac{2}{10}$ "	"
6.	$\frac{1}{20}$ "	56° " $\frac{5}{10}$ "	"

Similar results were obtained with ox corpuscles (treated s. rabbit-ox 56°) and with guinea pig corpuscles (treated s. rabbit guinea pig 56°). The dog serum always showed more or less haemolytic activity when heated to 50–51° C.

What are we to conclude from the phenomenon of so-called „Komplementoidverstopfung“ of Ehrlich and Sachs? It is evident, since dog serum heated to the degree mentioned by these authors can be shown to possess haemolytic power, that the proof of the existence of "complementoids" falls by very definition. Does this phenomenon of "plugging" by a modified alexine contribute anything to our knowledge of alexic activity? certainly not. It has long been known that the addition of alexine to the cell-immune body complex would, if in sufficient amount, prevent the further combining of alexine subsequently added. In the case in point a given alexine, partially destroyed by heat, shows, in a certain dose, a large combining activity and a slight haemolytic activity; but such relations may be shown in alexine which have not been heated at all ²⁾. The point of interest in this case is, that when the haemolytic activity of the alexine is destroyed, the combining or "plugging" activity is likewise destroyed.

1) By which abbreviation is indicated the serum of a guinea pig immunized against the blood of the rabbit.

2) Gay loc. cit. p. 174.

Nachdruck verboten.

Ueber die Phänomene der Agglutination der Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institute der k. Universität zu Pisa
(Direktor: Prof. A. Di Vestea).]

Von Dr. Gino de' Rossi, Assistenten und Privatdozenten.

(Schluß.)

II. Experiment (30. Nov. 1904). Bouillonkultur von *Bacillus subtilis*, wie die vorige in 5 Eprouvetten verteilt, mit Zusatz des agglutinierenden Serums in der Proportion 1:300. Eine Eprouvette bei Zimmertemperatur gelassen, die anderen nach halbstündigem Aufenthalt im Wasserbad bei 50, 60, 70, 80° der üblichen Zentrifugation etc. für die Geißelfärbung unterworfen.

Bis auf 60° ist die Agglutination deutlich zu erkennen und die Bacillen zeigen sehr schöne und zahlreiche Geißeln; bei 70 und 80° hat man keine Agglutination, es sind kaum Spuren von aufgelösten Geißeln zu sehen.

III. Experiment (1. Nov. 1904). Ein kleiner Glasballon mit ca. 100 ccm der gewöhnlichen frischen und beweglichen Bouillonkultur von *Bacillus subtilis* wird in ein kaltes Wasserbad gestellt, dessen Temperatur nach und nach sehr langsam erhöht wird. Die Temperatur wird durch ein in die Kulturflüssigkeit eingetauchtes Thermometer gemessen. Die Anfangstemperatur von 12° hatte nach einer halben Stunde diejenige von 40°, nach einer Stunde von 60°, nach 5 Viertelstunden von 70° erreicht. Bei jeder von den in der folgenden Tabelle angegebenen Temperaturen wurden mit einer Pipette 2 ccm der Flüssigkeit in die dazu bestimmten Eprouvetten gebracht. Für jede wurde die Beweglichkeit der Bakterien untersucht, sowie die Agglutinierbarkeit (durch Serumzusatz in der Proportion 1:500 und die Geißelanwesenheit mit folgendem Resultat:

	Beweglichkeit	Agglutination	Geißeln
Nicht erwärmte Bacillen	sehr beweglich	wenig deutlich	zahlreich
Bacillen auf 40° erwärmt	" "	deutlich	"
" " 50° "	" "	sehr deutlich	"
" " 55° "	unbeweglich	(grobe Flocken,	"
" " 60° "	"	vollkommen	"
" " 62° "	"	klare Bouillon)	"
" " 64° "	"	"	"
" " 66° "	"	keine Spur von	selten
" " 70° "	"	Agglutination	fehlen
" " " "	"	"	"

IV. Experiment (2. Nov. 1904). Mit denselben Modalitäten der Ausführung und mit gleichem Resultat wie das vorige. Es sei bemerkt (vom ersichtlichen Verhältnis zwischen Agglutinationserscheinung und Geißelanwesenheit abgesehen, wovon später noch mehr gesprochen wird), wie diese beiden Experimente und noch andere die günstige Einwirkung der Temperatur von 55—65° auf die Geschwindigkeit und die Evidenz der Agglutination undiskutierbar beweisen.

V. Experiment (12. Nov. 1904). Bewegliche Bouillonkultur von *Bac. subtilis* (24 Stdn. alt bei 20°) in Eprouvetten verteilt, die eine Stunde lang im Wasserbad bei den Temperaturen von 50, 58, 60, 62, 64° gehalten wurden. Den üblichen Behandlungen unterworfen, beobachtet

man: Agglutination und Geißelnanwesenheit im Kontrollmaterial und in denjenigen, die bei 50 und 58° gehalten worden waren. Was die Geißelnanwesenheit anbetrifft, wurde eine Tatsache bestätigt, die schon bei den beiden vorhergehenden Experimenten bemerkt werden konnte: es scheint in der Tat, daß in den der Temperatur von 55—58° ausgesetzten Präparaten die Geißeln schöner und zahlreicher sind als bei denjenigen, die bei einer niedrigen Temperatur geblieben sind.

VI. Experiment (24. Nov. 1904). Wie das Experiment V ausgeführt, nur mit den Temperaturen von 54, 56, 58, 60, 62, 64°. Man hat Agglutination und Geißeln bis auf 60°.

VII. Experiment (25. Nov. 1904). Die gewöhnliche Kultur von *Bac. subtilis* mit Zusatz von agglutinierendem Serum (1:500) wurde ins Wasserbad gebracht, dessen Temperatur langsam erhöht wird. Von Zeit zu Zeit nimmt man eine Oese davon und macht eine Strichkultur auf Agarplatte, um ihre Vitalität zu prüfen. Hier teile ich einige meiner Beobachtungen mit:

Nach	40'	ist das Wasserbad auf	40°	feine Flockung	} Kultur noch lebendig die Kultur ist steril
"	80'	" " " "	54°	grobe "	
"	115'	" " " "	60°	Bodensatz, klare Bouillon	
"	140'	" " " "	65°	Desagglutination begonnen	
"	160'	" " " "	70°	Bouillon ganz trübe	

VIII. Experiment (4. April 1905). Aus einer frischen Agarkultur von *Bac. subtilis* (6 Stdn. alte Platte bei 37°) wird in einer Epruvette eine sehr dichte Emulsion in sterilisiertem Wasser zubereitet, die sehr beweglich erscheint. Die Epruvette wird im Wasserbad bei den Temperaturen von 37, 45, 50, 55, 60, 63, 66, 70, 80° 10 Minuten lang für jede Temperatur gehalten und man prüfte die Flüssigkeit im hängenden Tropfen, in Strichkultur in Agar und auf Geißelfärbung; man benutzt Deckgläser, die genügend groß sind, um die 9 Tröpfchen aufzunehmen. Es folgt daraus:

Lebensfähigkeit bei 45° vorhanden, bei 50° verschwunden. Beweglichkeit deutlich zu erkennen bei 45°, bei 50° verschwunden. Bis 55° sind die Geißeln deutlich zu erkennen, bei 60° sind sie wenig, manchmal fehlen sie, und oft sind sie körnig, als ob sie sich auflösen würden; bei höherer Temperatur beobachtet man keine Geißeln, nicht einmal abgetrennt.

IX. Experiment (6. April 1905). Bouillonkultur von *Bacillus subtilis* (8 Stdn. alt bei 37°) in einem ca. 100 ccm großen Ballon; der Ballon mit dem eingetauchten Thermometer wird in ein Wasserbad gesetzt, dessen Temperatur von 40° auf 70° erhöht wird; bei jedem zweiten Grade (alle 2 oder 3 Minuten) wurden Proben herausgenommen, um Beweglichkeit, Vitalität, Agglutination und Geißelfärbung zu prüfen, mit folgendem Resultat:

Beweglichkeit bis auf 52°; fehlt von 54° an¹⁾.

Vitalität bis auf 52°; fehlt von 54° an (1—2 Kolonien bei 54°).

Agglutination bis auf 60°; fehlt von 62° an.

Geißeln normal bis auf 60°, wenige bei 62°, oder fehlen; bei 66 und 70° fehlen sie immer.

1) Der Unterschied vom vorigen Experiment wird dadurch erklärt, daß die Kultur eine kürzere Zeit den verschiedenen Temperaturen ausgesetzt wurde. Für dieses, wie für manches andere Experiment habe ich die Zeit der Einwirkung jeder Temperatur nicht ganz genau kontrolliert. Das ist aber ohne Wichtigkeit von dem Standpunkt, der uns hier interessiert, d. h. vom Vergleich zwischen Lebensfähigkeit, Beweglichkeit, Geißeln und Agglutination.

Aus diesen Experimenten geht deutlich hervor, daß, während Beweglichkeit und Lebensfähigkeit der erwachsenen Formen des *Bacillus subtilis* bei den Temperaturen von 50—54° (je nach der Zeitdauer des Aufenthaltes im Wasserbad) zerstört werden, bleibt die Agglutinierbarkeit unzerstört und wird immer deutlicher bis zu den Temperaturen von 60—62°; bis zu dieser Temperatur können die Geißeln in den agglutinierten Mikroorganismen ohne jegliche Schwierigkeit nachgewiesen werden, und zwar in absolut normaler Anzahl, Form und Anordnung; bei höherer Temperatur findet die Agglutination nicht statt, sondern es beginnt die Desagglutination, und in den Präparaten ist keine Spur von Geißeln mehr zu finden, oder nur wenige alterierte, die von den Bakterien abgetrennt sind.

* * *

X. Experiment (20. März 1905). Der kleine, eine frische Bouillonkultur von *Typhusbacillus* (12 Stdn. alt, bei 37°) und das Thermometer enthaltende Glasballon wird in das Wasserbad gesetzt, dessen Temperatur von 40° auf 70° langsam erhöht wird. Bei jedem Grade (alle 2 Minuten ungefähr) bringt man in die Eprouvetten eine Probe davon, die man auf Beweglichkeit, Lebensfähigkeit und Agglutination durch das Serum eines dazu zubereiteten Tieres (in der Verdünnung 1:1000) untersucht; man erhält das folgende Resultat:

Die Beweglichkeit vermindert sich nach und nach, bis man die Temperatur von 54° erreicht hat, fehlt bei 55°.

Lebensfähigkeit bei 55—56° (bei 57° hat man sehr wenig Kolonien).

Agglutination bis auf 62—63° (unsichere bei 64°).

XI. Experiment (30. März 1905). Wie das vorige (*Typhusbacillus*).

Beweglichkeit bis auf 54—55°, fehlt bei 56°.

Vitalität bis auf 55°, fehlt zweifellos bei 57°.

Agglutination deutlich bis auf 63°.

XII. Experiment (1. April 1905). Wie die beiden vorigen (*Typhusbacillus*), doch werden die Proben nur bei den Temperaturen von 40, 50, 55, 60, 63, 65, 70, 80° ausgeführt, mit der Geißelfärbung dazu. Resultat:

Beweglichkeit bei 55°, fehlt bei 60°.

Vitalität bei 55°, fehlt bei 60°.

Agglutination bei 65°, nicht bei 70°.

Geißeln sichtbar in allen Präparaten bis zu den Temperaturen von 65°, fehlen bei 70°.

Die Agglutinationserscheinung wurde mit einem sehr wirksamen Serum ausgeführt in der Verdünnung 1:5000. Andere Proben wurden mit demselben Serum, aber in Verdünnung 1:100 auf Kulturen, welche auf 70 und 80° erwärmt wurden, gemacht; in diesen Proben war die Agglutination nach 12 Stunden zu bemerken, während die Kontrollröhren ohne Serum oder mit nicht spezifischem Serum homogen trübe geblieben waren.

XIII. Experiment (3. April 1905). Wie die vorigen (*Typhusbacillus*). Proben bei den Temperaturen von 37, 50, 55, 57, 60, 62, 65, 70, 90° gemacht. Resultat:

Beweglichkeit bei 55°, fehlt bei 57°.

Vitalität bei 55°, fehlt bei 57°.

Agglutination bei 62°, nicht bei 65° (mit sehr verdünntem Serum). Mit einer sehr starken Konzentration des Serums dagegen — 1:100 — hat man die Agglutination nach 16 Stunden auch in der auf 65 und 70° erwärmten Kultur, nicht in der auf 90° erwärmten.

XIV. Experiment (5. April 1905). Von einer ganz frischen Agarkultur vom Typhusbacillus (8 Stdn. bei 37°) bereitet man in einer Eprouvette eine sehr dichte und anscheinend sehr bewegliche Emulsion in sterilisiertem Wasser. Die Eprouvette wird im Wasserbad gehalten 10 Minuten lang für jede der Temperaturen von 37, 50, 55, 60, 62, 65, 70, 90°, und für jede Temperatur prüft man die Emulsion im hängenden Tropfen in Strichkultur, in Agar und auf Geißelfärbung. Man erhält folgendes Resultat:

Beweglichkeit bei 50°, fehlt bei 55°.

Vitalität bei 50°, fehlt bei 55°.

Geißeln normal in allen Präparaten bis 62°, fehlen in den anderen.

Aus den Experimenten X—XIV geht mit vollkommener Analogie mit den für den Bac. subtilis erhaltenen Resultaten hervor, daß Beweglichkeit und Lebensfähigkeit des Typhusbacillus zwischen den Temperaturen 55—58° (je nach der Zeitdauer der Wärmeeinwirkung) aufhören; die Agglutinierbarkeit bleibt und wird sogar bis 63—65° sichtbarer, bis zu dieser Temperatur sind die Geißeln unversehrt, von 65° an fehlen die Geißeln und die Agglutination auch (für die starken Serumverdünnungen wenigstens). Wenn man aber starke Konzentrationen eines sehr wirksamen Serums benutzt, scheint es, daß eine träge Agglutination (nach 12—16 Stunden) stattfinden kann, auch in den auf 70—80° erwärmten Kulturen.

* * *

Man kann also behaupten, daß durch die Wirkung höherer Temperaturen die Agglutinierbarkeit der beweglichen Bakterien vernichtet oder wenigstens bedeutend vermindert wird. Es handelt sich immer um eine Temperatur, die 8—10° höher ist als diejenige, welche Unbeweglichkeit und Tod der Mikroorganismen verursacht, während die Agglutinierbarkeit ungestört bleibt, oder sogar erhöht wird. Und während die unbeweglich gewordenen und zerstörten Bacillen unversehrte Geißeln zeigen (noch schöner und zahlreicher vielleicht wie sonst), verschwinden sie oder sind nur als wenige zerstückelte Rumpfen zu sehen, sobald die Temperatur erreicht wird, die die Agglutination hindert oder die Desagglutination bewirkt.

Als Folge der erwähnten Tatsachen ergibt sich nachstehende Hypothese: Wenn das Phänomen der Agglutination durch die Beweglichkeit und Leben der Bakterien zerstörenden Temperaturen keine Modifikation erleidet, verschwindet es aber, sobald jene Temperatur erreicht wird, bei welcher man die Anwesenheit der Geißeln nicht beweisen kann, sollte man sie nicht mit der thermolabilen Gruppe der agglutinablen Substanz der Bakterien identifizieren?

Ohne Zweifel scheint eine solche Hypothese in den schon mitgeteilten Untersuchungen einen experimentellen Grund zu haben, und ich gestehe, einen Moment an ihre Richtigkeit geglaubt zu haben; aber weitere Untersuchungen, die sie bestätigen sollten, haben nur bewiesen, daß sie, obgleich im größten Teil richtig, der Wahrheit nicht ganz entspricht: aber darauf werde ich später im § 4 nochmals zurückkommen, nachdem ich die vergleichende Untersuchung der Wärmewirkung auf Geißeln und auf den übrigen Teil des bakterischen Körpers zu Ende gebracht haben werde.

§ 3. Einwirkung der Wärme auf die agglutininbildende und agglutininfixierende Funktion der normalen Bakterien resp. der geißellosen Bakterien und der Geißeln allein.

Es wurde zu diesen Experimenten derselbe *Bac. subtilis* benutzt, wie in den anderen Untersuchungen, als Ausgangspunkt dienten frische Agarbeläge (6—7 Stdn. bei 37° oder 12—16 Stdn. bei 20°), mit welchen folgendes hergestellt wurde:

1) Eine Emulsion von vollständigen Bacillen in sterilem Destillierwasser.

2) Eine Emulsion von geißellosen Bacillen in destilliertem Wasser in gleichen Proportionen.

3) Eine Flüssigkeit, in welcher die Geißeln vorhanden sind, die man aus einer Anzahl Bacillen abgetrennt hat, die ungefähr mit der Anzahl Bakterien übereinstimmen, die in einem gleichen Volumen der beiden anderen Emulsionen enthalten sind.

Ueber die Zubereitung dieser drei Flüssigkeiten brauche ich nicht viel zu sagen, da ich den Prozeß in meinen früheren Arbeiten eingehend beschrieben habe; nur möchte ich erwähnen, daß, nachdem man eine Emulsion der bakterischen Beläge im Wasser oder in einer physiologischen Lösung von NaCl gemacht hat, wird ein Teil davon energisch geschüttelt und zentrifugiert; auf diese Weise erhält man am leichtesten eine vollkommen klare und durchsichtige Flüssigkeit, wo die Geißeln außerordentlich zahlreich sind; die Bakterien dagegen, wovon der Bodensatz besteht, sind fast ohne Geißeln, und nach einer zweiten Abspülung und Zentrifugation werden mit einem gleichen Volumen Wasser aufgenommen.

Wenn ich der Filtration diese Methode der Abtrennung der Geißeln vorgezogen habe, geschah dies eben, weil es nur so möglich ist, das bakterische, geißellose Material zu erhalten.

XV. Experiment (26. Okt. 1904). Es werden die drei Flüssigkeiten zubereitet, die der Bequemlichkeit wegen vollständige Flüssigkeit (F.v.), Bacillenflüssigkeit (B.F.) und Geißelflüssigkeit (G.F.) genannt werden, und als Anfangsemulsion nimmt man eine solche, deren Gewicht 1 Teil bakterischer Belag und 150 Teile Wasser sind. Die drei Flüssigkeiten werden jede in 2 Eprouvetten gleichmäßig verteilt; eine Eprouvette wird 1 Stunde im Wasserbade bei der genauen Temperatur von 62° gehalten; 6 ungefähr gleich schwere Kaninchen (1500—1700 g) wurden jedes mit 2 ccm eines der so erhaltenen Präparate endoperitoneal inokuliert.

8 Tage später wiederholt man denselben Prozeß, nur in größeren Quantitäten, so daß jedes Kaninchen mit 4 ccm Material inokuliert werden kann, und wiederum 8 Tage später eine dritte Inokulation von 5 ccm der nach derselben Methode erhaltenen Materialien.

Am 8. Dez. wurde an den 6 Kaninchen ein Aderlaß ausgeführt und man untersuchte mit den gewöhnlichen makro- und mikroskopischen Methoden die agglutinierende Kraft des präparierten Serums, um die höchste Verdünnung zu bestimmen, bei welcher eine deutliche Agglutination vor sich geht, d. h. für die makroskopische Untersuchung deutliche Flockung, Klarheit der Bouillon nach 1 Stunde bei 37° und 2 Stunden bei Zimmertemperatur (oder, was noch besser ist, der Schnelligkeit und Sicherheit des Resultates wegen, nach 1 Stunde bei 60°), und für die mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen vollkommene Unbeweglichkeit mit deutlicher Klümpchenbildung nach $\frac{1}{3}$ Stunde bei 37°.

Diese höchste agglutinierende Verdünnung war also:

Für das mit nicht erwärmter F.v. inokulierte Kaninchen				$\frac{1}{7500}$
" " " auf 62°	"	"	"	$\frac{1}{1000}$
" " " nicht	B.F.	"	"	$\frac{1}{8500}$
" " " auf 62°	"	"	"	$\frac{1}{700}$
" " " nicht	G.F.	"	"	$\frac{1}{3000}$
" " " auf 62°	"	"	"	$\frac{1}{150}$

XVI. Experiment (27. Dez. 1904). Erste Inokulation an 6 Kaninchen von 3 ccm der sechs mit der gewöhnlichen Technik präparierten Flüssigkeiten.

Nach 8 und 15 Tagen zweite resp. dritte Inokulation von 4 resp. 5 ccm jeder Flüssigkeit. Aderlaß am 25. Januar.

Höchste agglutinierende Verdünnung:

Für das mit nicht erwärmter F.v. inokulierte Kaninchen				$\frac{1}{9000}$
" " " auf 62°	"	"	"	$\frac{1}{700}$ (?)
" " " nicht	B.F.	"	"	$\frac{1}{4000}$
" " " auf 62°	"	"	"	$\frac{1}{700}$
" " " nicht	G.F.	"	"	$\frac{1}{6000}$
" " " auf 62°	"	"	"	$\frac{1}{150}$

XVII. Experiment (6. Mai 1905). Die drei gewöhnlichen Flüssigkeiten werden statt in zwei in drei Teile geteilt; ein Teil wird nicht erwärmt, den zweiten erhitzt man im Wasserbad auf 60°, den dritten auf 70°, beide für 1 Stunde. Man hat so 9 Kaninchen jedes mit $1\frac{1}{2}$ ccm inokuliert.

8 und 15 Tage später zweite resp. dritte Inokulation mit 2 resp. 3 ccm jeder Flüssigkeit. Aderlaß am 28. Mai. Höchste agglutinierende Verdünnung:

Für das mit nicht erwärmter F.v. inokulierte Kaninchen				$\frac{1}{4000}$
" " " auf 60°	"	"	"	$\frac{1}{200}$
" " " 70°	"	"	"	$\frac{1}{200}$
" " " nicht	B.F.	"	"	$\frac{1}{8000}$ (?)
" " " auf 60°	"	"	"	$\frac{1}{600}$ (?)
" " " 70°	"	"	"	$\frac{1}{500}$ (?)
" " " nicht	G.F.	"	"	$\frac{1}{2000}$ (?)
" " " auf 60°	"	"	"	$< \frac{1}{100}$
" " " 70°	"	"	"	$< \frac{1}{100}$

Obgleich es in diesen Experimenten manches gibt, was nicht sehr klar ist (besonders das XVI. Experiment, wo das Kaninchenserum nach Inokulation mit erwärmter B.F. eine höhere agglutinierende Kraft besitzt als nach Inokulation mit erwärmter F.v.), ermöglichen sie uns doch — was hier wichtig ist — festzustellen, daß die Erwärmung auf 60° oder 70° die agglutininbildende Kraft der vollständigen Bacillen, sowie der geißellosen Bacillen oder der Geißeln allein ungefähr in gleichem Maße und bedeutend abschwächt¹⁾.

1) Nach Joos und anderen Autoren, die mit Typhusbacillus experimentierten, ändert die Erhitzung der Kulturen die agglutinogene Kraft, ohne sie bedeutend zu vermindern.

XVIII. Experiment (29. Okt. 1904). Eine dichte Aufschwemmung von *Bac. subtilis* (frische Kultur auf Agarplatte in einem 150-fachen Gewicht von Wasser emulsiert) wird in 5 Teile geteilt; der eine bleibt als Kontrolle, die anderen werden 1 Stunde im Wasserbad bei den Temperaturen von 60, 62, 66, 70° gehalten. Für jedes Material wird die Fixierungskraft der Agglutininen eines spezifischen, in angemessener Weise verdünnten Serums untersucht. Was die Technik des Prozesses anbelangt, brauche ich hier keine Erklärung zu geben, da ich sie in meiner anderen Arbeit beschrieben habe. Das Resultat war das folgende: 1 ccm von nicht erwärmter Emulsion erschöpfte die agglut. Kraft 1,5 ccm von Serum, 1 ccm von auf 60, 62, 66, 70° erwärmter Emulsion erschöpfte die agglut. Kraft 0,25 ccm von Serum.

XIX. Experiment (26. Jan. 1905). Untersuchung der absorbierenden Kraft der Agglutinine eines spezifischen, in angemessener Weise verdünnten Serums (1:50) durch die gewöhnlichen Flüssigkeiten F.v., B.F., G.F., in normalem Zustand und 1 Stunde im Wasserbad auf 62° erwärmt. Folgende Zahlen stellen die Aufhebung der agglutinierenden Kraft des Serums, durch 1 ccm der verschiedenen Flüssigkeiten verursacht, dar:

F.v., nicht erwärmt, erschöpfte	2,0 ccm von Serum
„ auf 62°	0,10 „ „ „
B.F., nicht	0,5 „ „ „
„ auf 62°	0,05 „ „ „
G.F., nicht	2,0 „ „ „
„ auf 62°	0,10 „ „ „

XX. Experiment (29. Febr. 1905). Wie das vorige, aber in einem anderen Serum und mit anderen in analoger Weise präparierten Materialien.

1 ccm von nicht erwärmter F.v. erschöpft die agglutin. Kraft	1,0 ccm von Serum
1 „ „ auf 62°	0,10 „ „ „
1 „ „ nicht B.F.	0,10 „ „ „
1 „ „ auf 62°	0,05 „ „ „
1 „ „ nicht G.F.	1,0 „ „ „
1 „ „ auf 62°	0,10 „ „ „

Es wird durch die Experimente XVIII—XX bestätigt, daß die Fixierung der Agglutinine insbesondere auf den Geißeln geschieht, und außerdem, daß die Erwärmung auf 62° diese Fixierungskraft der Geißeln sowie des bakterischen Körpers bedeutend vermindert.

Als Schlußfolgerung dieses zweiten Teiles meiner Arbeit kann ich also sagen, daß die Geißeln ebenso wie die übrigen Teile des Bakterienkörpers der Wirkung der Wärme auf die

Das zu kontrollieren, ging eigentlich außerhalb der Grenzen meiner Arbeit, und trotzdem, durch das Phänomen der merklichen Abschwächung der agglutinogenen Kraft befremdet, die ich bei dem erwärmten *Bac. subtilis* bemerkt hatte, wollte ich einige Untersuchungen mit *Typhusbacillus* anstellen. Und in der Tat habe ich konstatiert, daß die agglutinogene Fähigkeit dieses Mikroorganismus durch die Wärme weniger alteriert wird, als bei anderen Mikroorganismen. So zeigte ein Experiment, daß das Serum eines mit normalen Kulturen inokulierten Kaninchens in der Verdünnung 1:5000 agglutinierte, und das Serum eines anderen mit gleichen Quantitäten auf 65° erwärmten Kulturen inokulierten Kaninchens in der Verdünnung 1:3000. Ein zweites Experiment zeigte, daß:

das Serum eines mit normalen Kulturen inok. Kaninchens in der Verd.	$\frac{1}{4000}$ agglutinierte
„ „ „ „ auf 60° erwärmt. „ „ „ „ „	$\frac{1}{3500}$ „
„ „ „ „ 70° „ „ „ „ „	$\frac{1}{3000}$ „

Kein Zweifel daher, daß die Wirkung der Wärme auf die agglutinogene Substanz verschieden ist für die verschiedenen Mikroorganismen.

agglutininbildende und agglutininfixierende Kraft der beweglichen Bakterien gegenüber empfindlich sind, d. h. die thermolabile Gruppe der agglutinogenen und agglutinierenden Substanzen der Bakterien ist ein Bestandteil des Körpers sowie der Geißeln.

* * *

§ 4. Wirkung der Abtrennung der Geißeln auf den Verlauf des Agglutinationsphänomens.

Was mich zu diesen Untersuchungen veranlaßte (wie ich es schon erwähnt habe), war der Wunsch, festzustellen, ob das Fehlen der Agglutinabilität der erhitzten Bakterien dem Verlust der Geißeln und sonst keiner anderen Wirkung der Wärme zuzuschreiben wäre; sie sind doch auch interessant, da sie den Mechanismus der Agglutination erklären. Für die mit der bakteriologischen Technik Vertrauten ist es schon bekannt, daß die mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen von wenn auch frischer Agarkultur einiger Mikroorganismen (unter anderen des Typhusbacillus und des *Bac. subtilis*) sehr bewegliche Bacillen zeigt, wenn die Dilution in Bouillon oder in hypertonischer Lösung von Kochsalz geschieht; die Bacillen zeigen dagegen keine oder nur geringe Beweglichkeit, wenn sie in Wasser aufschwimmen, nur im Fall einer sehr dichten Emulsion zeigen sie sich noch für lange Zeit beweglich.

Und doch, fängt man mit Typhus- oder *Bac. subtilis*-Kulturen auf frischen Agarplatten an, und die Beläge werden in kleinen Mengen Wasser verdünnt (100—150-faches Gewicht), so erhält man eine dichte, weiße Emulsion, wo die Untersuchung im hängenden Tropfen eine bakterische, sich sehr lebhaft bewegende Masse zeigt; die Beweglichkeit hört lange noch nicht auf, wenn man die Emulsion gegen die Evaporation schützt. Wird aber ein Teil dieses Präparates in eine mit Glasstöpsel geschlossene Epruvette gebracht, und man schüttelt dieselbe 10 bis 15 Minuten lang, so zeigt die mikroskopische Untersuchung, daß die Kultur absolut unbeweglich ist. Auf demselben Glas gemachte Präparate zeigen am deutlichsten mit zahlreichen Geißeln versehene Bacillen in der beweglichen Emulsion (wenn die Kultur ziemlich frisch war), in der geschüttelten Emulsion dagegen geißellose Bacillen und viele abgetrennte Geißeln¹⁾. Das Experiment ist sehr einfach, und man kann sich sehr leicht zwei ganz gleiche bakterische Emulsionen verschaffen, die ebenso lange mit der Flüssigkeit in Berührung gekommen sind, mit dem einzigen Unterschied, daß die eine Emulsion 10—15 Minuten lang geschüttelt worden ist; die Resultate sind bedeutend verschieden, da in der einen die Bacillen beweglich und geißelt sind, in der anderen unbeweglich und geißellos. Mit diesen zwei Materialien habe ich zahlreiche Experimente gemacht; von den erhaltenen, übereinstimmenden Resultaten teile ich einige mit.

XXI. Experiment (17. April 1905). Aufschwemmung von *Bac. subtilis*, sehr beweglich, mit Zusatz von agglutinierendem Serum in der Verdünnung 1:1000, bei 37° gehalten; vollständige Agglutination nach 15 Minuten; dieselbe Emulsion geschüttelt, agglutiniert auch, aber erst nach 2 Stunden.

1) Man muß aufpassen, daß keine Spur von Nährsubstanz oder Kondensationsflüssigkeit u. s. w. mit der Kultur zusammen transportiert wird, da sie beim Schütteln einen die Abtrennung der Geißeln wirkenden Schaum bilden würden. Eine allzu große Verdünnung des bakteriischen Materials ist auch zu vermeiden, da in diesem Fall die Mikroorganismen die Geißeln auch ohne das Abschütteln verlieren.

XXII. Experiment (15. Mai 1905). Aufschwemmung von *Bac. subtilis*, beweglich und durch Aufschütteln unbeweglich gemacht, in verschiedenen Eprouvetten mit agglutinierendem Serum behandelt, in den Proportionen $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{500}$, $\frac{1}{1000}$ und bei 37° gehalten. Nach 10 Minuten ist die Agglutination in den beweglichen mit $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{500}$ von Serum behandelten Emulsionen eine sehr deutliche, in denjenigen mit $\frac{1}{1000}$ behandelten sehr schwach; die unbeweglichen Emulsionen sind vollkommen trübe, nach 5 Viertelstunden sind alle agglutiniert.

XXIII. Experiment (25. Mai 1905). Aufschwemmung von *Typhusbacillus*, beweglich und unbeweglich gemacht, mit einer Verdünnung $\frac{1}{500}$ von Serum (das in der Verdünnung $\frac{1}{3000}$ noch agglutiniert) behandelt und in Zimmertemperatur gehalten (18°). Nach 15 Minuten ist die bewegliche Aufschwemmung vollkommen agglutiniert, in der anderen beginnt die Agglutination erst nach 1 Stunde, und vor 3 Stunden ist sie nicht vollkommen.

XXIV. Experiment (28. Mai 1905). Die beiden Aufschwemmungen vom *Typhusbacillus* in einem 5-fachen Volumen Bouillon verdünnt. Die nicht aufgeschüttelte Aufschwemmung behält ihre Beweglichkeit. Diese Verdünnung habe ich zubereitet, um eine an Mikroorganismen weniger reiche Flüssigkeit zu haben und eine höhere Serumverdünnung benutzen zu können. Nach Behandlung mit Serum in der Proportion 1:2000 werden die beiden Flüssigkeiten im Zimmer gehalten (20°); die bewegliche Kultur zeigt schon nach 30 Minuten eine leichte Flockung, die nach 1 Stunde sehr deutlich wird; nach $1\frac{1}{2}$ Stunden ist die Flüssigkeit vollkommen klar geworden, während die andere nach $3\frac{1}{2}$ Stunden noch homogen trübe ist.

Es geht aus den Experimenten XXI—XXIV deutlich hervor, daß im Agglutinationsphänomen die einfache Tatsache der Geißelabtrennung als Folge einer mechanischen Einwirkung und keiner anderen durch die Wärme oder irgend einer anderen Ursache hervorgerufenen Modifikation eine bedeutende Verspätung und eine geringere Empfindlichkeit der Bakterien bewirkt — eine Behinderung aber nicht. Und doch ist die Tatsache, daß die erwärmten Bakterien ihre Agglutinierbarkeit verlieren, nicht auf den Verlust der Geißeln ausschließlich zurückzuführen; man muß annehmen, daß die Wärme zu gleicher Zeit mit ihrer Abtrennung oder Auflösung irgend eine andere Modifikation verursacht, welche in der Verhinderung der Agglutinabilität eine bedeutende Rolle mitspielt.

§ 5. Schlußfolgerungen.

Den schon bewiesenen und in der Einleitung dieser Arbeit schon erwähnten Tatsachen über die Funktion der Geißeln bei der Agglutinationserscheinung der beweglichen Bakterien muß man die folgenden hinzufügen:

1) Die einfache Abtrennung der Geißeln, wenn die übrigen Bedingungen der Kulturen unverändert bleiben, verzögert das Eintreten der Agglutination, ohne sie zu verhindern.

2) Die Agglutinierbarkeit der beweglichen Bakterien kann durch die

Hitze aufgehoben oder wenigstens bedeutend vermindert werden (für die verschiedenen Bakterienarten eine verschiedene Temperatur).

3) Der Verlust der Agglutinierbarkeit bei den beweglichen Bakterien ist von der Aufhebung der Beweglichkeit oder von der Zerstörung der Bakterien ganz und gar unabhängig, da gewöhnlich die Sterilisationstemperatur der Kulturen die günstigste ist für das Eintreten der Agglutination¹⁾.

4) Die Aufhebung der Agglutinierbarkeit und das Verschwinden der Geißeln treffen, wie es scheint, zusammen, jedoch nach dem, was man im Schluß 1 gesagt hat, ist es nicht als ein absolutes Verhältnis von Ursache und Wirkung so ohne weiteres zu betrachten; es ist eher möglich, daß durch Einwirkung einer und derselben Temperatur die agglutinable Substanz des bakterischen Protoplasmas inaktiviert wird und die Geißeln zerstört oder bedeutend alteriert: Zwei Tatsachen, welche die Nichtagglutinierbarkeit der Bakterien bestätigen.

5) Auch das agglutininbildende und das agglutininfixierende Vermögen der Bakterien wird durch eine bestimmte Temperatur vermindert, und eine solche Verminderung wirkt auf die Geißeln ebenso wie auf die übrigen Teile des bakterischen Körpers.

6) All diese Analogieen im Verhalten der Geißeln und des Bakterienkörpers der Einwirkung der Hitze gegenüber scheinen ein sehr gutes Argument zu Gunsten der Hypothese der protoplasmatischen Natur der Geißeln zu sein.

Auf Grund der hier angegebenen Schlüsse sei es mir erlaubt, eine Erklärung des Agglutinationsmechanismus vorzuschlagen, die mir sehr natürlich erscheint, da man dadurch im stande wäre, über verschiedene bekannte, aber noch nicht gut interpretierte Tatsachen ins klare zu kommen. Eine solche Aufklärung besteht hauptsächlich darin, daß man die Hypothese der Zusammensetzung der Bakterienzelle aus einer Membran annimmt, welche in den unbeweglichen Keimen ganz wäre, in den beweglichen dagegen eine oder mehrere Oeffnungen hätte, durch welche ebensoviele protoplasmatische Anhängsel herausgehen würden — d. h. die Geißeln (cf. 6. Schlußfolgerung). Nach dieser Voraussetzung sollte man auch annehmen, daß die spezifische agglutininbildende und agglutininfixierende Funktion dem bakterischen Protoplasma zuzuschreiben ist, während die Membran ein Hindernis für die Fixierung der Agglutinine durch das Protoplasma und für die Explikation jener molekularen Anziehungskraft bildet, welcher man die Gruppierung der Bakterienzellen verdankt — d. h. das Phänomen der Agglutination.

Nimmt man diese Tatsache als richtig an, so werden hierdurch viele Erscheinungen erklärt. Und vor allem zeigt sich als natürliche Folgerung die Erklärung des Anteils an dem agglutininbildenden Vermögen von

1) Infolge dieser sicheren Bestätigung (die Weills Beobachtungen vervollkommen) war ich im stande, die Einwirkung dieser Temperaturen, die die Kulturen sterilisieren und ihre Agglutinierbarkeit begünstigen, zur Vorbereitung eines diagnostischen Mittels anzuwenden, das sich lange aufbewahren läßt und das so viel gerühmte Fickersche Typhusdiagnostikum am besten ersetzen kann (vergl. meine Arbeit: Ueber die Zubereitung haltbarer Kulturen für den serodiagnostischen Wert [Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Bd. XL. 1906. p. 426]).

den Geißeln (die ganz und gar aus agglutinogener Substanz bestehen) und vom Körper (der auch, zum Teil wenigstens, aus agglutinogener Substanz besteht), während die Fixierung der Agglutinine durch die Geißeln energischer geschieht als durch das bakteriische Protoplasma; und das ist leicht erklärlich, da die ersten frei sind und das andere ist fast ausschließlich durch die Membran gegen die Einwirkung der Agglutinine geschützt.

In den beweglichen, normal gezeißelten Mikroorganismen haben wir also ein außerhalb der Membran sich ausdehnendes bakterisches Protoplasma, das dem Agglutinin ein weites Wirkungsfeld bietet; andererseits aber üben die molekularen zu der Agglutination führenden Wirkungen ihren Einfluß (zum Teil wenigstens) auf diese freien protoplasmatischen Anhängsel aus; also eine doppelte Bedingung, welche die hohe Empfindlichkeit der beweglichen Bakterien den Agglutininen gegenüber erklärt, sowie die Verzögerung, welche die mechanische Abtrennung der Geißeln auf das Eintreten der Agglutination bewirkt.

Bei den unbeweglichen Bakterien dagegen bildet die Membran ein großes Hindernis gegen die Fixierung der Agglutinine durch das bakteriische Protoplasma und zweitens gegen das Eintreten von Erscheinungen molekularer Anziehung zwischen den verschiedenen protoplasmatischen Massen; daher die geringe Agglutinierbarkeit der unbeweglichen Mikroorganismen, die eigentlich nicht einem Mangel des Serums an Agglutininen zuzuschreiben wäre, sondern vielmehr einer größeren Schwierigkeit, die sie überwinden soll, um ihren Einfluß ausüben zu können.

Unsere Hypothese erklärt vollständig die Tatsache, daß die Verminderung des agglutininbildenden und agglutininfixierenden Vermögens der Bakterien durch die Hitze sich auf die Geißeln wie auf den bakteriischen Körper zeigt. Und auch die andere Tatsache der Identität der Temperatur, welche die Agglutinierbarkeit der Bakterien verhindert oder ganz gering macht und das Verschwinden der Geißeln verursacht, wird durch eine tiefe Alteration des bakteriischen Protoplasmas erklärt, welche den endocellulären Teil unagglutinabel macht und die Disgregation des extracellulären Teiles hervorruft oder wenigstens eine solche Veränderung, die die Färbung unmöglich macht.

Man hat also, daß die beweglichen erwärmten Mikroorganismen ungefähr zu denselben Umständen der unbeweglichen geißellosen Keime zurückgeführt werden; aber andererseits erleiden sie eine Verminderung der Agglutinabilität, die den Modifikationen des endocellulären Protoplasmas zuzuschreiben ist.

Die meinige ist also nur eine Hypothese, deren Richtigkeit bestätigt werden kann; es sei mir doch erlaubt, nochmals zu sagen, daß es sich um eine Hypothese handelt, welche uns eine leichte Erklärung vieler schon wohlbekannter Tatsachen bietet, sie in einem logischen Verhältnis zusammenstellt, so daß wir eine einfache Erklärung des Agglutinationsmechanismus der beweglichen und unbeweglichen Bakterien damit erhalten.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Agglutinierbarkeit von Kapselbacillen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.
(Direktor: Prof. R. Pfeiffer).]

Von Privatdozent Dr. **Hermann Streit**.

Des öfteren ist bereits von verschiedenster Seite die Frage ventilirt worden, worin die Ursache für die fehlende, mangelhafte oder doch unsichere Agglutinabilität von Kapselbacillen zu suchen sei. Anscheinend hat letzthin die Ansicht an größerer Wahrscheinlichkeit gewonnen, daß die Ursache nicht darin liege, daß die Kapselbacillen im Tierkörper nicht Agglutinine zu bilden vermögen, sondern daß die Bakterienstämme selbst mehr oder weniger inagglutinabel seien. Daß die Kapselbildung als solche wahrscheinlich in irgend einer Weise hierfür verantwortlich gemacht werden müsse, diskutiert zunächst Paltauf (1): „Bei den so schwer agglutinablen Bacillen wäre an einen Widerstand der Schleimhüllen zu denken, welchen dieselben entweder der Bindung resp. der Penetration des Agglutinins resp. der Verklumpung setzen.“ Hierfür scheinen mir auch die Resultate der auf den Paltauf'schen Erwägungen basierenden Arbeit von Porges (2) zu sprechen, der durch Befreiung der Kapselbacillen von ihren Schleimhüllen nach einer Methode, auf die ich noch zurückkomme, die Agglutinabilität zu erhöhen suchte.

Ich selbst habe mich gleichfalls seit längerer Zeit mit diesem Thema beschäftigt zwecks einer Arbeit, ob es etwaige brauchbare differentialdiagnostische Unterschiede zwischen Sklerom und Friedländer-Bacillen gibt, und möchte in kurzem, ohne auf die letztere an dieser Stelle zu weit führende Diskussion einzugehen, meine in der Frage über die Gründe der mangelhaften Agglutinabilität der Kapselbacillen gewonnenen Resultate in folgendem referieren.

Zunächst versuchte ich der Frage näherzutreten, ob die Kapselbacillen überhaupt im Tierkörper Agglutinine zu bilden vermögen, oder ob etwa die Schleimhüllen dieser Bacillen dies zu verhindern im stande sind. Von diesen Erwägungen ausgehend, kam es für mich also darauf an, die Kapseln der zur Immunisierung benutzten Stämme vor der Injektion entweder zu lösen oder derart zu modifizieren, daß eine vollkommene Auslaugung und mithin Resorption der Bakterienbestandteile im Tierkörper möglich wurde. Von dieser Absicht geleitet, behandelte ich zunächst — hierbei meist den Anleitungen von Herrn Dr. Friedberger folgend, dem ich sowohl hierfür als für das stete Interesse und die Hilfe bei meinen Untersuchungen zu großem Danke verpflichtet bin — die zur Immunisierung benutzten Stämme vor ihrer Einverleibung in den Tierkörper auf die verschiedenste Weise. Da ich abgetötete Stämme zur Immunisierung benutzte, änderte ich zunächst die Art der Abtötung dieser Kulturen. So fand die Sterilisierung teilweise durch Hitze, zum Teil durch Licht, zum Teil durch Chloroformdämpfe statt. Die sterilisierten Emulsionen in 0,8-proz. Kochsalzlösung wurden angesäuert oder alkalisch gemacht. Sie wurden entweder sofort injiziert, oder nachdem sie 2—10, meistens 4—8 Tage bei 37° im Brutschrank aufbewahrt waren. Bei den letzten Versuchen war der Gedanke maßgebend, daß durch diese mehrtägige Aufbewahrung der abgetöteten Kulturen im 37°-Schrank vielleicht infolge eintretender Autolyse ein Zerfall der Schleimhüllen der

benutzten Stämme und mithin ein vollkommeneres Freiwerden der Antigene eintreten könne. Doch führten alle diese Versuche zu keinem Resultate; es verlohnt sich nicht, sie im Detail zu referieren. In der Folge gab ich sie auf und wandte mich der zweiten Frage zu, ob die Ausflockung durch mehr oder weniger refraktäres Verhalten der zu agglutinierenden Bakterienstämme verhindert werde und worin die Ursache hierfür zu suchen sei. Aus den nachstehenden Gründen verfiel ich nun auf den Gedanken, daß die Bakterienhülle die Ausflockung der Bakterien verhindern dürfte.

Es fiel mir nämlich auf, daß die makroskopisch trockner wachsenden Stämme relativ höhere Agglutinationswerte zeigten, als die stark schleimigen Kulturen. Als Versuchstiere benutzte ich Kaninchen und Hühner; denselben wurden abgetötete Bakterienemulsionen intravenös beigebracht. Und zwar hatte ich zufälligerweise bei den Kaninchenversuchen nur trockene Friedländer-Stämme und stark schleimige Skleromstämme verwandt, so daß ich zunächst infolge meines einseitigen Bakterienmaterials zu der Ansicht gelangte, daß die Friedländer-Stämme an sich etwas agglutinabler seien und ohne wesentlichen Unterschied sowohl durch Serum von Sklerom- wie Friedländer-Tieren agglutiniert werden, während die Skleromstämme und zwar in geringerem Maße nur durch ihr spezifisches Serum beeinflusst wurden. Die zum Versuche benutzten Bakterienemulsionen wurden den betreffenden Tieren stets intravenös beigebracht. Ich führe die nachstehenden Beispiele an.

I. Kaninchen I nach 2maliger intravenöser Injektion von 2 resp. $1\frac{1}{2}$ ccm einer starken F_3 -Emulsion in einem Zeitraum von 14 Tagen.

Versuch am 20. XI. 1904.

$$\text{Ser. } F_3 \left\{ \begin{array}{l} F_3 = \frac{1}{20} + \frac{1}{40} +; \frac{1}{80} \text{ bis } \frac{1}{640} - \\ F_2 = \frac{1}{20} + \frac{1}{40} +; \frac{1}{80} \text{ bis } \frac{1}{640} - \\ S_1 = \frac{1}{20} \text{ bis } \frac{1}{640} - \\ S_2 = \frac{1}{20} \text{ bis } \frac{1}{640} - \end{array} \right.$$

Das Blut zu diesem Versuch war bei der Sektion dem am selben Tage gestorbenen Tiere entnommen. Ein Versuch mit dem 11 Tage vor dem Tode, 8 Tage nach der zweiten Immunisierung entnommenen Serum hatte folgende Resultate ergeben: Ser. F_3 — $F_3 = \frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$; $\frac{1}{160}$ bis $\frac{1}{640} -$. Normalserum hatte in Verdünnung von $\frac{1}{20}$ die beiden Friedländer-Stämme nicht beeinflusst. Es war demnach anscheinend bereits nach 11 Tagen eine Verminderung der Agglutinationskraft für den homologen Stamm eingetreten. Doch ist es andererseits nicht unmöglich, daß diese geringe Variierung der Agglutinationsgrenze für einen Stamm durch die Art des Wachstums dieser Kultur selbst zu erklären ist. Ich komme hierauf noch an anderer Stelle zurück.

II. Kaninchen 4 nach 2-maliger intravenöser Injektion von $\frac{1}{2}$ resp. $1\frac{1}{2}$ ccm einer starken S_1 -Emulsion innerhalb eines Zeitraumes von 14 Tagen.

$$\text{Ser. } S_1 \left\{ \begin{array}{l} S_1 = \frac{1}{20} +; \frac{1}{40} \text{ bis } \frac{1}{640} - \\ S_2 = \frac{1}{20} +; \frac{1}{40} \text{ bis } \frac{1}{640} - \\ F_2 = \frac{1}{20} +; \frac{1}{40} \text{ bis } \frac{1}{640} - \\ F_3 = \frac{1}{20} \text{ bis } \frac{1}{40} +; \frac{1}{80} \text{ bis } \frac{1}{640} - \end{array} \right.$$

Nach einmaliger Injektion war S_2 bis $\frac{1}{40}$, F_2 bis $\frac{1}{80}$, F_3 bis $\frac{1}{40}$ agglutiniert worden, während Normalserum F_3 und F_2 bis $\frac{1}{20}$ agglutinierte und bei S_1 und S_2 in Verdünnung von $\frac{1}{20}$ noch keine Zusammenklumpung hervorrief. Nach 3maliger Immunisierung wurden S_1 , S_2 , F_2 , F_3 in Verdünnung von $\frac{1}{20}$ überhaupt nicht agglutiniert. So

mit war in diesem Falle durch wiederholte Immunisierung keine Erhöhung der Agglutinationswerte, sondern anscheinend sogar eine Herabsetzung derselben eingetreten. Wenigstens scheint die progressive Abnahme der Agglutinationskraft des nach 3maliger Immunisierung des betreffenden Tieres gewonnenen Serums gegenüber dem nach 1- resp. 2maliger Immunisierung enthaltenen hierfür zu sprechen. Die Möglichkeit, daß hier ähnliche Verhältnisse vorliegen könnten, wie ich sie bei Fall I diskutierte und als denkbar hinstellte, erscheint deshalb weniger wahrscheinlich.

Irgend welche praktische Bedeutung diesen Versuchen beizumessen, war jedoch naturgemäß schon deswegen nicht angängig, weil die erhaltenen Werte selbst für die Friedländer-Stämme mit über 1:80 herausgingen und normales Kaninchenserum beide Stämme bisweilen in der Verdünnung von $\frac{1}{20}$ zusammenklumpte. Anders wurde mit einem Schläge das Bild, als ich durch die Güte der Herren Professoren Hoffmann-Leipzig, Hueppe-Prag, Paltauf und Hermann v. Schrötter-Wien in den Besitz trocken wachsender Sklerom-, wie stark schleimiger Friedländer-Stämme gekommen war. Mittlerweile hatte ich übrigens auf weitere Fortführung der Kaninchenimmunisierung verzichtet, da, wie erwähnt, selbst für meine anscheinend ziemlich gut agglutinablen Friedländer-Stämme die erhaltenen Agglutinationshöhen viel zu gering waren und sich bei weiterer Fortführung der Immunisierung desselben Tieres nicht erhöhten. Deshalb wechselte ich die Versuchstiere und benutzte fernerhin Hühner. Hierbei stellte es sich heraus, daß eine relativ leichtere Agglutinabilität nicht etwa für die Friedländer-Stämme im Gegensatz zu den Skleromstämmen spezifisch sei, sondern daß hier wie dort einige Kulturen agglutinabler, andere wenig oder gar nicht agglutinabel sind.

Und zwar ließ sich hier wie dort feststellen, daß schon makroskopisch die sich leichter agglutinierenden Stämme durch trockneres Wachstum von den schleimiger wachsenden, nicht agglutinablen herauszuerkennen waren. Mikroskopisch zeigten die schleimig wachsenden Kulturen sämtlich gut ausgeprägte Kapselbildung und typische Form der Bakterien, die trockneren dagegen ließen sich entweder schwerer färben, die Kapseln traten undeutlicher, zum Teil gar nicht hervor, oder die charakteristische Form der Bakterien war mehr oder weniger verloren gegangen.

Normales Hünerserum	}	F ₁ = $\frac{1}{20}$ +; $\frac{1}{40}$ bis $\frac{1}{100}$ -
		F ₂ = $\frac{1}{20}$ +; $\frac{1}{40}$ +; $\frac{1}{80}$ bis $\frac{1}{160}$ -
		F ₃ = $\frac{1}{20}$ +; $\frac{1}{40}$ +; $\frac{1}{80}$ bis $\frac{1}{160}$ -
		F ₄ = $\frac{1}{20}$ +; $\frac{1}{40}$ +; $\frac{1}{80}$ bis $\frac{1}{160}$ -
		F ₅ = $\frac{1}{20}$ +; $\frac{1}{40}$ +; $\frac{1}{80}$ bis $\frac{1}{160}$ -
		F ₆ = $\frac{1}{10}$ +; $\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{640}$ -
		F ₇
		F ₈
		F ₉
		F ₁₀
		F ₁₁
		F ₁₂
		F ₁₃
		F ₁₄
		F ₁₅ = $\frac{1}{20}$ +; $\frac{1}{40}$ bis $\frac{1}{160}$ -

Diese Parallele zwischen trocknerem Wachstum und stärkerer Agglutinabilität der Bakterien stellte sich bisweilen auch schon normalem Hühnerserum gegenüber heraus. Als Beispiel führe ich Huhn VII an und bemerke, daß F_2, F_3, F_4, F_5 trocken, F_1, S_5 ziemlich trocken, F_8, F_9, S_3 schleimig, $F_6, F_7, F_{10}, F_{11}, F_{12}, S_1, S_2, S_4, S_6, S_7, S_9$ sehr schleimig wuchsen.

Mikroskopisch zeigten $F_6, F_7, F_8, F_9, F_{10}, F_{11}, F_{12}, S_1, S_2, S_3, S_4, S_6, S_7, S_8, S_9$ bei Löffler-Färbung typische Form und deutliche Kapselbildung, bei F_1, F_4, F_2 war die Form schmaler, es ließen sich keine deutlichen Kapseln erkennen, F_5 war mehr kokkenartig, Kapseln waren nicht nachweisbar, S_5 und F_3 zeigten zwar typische Form, jedoch nur zum Teil Kapseln, überdies waren sie sehr schlecht färbbar. Woran es lag, daß einzelne der Friedländer- und Skleromstämme, nämlich die stärker agglutinabeln, die typische Schleimbildung nicht so deutlich zeigten wie die anderen, konnte für alle Stämme nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden. Einige der trockenen Stämme waren relativ alt; vielleicht, daß durch das langdauernde Wachstum auf künstlichen Nährböden bedingte Degenerationserscheinungen hierfür heranzuziehen sind. Hierzu steht auch die Ansicht Defalles (3) in Einklang, der behauptet, daß Friedländer-Bacillen durch langes Wachstum ihre Kapseln verlieren können. Beiläufig möchte ich nur an dieser Stelle erwähnen, daß es mir gelang, bei sehr trocken wachsenden Stämmen durch Tierpassage wieder Schleimbildung zu erzeugen, so daß die ursprüngliche Kultur im Deckglaspräparat der aus dem Tier gewonnenen vollkommen unähnlich war, indem die erstere kapsellose Stäbchen zeigte, die letztere die typische Form der Schleimbacillen mit ausgeprägter Kapselbildung erkennen ließ.

Es würde diese Beobachtung, daß einzelne alte Stämme relativ hoch agglutinierten, auch gut mit der an Typhusstämmen gemachten übereinstimmen. Denn, wie bekannt, ist die Erfahrung, daß bisweilen alte Laboratoriumstämme besser agglutiniert werden als frisch gewonnene und daß die letzteren durch längere Züchtung agglutinabler werden können, für diese Bakterien kein Novum (Paltauf). Im Gegensatz hierzu steht die Ansicht Defalles, zu welcher der Autor auf Grund seiner Untersuchungen kam, daß nämlich Friedländer-Serum den mit gut ausgeprägter Kapsel versehenen *Bacillus caps.* Herba 15mal so gut wie den eigenen kapsellosen Stamm agglutinierte. Hieraus schloß D., daß die durch lange Kultur kapsellos gewordenen Bacillen relativ wenig agglutinabel seien. Diese Schlußfolgerung erscheint mir schon deswegen nicht beweiskräftig, weil D. nicht kapsellose Friedländer-Bacillen mit mit Kapseln versehenen Friedländer-Bacillen, sondern einer anderen Species gegenüberstellte.

Was die Frage betrifft, ob eine Parallele zwischen Avirulenz und stärkerer Agglutinabilität meiner benutzten Sklerom- und Friedländer-Stämme bestehe, so sind die an weißen Mäusen gewonnenen Resultate zwar nicht völlig eindeutig, lassen jedoch immerhin an die naheliegende Wahrscheinlichkeit eines Zusammenhanges zwischen beiden Eigenschaften denken. 2 Normalösen Kultur, an der Schwanzwurzel beigebracht, tötete nämlich eine weiße Maus in 24 Stunden, wenn $F_5, F_7, F_8, F_9, F_{11}, F_{12}, S_2$ benutzt wurde, in 48 Stunden bei Anwendung von S_1, S_4 , nach 72 Stunden bei $F_2, F_6, F_{10}, S_7, S_8$, nach 80 Stunden bei S_3, S_6 . Die mit F_1, F_3, F_4, S_5 geimpften Tiere bleiben am Leben.

Mithin waren 4 von den 6 am stärksten agglutinabeln Stämmen auch die avirulentesten, nämlich F_3, S_5, F_1, F_4 , einer F_2 war gleichfalls

relativ wenig virulent, der 6. dagegen, F₅, hatte das Versuchstier bereits nach 24 Stunden getötet. Trotzdem nun bei der F₅-Maus, ebenso wie bei sämtlichen anderen eingegangenen Mäusen Schleimhautbacillenkultur aus dem Herzblut gezüchtet werden konnten, dürften in diesem Falle doch besondere Verhältnisse vorgelegen haben. Denn 3 mit F₅ infizierte Kontrollmäuse waren eine Woche nach der Impfung noch am Leben, trotzdem einer von ihnen die doppelte Dosis (2 Normallösen) an der Schwanzwurzel beigebracht war.

Fußend nun auf dem Resultat, daß die trocken wachsenden Kapselbacillenstämme im allgemeinen agglutinabler waren als die schleimig wachsenden, versuchte ich durch veränderte Wachstumsbedingungen meine schleimigen Stämme trockener zu züchten, die Entwicklung der Bakterienkapseln nach Möglichkeit zu hemmen. Und zwar züchtete ich 1) die zum Versuch benutzten Bakterienstämme auf verschiedenen Nährböden, gewöhnlichem Agar, Glycerinagar, alkalischem Agar, saurem Agar, Hammelserum, saurem und leicht alkalischem Kartoffelagar, Kartoffeln; 2) ließ ich sie bei niederen Temperaturgraden wachsen. Auf gewöhnlichem Agar, Glycerinagar, alkalischem Agar, saurem Agar, Hammelserum, ließen sich eingreifende Unterschiede nicht nachweisen, nur wurden bisweilen aus irgend welchen Gründen ganz geringe unwesentliche Verschiedenheiten in der Agglutinationshöhe bei einzelnen Stämmen beobachtet. Ich führe folgendes Beispiel an.

Huhn I (nach 3maliger, innerhalb eines Zeitraumes von 4 Monaten stattgefundenener Injektion von je 1,0, 0,8 und 1,0 ccm einer starken F₃-Emulsion).

		Agarkulturen	Hammelserumkulturen	
Ser. F ₃	F ₃	= 1/30 bis 1/40 +; 1/80 bis 1/640 —	1/30 bis 1/80 +; 1/180 bis 1/640 —	
	F ₈	= 1/30 bis 1/80 + 1/160 bis 1/320 +; 1/640 —	1/30 bis 1/80 + 1/160 +; 1/320 bis 1/640 —	
	F ₁₀	} = 1/30 bis 1/640 —	} 1/20 bis 1/640 —	
	S ₁			
	S ₃			= 1/30 +; 1/40 bis 1/640 —
S ₅	= 1/30 + 1/40 +; 1/80 bis 1/640 —			1/30 +; 1/40 bis 1/640 —
	S ₇	= 1/30 bis 1/640 —	1/30 +; 1/40 bis 1/640 —	

Wie man sieht, waren die Stämme F₃ und S₇, wenn sie auf Hammelserum gezüchtet waren, um ein geringes höher agglutiniert als beim Wachstum auf gewöhnlichem Agar, während beide Stämme im Wachstum selbst auf diesen Nährböden keine wesentlichen Verschiedenheiten zeigten.

Doch waren naturgemäß die erhaltenen Differenzen viel zu gering, um irgend welche Folgerungen aus ihnen ziehen zu können. Wesentlich anders wurden die Verhältnisse, wenn man auf Kartoffeln oder Kartoffelagar gewachsene Stämme zur Agglutination benutzte, resp. die Wachstumsbedingungen bei gewöhnlicher Agarkultur änderte.

Ich züchtete z. B. meine Stämme bei niederer Temperatur, und zwar benutzte ich Temperaturgrade von 8—12°, 12—17°, 11°. Hierbei stellte es sich heraus, daß, sobald die bei niederen Temperaturen gezüchteten Stämme trockener wuchsen als bei 37° kultivierte Agarkulturen, sie relativ besser als diese agglutiniert wurden. Der im nachstehenden wiedergegebene Versuch illustriert beispielsweise das vorher skizzierte Resultat.

Huhn V nach 2maliger Immunisierung mit je 0,8 und 2,0 ccm einer starken S₂-Emulsion innerhalb eines Zeitraumes von 1½ Monat.

	Agarkulturen, bei 37° gewachsen	9 Tage alte Agarkulturen, bei 11° im Dunkeln gewachsen ¹⁾	
Ser. S ₂	S ₁ S ₂ S ₃ S ₄ S ₅ S ₆ S ₇ F ₁ F ₂ F ₃ F ₄ F ₅ F ₆ F ₇ F ₈ F ₉ F ₁₀ F ₁₁ F ₁₂	<p>1/20 bis 1/640 —</p> <p>1/20 +; 1/40 bis 1/640 — 1/20 bis 1/80 +; 1/160 bis 1/640 — 1/20 bis 1/640 + Kochsalzkontrolle —</p> <p>1/20 bis 1/640 —</p> <p>1/20 bis 1/40 +; 1/80 bis 1/640 — 1/20 + 1/40 +; 1/80 bis 1/640 —</p>	<p>.</p> <p>1/20 bis 1/80 +; 1/160 bis 1/640 — 1/20 bis 1/80 +; 1/160 bis 1/640 —</p> <p>1/20 bis 1/320 +; 1/640 — 1/20 bis 1/80 +; 1/160 bis 1/640 —</p> <p>1/20 +; 1/40 bis 1/640 —</p> <p>1/20 bis 1/40 +; 1/80 bis 1/640 — 1/20 bis 1/80 +; 1/160 bis 1/640 — 1/20 bis 1/40 +; 1/80 bis 1/640 —</p>

Was das Wachstum der zum Versuch benutzen, bei 11° kultivierten Stämme betrifft, so waren F₃, F₆, F₇, F₁₀, S₁, S₂, S₄, S₆ überhaupt nicht merklich gewachsen. Alle übrigen Kulturen sahen nicht so zäh schleimig wie gewöhnlich aus, sondern waren trockener, in der Farbe porzellanähnlich. Mit Löffler gefärbt, präsentierten sich S₃, F₁₂, S₅ als schlanke Stäbchen, F₂ als feine dünne Stäbchen, ein Wirrwarr von Fadennetzen bildend, F₄ als mitteldicke, mittellange, von der Norm bedeutend abweichende Bacillen, F₅ als dickere oder dünnere, vollkommen uncharakteristisch degenerierte Stäbchen, S₇ als etwas dünnere, doch an die gewöhnliche Form erinnernde Stäbchen. Bei F₁₁ zeigten die meisten Individuen die alte Form und Anklingen an Kapselbildung, daneben war eine Anzahl dünnerer und längerer Exemplare vorhanden. Ähnlich wie bei Züchtung bei niedriger Temperatur waren die Resultate der Kultivierung auf Kartoffelagar bei Körpertemperatur (37°). Als Kartoffelagar wurde eine aus 470 g Wasser, 30 g geriebener Kartoffeln und 10 g Agar hergestellte Masse bezeichnet, die in gewöhnlicher Weise sterilisiert und in Röhren gegossen war. Ein Teil der benutzten Kartoffelagarmasse wurde außerdem noch leicht sauer gemacht. Man bekam auf die vorher skizzierte Weise glatte Oberflächen, auf die leicht abgeimpft werden konnte, und außerdem wuchsen die Kulturen besser als auf Kartoffeln. Ich führe für das Wachstum auf Kartoffelagar folgendes Beispiel an.

Huhn VI nach einmaliger Immunisierung mit 1 1/2 ccm einer starken F₁₂-Emulsion. Bei einem Parallelversuch mit S₇ (Huhn VII) kam annähernd dasselbe Resultat heraus; es erübrigt deswegen, denselben im Detail anzuführen (s. Tabelle p. 715).

Mithin waren sämtliche Stämme, mit Ausnahme von F₄, F₅ und S₅, wenn sie auf Kartoffelagar gezüchtet waren, höher agglutiniert als beim Wachstum auf gewöhnlichem Agar. Letztere 3 Stämme wurden bereits, auf gewöhnlichem Agar kultiviert, durch recht starke Serumverdünnung zusammengeklumpt. Bei dem vorher erwähnten Parallelversuch mit G₇ (Huhn VII) ergaben gleichfalls die Kartoffelagarkulturen fast durch-

1) Man mußte die bei 11° gezüchteten Stämme 9 Tage lang wachsen lassen, um eine genügende Menge Kultur zu erzielen.

		Agarkulturen	Kartoffelagarkulturen
Ser. F ₁₂	F ₂	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{640}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{40} + \frac{1}{80}$ $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{160}$ bis $\frac{1}{640}$ —
	F ₃	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{640} +$; $\frac{1}{1000}$ bis $\frac{1}{32000}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{820} +$; $\frac{1}{640}$ —
	F ₄	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{640} +$; $\frac{1}{1000}$ bis $\frac{1}{32000}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{160} +$; $\frac{1}{320}$ $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{640}$ —
	F ₅	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{40} + \frac{1}{80} +$; $\frac{1}{160}$ bis $\frac{1}{640}$ —
	F ₆	$\frac{1}{20} +$; $\frac{1}{40}$ bis $\frac{1}{80}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{160} +$; $\frac{1}{320}$ $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{640}$ —
	F ₇	$\frac{1}{20} +$; $\frac{1}{40}$ bis $\frac{1}{80}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{160} +$; $\frac{1}{320}$ bis $\frac{1}{640}$ —
	F ₈	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{160} +$; $\frac{1}{320}$ bis $\frac{1}{640}$ —
	F ₉	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{160} +$; $\frac{1}{320}$ $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{640}$ —
	F ₁₀	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{160} +$; $\frac{1}{320}$ $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{640}$ —
	F ₁₁	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80}$ —	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{160} +$; $\frac{1}{320}$ $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{640}$ —
	S ₁	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$
	S ₂	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$
S ₃	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	
S ₄	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	
S ₅	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	
S ₆	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	
S ₇	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	
S ₈	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	$\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{80} +$	

weg höhere Agglutinationswerte als die Agarkulturen, ferner wurden Skleromstämme etwa ebensogut beeinflusst wie Friedländer-Stämme.

Was nun das makroskopische und mikroskopische Wachstum der mir zu Gebote stehenden Friedländer- und Skleromstämme auf Kartoffelagar betrifft, so fand ich folgendes. Es wuchsen auf diesem Nährboden sehr trocken F₁, F₂, F₃, F₄, F₅, S₅; etwas schleimiger, doch lange nicht so schleimig als auf Agar F₆, F₇, F₈, F₉, F₁₀, F₁₁, F₁₂, S₁, S₃, S₄, S₆, S₈; nur sehr spärlich waren von den letzten Stämmen F₁, F₁₀, F₁₂, S₁, S₃, S₇ gewachsen. Mikroskopisch zeigten die gewöhnliche plumpe Form annähernd am besten ausgeprägt F₆, F₇, F₈, F₉, F₁₀, F₁₁, F₁₂, S₁, S₂, S₄, S₆, S₇, S₈, auch bei F₂, F₃ und F₄ wich die Form der Bakterien nicht wesentlich von der normalen ab. F₁ zeigte sehr lange und dicke Bacillen, sowie eine Menge langer Fäden, bei F₅ waren die Individuen kürzer wie gewöhnlich, bei S₅ schmaler. Auffallend schlecht färbbar waren F₂, F₇, S₇, mehr oder minder starke Fadenbildung trat bei F₁, F₄, F₁₁, F₁₂ hervor. Mithin ergab es sich, daß bei einer Anzahl von Stämmen F₁, F₂, F₄, F₇, F₁₀, F₁₁, F₁₂, S₁, S₃, S₇ schon nach eintägiger Kultur auf Kartoffelagar merkbare Zeichen von Degeneration hervortraten, während die übrigen Stämme sich nur durch eine flüssigere Konsistenz von der zäh-schleimigen bei Agarkultur unterschieden.

Man muß daher annehmen, daß das Fehlen eines diese zähflüssige Natur der Kultur bedingenden Agens maßgebend für die stärkere Agglutinabilität der Stämme heranzuziehen ist.

In der Zeit, wo ich mit den diesbezüglichen Versuchen beschäftigt war, erschien eine Arbeit von Lehrwald (4), der für Typhusbacillen einen Einfluß des Nährbodens auf die Schnelligkeit des Eintretens der Agglutinationsphänomene behauptete. Lehrwald hatte gleichfalls seine Kulturen auf Kartoffeln wachsen lassen und konnte nun konstatieren, daß die Agglutination bei den Typhuskartoffelkulturen schneller eintrete als bei gewöhnlichen Kulturen. Lehrwald faßt das in langen Fäden auf der Kartoffel sich bemerkbar machende Wachstum der Tabacillen als Degenerationsstadium derselben auf und weist darauf hin, daß diese degenerierten Formen besser agglutinieren.

Im übrigen hatte schon Kirstein (5) gefunden, daß die Agglutinierbarkeit von ziemlich gut agglutinablen Typhustämmen, wenn sie auf ungesäuertem Kartoffelnährboden gewachsen waren, noch etwas höher war, als wenn sie auf Agar wuchsen. Auch Weil (6) gibt an, daß die verschiedenen Nährböden die Agglutinabilität von Typhusbacillen verschieden beeinflussen. Er selbst konnte nachweisen, daß

Typhusbacillen bei 55° schneller agglutinierten als bei gewöhnlicher Temperatur. Ein Vergleich mit den Lehrwaldschen, Kirsteinschen und Weilschen Versuchen ergibt, daß hier für Schleimbacillen ein ähnliches Verhalten obzuwalten scheint, wie dort für Typhusbacillen: Aenderung der Wachstumsbedingungen resp. des Nährbodens verändern die Agglutinierfähigkeit der Bakterien.

Um nun zu den vorher erwähnten Parallelversuchen [Huhn VI ($F_{1,2}$) und Huhn VII (S_7)] zurückzukommen, so muß ein Punkt noch näher besprochen werden. Einerseits werden durch das Serum mit Sklerom immunisierter Tiere Friedländer-Stämme etwa in gleicher Höhe wie Skleromstämme agglutiniert, andererseits beeinflusste Friedländer-Serum Skleromstämme ungefähr ebenso wie Friedländer-Stämme. Ich möchte nun gleich an dieser Stelle, um Mißverständnissen vorzubeugen, hinzufügen, daß ich keineswegs aus der betonten Parallele, ebensowenig wie aus den relativ höheren Agglutinationswerten bei Kultivierung bei niederer Temperatur verallgemeinernde Schlüsse über die Identität der Sklerom- und Friedländer-Bacillen ziehen kann. Denn erstens konnte ich bei diesen beiden Tieren Huhn VI ($F_{1,2}$) und Huhn VII (S_7) nach fortgesetzter Immunisierung nicht höhere Agglutinationswerte erzielen, vielmehr waren die erreichten Höhen bei den folgenden Versuchen auch für Kartoffelagarkulturen herunter gegangen. Ferner zeigten bisher die Sera von zwei weiteren immunisierten Hühnern auch bei Kartoffelagarkultur keine Steigerung gegenüber Normalserum. Schließlich waren bei dem besprochenen Versuche mit denselben relativ hoch agglutinierenden Kartoffelagarkulturen keine Kontrollversuche mit normalem Serum von Huhn VI und VII gemacht worden. Letzteres ist jedoch bei jedem Versuche immer wieder von neuem notwendig, trotzdem hierdurch die Schwierigkeit im Arbeiten nicht unwesentlich erhöht wird. Denn es stellte sich heraus, daß auch bei Kartoffelagarkulturen ebenso wie bei den Züchtungsversuchen bei niederer Temperatur die Agglutinationsgrenze nach dem größeren oder geringeren Schleimgehalt des Wachstums schwankt. Es genügt daher nicht, einmal zu Anfang das Normalserum der betreffenden Tiere auf seine Agglutinationskraft gegenüber Kartoffelagarkulturen zu prüfen. Derartige Schwankungen in dem Agglutinationswerte bei seinen studierten Schleimbacillusstämmen konnte auch Bertarelli (7) nachweisen. Die etwaigen Ursachen hierfür diskutiert der Autor zwar nicht weiter, gibt jedoch an, daß diese Schwankungen bisweilen so stark seien, daß es gefährlich erscheint, aus den Agglutinationsversuchen eine absolute Folgerung ableiten zu wollen. Hierzu kam, daß bei einigen Stämmen — es handelt sich um die trockner wachsenden F_5 - und S_5 -Kulturen — bisweilen bei Kartoffelkultur eigentümliche Pseudoagglutinationsvorgänge gleichzeitig miteinhergehen. So fand es sich, daß diese beiden Stämme nach Immunisierung mit $F_{1,0}$ (Huhn IX) und S_2 (Huhn X) bis zur Verdünnung von $1/640$ ziemlich starke Zusammenklumpung zeigten, ohne daß man hiermit das Ende dieser scheinbaren Agglutination erreichen konnte. Auf noch höhere Verdünnungen zu untersuchen, hatte jedoch deshalb keinen Zweck, weil dieselben Kulturen durch normales Serum von Huhn IX und Huhn X bis zur Verdünnung von $1/160$ agglutiniert wurden, ohne daß man hierbei die Grenze erreichte, und ferner auch die Kochsalzkontrollen allerdings geringere Zusammenklumpung aufwiesen. Daß nun neben dieser Pseudoagglutination und zum Teil durch sie verdeckt, auch noch der typischen Agglutination

verwandte Vorgänge mitspielten, zeigte der Umstand, daß die ersten Röhren von S_5 und F_5 (Verdünnung $1/20$ und $1/40$) sehr stark zusammengeballt waren und die Stärke der Agglutination parallel der Verdünnung in charakteristischer Weise abnahm.

Das Phänomen der Pseudoagglutination zeigten in noch besserer Weise eintägige Kartoffelkulturen. Mikroskopisch stellten sich die auf Kartoffeln recht trocken gewachsenen Friedländer- und Skleromstämme als ziemlich schlanke, bald längere, bald kürzere Stäbchen, ohne deutliche Kapselbildung dar oder die Kapselbildung war zum mindesten ungewisser, schattenhafter. Da das Wachstum der benutzten Stämme auf Kartoffeln zum Teil sehr gering war, wurde mit jedem Stamm sowohl auf schräg geschnittene Kartoffelflächen abgestrichen als auch in das vorher abgegossene Kartoffelkondenswasser besonders geimpft, und aus dem beiderseitigen Wachstum eine gemeinsame Emulsion hergestellt. Um die kleinen, die Aufschwemmungsfüssigkeit verunreinigenden und das Bild leicht störenden Kartoffelpartikel zu entfernen, blieben die Emulsionen 2 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen. Die sich absetzenden, rein diffus getrübbten Bakterienaufschwemmungen wurden schließlich zum Versuch benutzt. Es stellte sich heraus, daß nach 24 Stunden bei einer Anzahl Kulturen ausgesprochen auffallend starke Sedimentierung eingetreten war, die jedoch nach leichtem Schütteln sich wieder löste. Die gewonnenen Resultate entsprechen im übrigen dem nachstehenden als Beispiel angeführten Versuch. Huhn III nach 3maliger Immunisierung mit 0,8, 0,8 und 2,0 ccm einer starken S_1 -Emulsion innerhalb eines Zeitraumes von $1\frac{2}{3}$ Monat.

Ser. S_1 | $S_1, S_4, F_5, F_8, F_9, F_{10}, F_{12}$ $1/20$ bis $1/640$ — desgl. Kochsalzkontrollen
 $S_2 = 1/20$ bis $1/640$ + Kochsalzkontrolle zeigt gleichfalls geringe Klümpchenbildung
 $S_5 = 1/20$ bis $1/640$ + Kochsalzkontrolle desgl.
 $S_6 = 1/20$ bis $1/640$ + „ „ „
 $S_7 = 1/20$ bis $1/640$ + „ „ „
 $F_3 = 1/20$ bis $1/640$ + Kochsalzkontrolle + „
 $F_6 = 1/20$ bis $1/40$ +; $1/80$ bis $1/640$ — Kochsalzkontrolle —
 $F_7 = 1/20$ bis $1/640$ + Kochsalzkontrolle schwach +
 $F_4 = 1/20$ + $1/40$ +; $1/80$ bis $1/640$ —

Bei einer Anzahl der Versuchsröhren waren die Bakterien in den schwächsten Serumverdünnungen am stärksten zusammengeklumpt und die Stärke der Agglutination nahmen parallel dem Verdünnungsgrade in typischer Weise ab. Es fanden sich demnach neben dem Phänomen der Pseudoagglutination bisweilen sicher auch noch echte Agglutinationsvorgänge vor, wurden jedoch durch die spontane Zusammenklumpung, zum Teil wenigstens, verdeckt. Die mikroskopische Kontrolle bestätigte im übrigen das makroskopische Resultat, daß nämlich bei einer Anzahl Schleimbacillenkulturen bei Kartoffelwachstum durch 0,8-proz. Kochsalzlösungen Zusammenklumpungsvorgänge ausgelöst werden können.

An dieser Stelle reihe ich gleich Versuche an, die nach einem von Porges kürzlich angegebenen Verfahren gemacht sind und deren Resultate in gewisser Weise als Parallele zu meinen vorherigen Ausführungen gelten können. Porges (2) versuchte durch künstliche Lösung der Schleimhüllen, die er gleichfalls für das die Agglutination verhindernde Moment ansprach, seine Stämme agglutinabler zu machen; und zwar glaubte er durch Erhitzen der angesäuerten Bakterienemulsion seinen Zweck erreichen zu können. Was die näheren Details der Porges'schen Versuchsanordnung betrifft, verweise ich auf die Arbeit des Autors.

Ich habe die Porges'schen Versuche genau nach den Angaben

desselben wiederholt und fand zunächst, daß bei der größeren Anzahl der Stämme in der Tat die Kapseln gelöst werden. $F_1, F_2, F_3, F_4, F_5, F_8, F_9, S_4$ stellten sich mikroskopisch als ziemlich dünne kapsellose Stäbchen dar, S_3, S_5, S_6, F_{10} waren etwas dicker, es bestand geringe Kapselendung. Bei S_2, S_3 waren die meisten Bakterien schattenhaft gefärbt, die wenig zahlreich vorhandenen gut tingierten Individuen zeigten ziemlich deutliche Kapselbildung.

Meine Resultate sind folgende: Huhn IX und Huhn X nach 3maliger Immunisierung mit je 2 ccm einer starken F_{10} - resp. S_2 -Emulsion innerhalb eines Zeitraumes von 2 Monaten.

- $$S_1 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \ddagger 1/40 \ddagger 1/80 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \ddagger 1/40 \ddagger 1/80 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Kochsalzkontrolle} + \end{array} \right.$$
- $$S_2 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} - \end{array} \right.$$
- $$S_3 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/40 +; 1/80 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/160 +; 1/320 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/40 +; 1/80 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} - \end{array} \right.$$
- $$S_4 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/40 +; 1/80 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/80 +; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/40 +; 1/80 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} - \end{array} \right.$$
- $$S_5 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/80 + 1/160 \ddagger; 1/320 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \ddagger 1/40 +; 1/80 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} - \end{array} \right.$$
- $$S_6 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/80 +; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/80 +; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} = - \end{array} \right.$$
- $$S_7 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/40 +; 1/80 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/80 +; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} = - \end{array} \right.$$
- $$S_9 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/320 + 1/640 \ddagger \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/320 +; 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/160 +; 1/320 \text{ bis } 1/640 \\ \text{Kochsalzkontrolle} = - \end{array} \right.$$
- $$S_8 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 + + 1/40 \ddagger 1/80 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 + + 1/40 \ddagger 1/80 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Kochsalzkontrolle} - \end{array} \right.$$
- $$F_1 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Kochsalzkontrolle} = + \end{array} \right.$$
- $$F_2 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/40 + 1/80 \ddagger; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/40 + 1/80 \ddagger; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/40 + 1/80 \ddagger; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} = - \end{array} \right.$$
- $$F_3 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Kochsalzkontrolle} = + \end{array} \right.$$

- $$\begin{array}{l}
 F_4 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Kochsalzkontrolle} + \end{array} \right. \\
 F_5 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/160 +; 1/320 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/80 + 1/160 +; 1/320 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/80 + 1/160 +; 1/320 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} = - \end{array} \right. \\
 F_6 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Kochsalzkontrolle} = + \end{array} \right. \\
 F_7 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \ddagger 1/40 \ddagger 1/80 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \ddagger 1/40 \ddagger 1/80 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/640 + \\ \text{Kochsalzkontrolle} = + \end{array} \right. \\
 F_8 \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/640 \ddagger \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/320 + 1/640 \ddagger \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/40 + 1/80 \ddagger; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} = - \end{array} \right. \\
 F_{11} \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \ddagger 1/40 \ddagger 1/80 \text{ bis } 1/320 + 1/640 \ddagger \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/80 +; 1/160 \text{ bis } 1/840 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/80 +; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} = - \end{array} \right. \\
 F_{12} \left\{ \begin{array}{l} \text{Ser. } F_{10} = 1/20 \text{ bis } 1/320 +; 1/640 - \\ \text{Ser. } S_2 = 1/20 \text{ bis } 1/80 +; 1/160 \text{ bis } 1/640 - \\ \text{Normalser.} = 1/20 \text{ bis } 1/80 - \\ \text{Kochsalzkontrolle} = - \end{array} \right.
 \end{array}$$

Es stellte sich also heraus, daß die Porgesche Methode bei Benutzung von Hühnern als Versuchstiere für alle Stämme durchaus nicht gleichmäßige Resultate liefert. Auch nach der Porgeschen Vorbehandlung wurde zunächst S_2 , weder durch Normalserum noch durch eines der beiden Versuchssera agglutiniert. Bei F_2 war der Agglutinationswellenwert für normales und spezifisches Serum der gleiche. Bei S_0 , S_4 , F_5 war die Beeinflussung durch die Immunsera resp. von einem derselben noch einmal so stark wie von Normalserum, bei S_3 , F_{11} 2mal so stark, bei F_8 3 resp. 4mal so stark. Endlich wurden S_5 und S_7 durch eines der Sera bis 1:40, durch das zweite bis 1:80, S_6 durch beide bis 1:80 und F_{12} durch eines bis 1:80, durch das andere bis 1:320 agglutiniert, während bei diesen 4 letzten Stämmen Normalserum in Verdünnung von 1:20 noch keine Zusammenklumpung bewirkte. Ein größerer Teil der benutzten Stämme, nämlich S_1 , S_8 , F_1 , F_3 , F_3 , F_4 , F_6 , F_7 zeigten zwar mitunter sehr typische Agglutinationsreihen, doch fanden sich außerdem noch Pseudoagglutinationsvorgänge, die die Versuche vollkommen verschleierten und eine einwandfreie Deutung derselben unmöglich machten.

Wenn man die nach Porges vorbehandelten Emulsionen 24 Stunden lang im Eisschrank stehen ließ, so trat bei S_1 , S_8 , F_1 , F_3 , F_4 , F_5 , F_8 , F_{11} , F_{12} Pseudoagglutination ein. Auch im hängenden Tropfen war die sich einstellende spontane Häufchenbildung deutlich nachweisbar.

Bei längerem Durchschütteln schwand diese Häufchenbildung vollkommen bei S_1 , S_8 , F_5 , F_8 , F_{11} , F_{12} ; bei F_1 , F_3 , F_4 wurde sie zwar geringer, blieb jedoch auch nach dem Schütteln noch deutlich erkennbar; bei S_8 , S_5 schwand sie zwar nach dem Schütteln anscheinend vollkommen, trat jedoch kurze Zeit darauf bereits wieder von neuem auf. Die Aus-

flockung wie auch die Suspension hatte demnach bei einzelnen Stämmen ein ganz auffallend labiles Gleichgewicht.

Schließlich möchte ich an dieser Stelle noch eine Beobachtung anschließen, die ich bei $F_{1,0}$ machte. Wie aus der vorausgegangenen Tabelle ersichtlich ist, wurde $F_{1,0}$ bis $1/640$ agglutiniert, die Kochsalzkontrolle zeigte jedoch gleichfalls Zusammenklumpungen. Es waren nun bei diesem Stamm die Verdünnungen $1/320$ und $1/640$ stärker agglutiniert wie $1/80$ bis $1/160$, so daß die Reihe unregelmäßig erschien. Wenn man die Röhrchen jedoch durchschüttelte, schwanden die großen auffallend weißlichen Häufchen bei $1/320$ und $1/640$, und es resultierte das charakteristische Bild einer gut abfallenden Agglutinationsreihe.

Vergleicht man nun die nach dem Porgesschen Verfahren gewonnenen Resultate mit den zu Anfang angegebenen, durch Variierung des Nährbodens oder der Wachstumsbedingungen erhaltenen, so findet sich zwischen beiden eine große Uebereinstimmung.

Sobald die Kapseln durch vorheriges Behandeln der Bakterien nach der Porgesschen Methode oder durch Wachstum auf einem schlechten Nährboden resp. bei weniger günstigen Wachstumsbedingungen (niederer Temperatur) fehlten oder doch weniger stark entwickelt waren, war der Agglutinationsschwellenwert bei einem Teil der Stämme gegenüber gut entwickelten mit Kapseln versehenen Bacillen gestiegen. Und zwar konnte dieses Phänomen sowohl durch normales wie durch vorbehandeltes Hühner Serum nachgewiesen werden. Als Analogon verweise ich hier nochmals auf die Stämme, welche schon auf gewöhnlichem Nährboden besonders trocken, d. h. entweder ohne oder mit geringer Kapselbildung wuchsen und die gleichfalls bedeutend leichter agglutinabel waren wie die stark schleimigen Kulturen.

Bisweilen trat trotz der Porgesschen Vorbehandlung bei Benutzung eines andere Stämme mehr oder weniger hoch agglutinierenden Serums in Verdünnung $1/30$ noch überhaupt keine Agglutination ein, oder die vorbehandelten Sera wirkten nicht besser wie Normalserum. In den Fällen, wo die unter gewöhnlichen Verhältnissen sehr trocken gewachsenen Stämme schon an sich stark beeinflußt wurden, konnte es sogar vorkommen, daß eine Aenderung in den Wachstumsbedingungen, durch welche für die anderen Kulturen die Agglutinationsgrenze erweitert wurde, im Gegenteil für sie diese Agglutinationsgrenze nicht erweiterte, vielleicht sogar verengerte.

Auffallend war bei dem Porgesschen Verfahren die relativ hohe Agglutinationskraft von Normalhühner Serum gegenüber einer Reihe von Stämmen, so wurden vom Normalhühner Serum 4 Stämme bis $1/40$, 2 bis $1/80$ und einer sogar bis $1/160$ agglutiniert. Eine Parallele hierzu bilden einzelne bereits unter normalen Verhältnissen resp. durch Variierung der Wachstumsbedingungen sehr trocken gewachsene Friedländer- und Skleromstämme. Auch hier bewirkte Normalhühner Serum bisweilen Agglutination in Verdünnung von $1/20$ resp. $1/40$. Nicht uninteressant erscheint mir schließlich die beobachtete Parallele in den bisweilen sich vorfindenden Pseudoagglutinationsvorgängen. So wurden mitunter durch Wachstum auf Kartoffelagar eine ganze Anzahl von Stämmen derart beeinflußt, daß sie bereits durch Kochsalzlösungen zusammengeballt wurden. Nebenbei fanden sich augenscheinlich oft auch noch hier wie dort echte Agglutinationsvorgänge, wie die in typischer Weise mit dem Grade der Verdünnung parallel abnehmende Stärke der Agglutination bezeugte, jedoch wurden dieselben durch die Pseudoagglutination zum Teil verdeckt.

Die Fähigkeit, Pseudoagglutinationsphänomene zu erzeugen, bildete nicht ein Artcharakteristikum einzelner Stämme, wiewohl einige der unter gewöhnlichen Verhältnissen sehr trocken wachsenden Kulturen besonders in Betracht kamen, sondern bei Wachstum auf Kartoffelagar konnten bisweilen auch andere Stämme dasselbe Verhalten zeigen. Bei Wachstum auf Kartoffeln fand sogar, wie der vorher angeführte Versuch zeigt, bei 7 von 16 Stämmen durch 0,8-proz. Kochsalzlösung Zusammenballung der Bakterien statt. Auch hier wieder trat die auffallende Parallele zu den durch das Porges'sche Verfahren gewonnenen Resultate klar ins Auge, indem hier bei 7 von 19 Stämmen Pseudoagglutinationsphänomene nachgewiesen werden konnten. Es handelte sich jedoch in beiden Fällen trotz der Uebereinstimmung der Anzahl der pseudoagglutinierten Kulturen keineswegs um dieselben Stämme, vielmehr schien es, als ob die Fähigkeit Pseudoagglutinationsvorgänge zu bilden, der Mehrzahl, wenn nicht sämtlichen Friedländer- und Skleromstämmen, unter Umständen eigentümlich sein kann. Denn von meinen 21 benutzten Stämmen konnte ich bisher bei 14 auf eine oder die andere Weise derartige Pseudoagglutinationsphänomene nachweisen.

Die vorher betonte Parallele in der bereits spontan eintretenden Agglutination der Schleimbacillen zwischen den nach Porges vorbehandelten Kulturen mit den auf eiweißfreiem Nährboden gewachsenen, scheint sich übrigens auch auf andere Bakterienstämme zu erstrecken. Kirstein (5) konnte einen Typhusstamm durch Züchtung auf eiweißfreiem Nährboden derart modifizieren, daß er bereits spontan zusammenflokte, während bei Uebertragung der betreffenden Kultur auf neutralen Agar allmählich das normale Agglutinationsphänomen wieder eintrat. Porges erwähnt ganz allgemein: „Durch Erhitzen der Bakterien in saurer Lösung gelingt es, dieselben derartig zu verändern, daß dieselben schon von physiologischer Kochsalzlösung zusammengeflockt werden. Die Dauer und Temperatur des Erhitzens, die zu einem derartigen Zustande führt, ist nun bei den einzelnen Bakterien-species verschieden und zwar zeigt es sich hier, daß beim Cholera-vibrio ein derartiger Zustand am raschesten und schon bei niedriger Temperatur herbeigeführt wird, während beim B. Friedländer die stärkste Vorbehandlung notwendig ist“. Wie ich nun vorher gezeigt habe, schwankt die Stärke dieser notwendigen Vorbehandlung auch für die einzelnen Schleimbacillenstämmen anscheinend nicht unbedeutend, so daß dasjenige Maß von Vorbehandlung, welches Porges selbst angibt, um die Agglutinabilität der Schleimbacillen zu erhöhen, für einige Kulturen bereits ausreicht, um sie spontan agglutinieren zu lassen.

Wie übrigens aus dem vorher Gesagten ersichtlich ist, sind es dieselben Mittel, welche einerseits zur Erhöhung der Agglutinabilität von bestimmten Bakterien führen können, die andererseits bisweilen das Eintreten einer spontanen Ausflockung bewirken.

Um zum Schlusse zu kommen, es erscheint mir nicht mehr zweifelhaft, daß die Kapselbacillen im Tierkörper Agglutinine zu erzeugen vermögen. Die Ursachen für die verschiedenen voneinander abweichenden Resultate liegen meiner Ansicht nach zum großen Teil in der je nach der Beschaffenheit der Kapseln differierenden, und mit einer Veränderung der Kapseln wechselnden Agglutinabilität der Stämme. Hierin scheint mir auch der Grund zu liegen, weshalb die Agglutinationsversuche von Bertarelli (7), Clairmont (9), Defalle (13), Donath (10), Klemperer und Scheier (11), Kraus (12), Land-

steiner (13), Sicard (14), Walde (15) entweder resultatlos verliefen oder einander widersprechende Ergebnisse zeitigten. Eine große Anzahl von Stämmen ist durch die Ausbildung der Kapseln unter gewöhnlichen Verhältnissen selbst einem relativ wirksamen Serum gegenüber als inagglutinabel zu bezeichnen. Zwar gibt es Mittel und Wege, diese Stämme agglutinabler zu machen — Aenderungen der Wachstumsbedingungen, Behandlung nach der Porgesschen Methode — jedoch wirken dieselben auf alle Stämme durchaus nicht so gleichmäßig ein, wie es zum Zwecke der Differenzierung erwünscht und notwendig wäre. Denn während sie bei einigen Stämmen bereits spontane Agglutination durch 0,8-proz. Kochsalzlösung erzeugen, bewirken sie bei anderen eine mittlere, geringe oder sogar keine Erhöhung der Agglutinabilität. Hierunter leidet naturgemäß die differentialdiagnostische Verwertung der betreffenden Versuche eminent, so daß mir bisher wenigstens die Agglutinationsmethode zur Unterscheidung der einzelnen Friedländer-Species wenig geeignet erscheint.

Vorliegende Arbeit wurde im hygienischen Universitätsinstitut zu Königsberg ausgeführt. Herrn Professor Pfeiffer danke ich hiermit für die Erlaubnis hierzu, sowie für das Interesse bei meinen Untersuchungen.

Literatur.

- 1) Paltauf, Handbuch der pathologischen Mikroorganismen. Bd. IV.
- 2) Porges, Ueber die Agglutinierbarkeit von Kapselbacillen. (Wiener klinische Wochenschr. 1905. No. 26.)
- 3) Defalle, Enveloppe des microbes dans l'agglutination. (Annales Pasteur. 1902. p. 378.)
- 4) Lehrwald, Steigerung der Agglutinierbarkeit der Typhusbacillen und ihr Wert für die Typhusdiagnose. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 7.)
- 5) Kirstein, Ueber Beeinflussung der Agglutinierbarkeit von Bakterien, insbesondere von Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI. p. 229.)
- 6) Weil, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. 1904. p. 104.)
- 7) Bertarelli, Die Kapselbacillen, insbesondere ihre Systematik und die durch sie bedingten immunitären Reaktionen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. No. 11/14.)
- 8) Porges, Ueber die Beziehungen zwischen Bakterienagglutination und Ausflockungserscheinungen der Kolloide. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XL. Heft 1.)
- 9) Clairmont, Differentialdiagnostische Untersuchungen über Kapselbacillen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIX.)
- 10) Donath, zit. nach Paltauf. (Baumgartens Jahresbericht. 1897. p. 640.)
- 11) Klemperer und Scheier, Ueber die Identität der Ozaena- und Rhinoklerombacillen mit Friedländerbacillen. (Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. XLV. 1902.)
- 12) Kraus, zit. nach Paltauf. (Baumgartens Jahresbericht. 1897. p. 640.)
- 13) Landsteiner, Ueber die Folgen der Einverleibung sterilisierter Bakterienkulturen. (Wiener klin. Wochenschr. 1897. p. 443.)
- 14) Sicard, ref. nach Clairmont. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIX.)
- 15) Wilde, Ueber den Bacillus pneumoniae Friedländer und verwandte Bakterien. Dissertation Bonn, 1896. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. 1896.)

hierbei das Verhalten im Deckglaspräparat, wie wir auch die Virulenzprüfung durch Verimpfung an Meerschweinchen heranzogen. Nebstdem wurden auch Kulturen angelegt.

In erster Hinsicht liegen wohl eine Reihe von Arbeiten vor, welche die Phagocytose der Tuberkelbacillen durch Exsudatzellen zum Zwecke haben. Bezüglich der Virulenzprüfung jedoch vermissen wir darauf abzielende Versuche, obwohl gerade v. Behring (1) den Leukocyten einen besonderen Einfluß zuzuschreiben scheint, wenn er sagt: „Wie es mit den ersten und bevorzugtesten Angriffsstellen für das Tuberkulosevirus steht, das ist eine Frage, die mich noch immerfort intensiv beschäftigt. Bis auf weiteres halte ich daran fest, daß Leukocyten und glatte Muskelfasern besondere Berücksichtigung verdienen“. Gelegentliche Versuche stellte Goggia (2) an, der die verschiedensten Tiere subkutan mit Tuberkelbacillen impfte und dann mikroskopisch die Vorgänge der Phagocytose und Nekrobiose der Bacillen an dem Eiter studierte, den er seinen Versuchstieren mittels Pravaz-Spritze aus der Injektionsstelle abzog. Er injizierte nun 2mal den einem Hunde und einem Esel am 10. und 15. Tage entnommenen Eiter intraperitoneal an Meerschweinchen, ohne Tuberkulose zu bekommen, und schließt daraus, daß Tuberkelbacillen im Stadium der „Nekrobiose“ nicht mehr infektiös seien. Der Vollständigkeit halber erwähnen wir noch Versuche von Héricourt et Richet (3) mit ihrem Phymoserum. Darunter verstehen sie ein leukocytenreiches Exsudat, gewonnen aus der Injektionsstelle vorher mit Tuberkelbacillen geimpfter Hunde, das von lebenden Bacillen frei sein soll, weil sie keine Kulturen erhielten. Sie fanden nun, daß dieses Phymoserum sich bei intravenöser Applikation als wirksamer Schutz gegen eine nachfolgende Infektion erwies, während es subkutan ohne Wirkung war. Ebenso erwies sich auch die intravenöse Einverleibung unwirksam, wenn sie der Bacillenimpfung folgte.

Eigene Versuche.

Geprüft wurden bezüglich ihres Verhaltens die Leukocyten aus Aleuronatexsudaten von Meerschweinchen, Kaninchen und Hund. (Zur Herstellung des Aleuronatbreies benutzten wir das Präparat der Firma Hamm in Westfalen, nachdem anderweitige Proben kein entsprechendes Resultat ergeben hatten.) Abkürzungen: Ag. = Ausgangsgewicht, Eg. = Endgewicht, Gd. = Gewichts-differenz zwischen denselben, ver. = verendet, get. = getötet, % Ta. = Tagesabnahme auf 100 g, % Tz. = Tageszunahme auf 100 g, Dz. = Durchschnittszahl, fr. = frisch, Tb. = Tuberkelbacillen, i. S. = inaktiviertes Serum, K. = Kochsalzlösung (0,9-proz.).

Die einzelnen Versuchsreihen sind folgende:

I. Reihe.

Beginn derselben am 25. Jan. 1905. 4 kräftigen Meerschweinchen wurde Aleuronatbrei in die Peritonealhöhle injiziert und 24^h danach denselben Tb. in Kulturaufschwemmung ebenfalls intraperitoneal eingeimpft. Gleich den Kontrolltieren gingen diese Meerschweinchen rasch an allgemeiner Tbc. zu Grunde. Vom Peritonealinhalt geimpfte Meerschweinchen verendeten in den gleichen Zeiten wie die ersten Versuchstiere. Auf Glycerinkartoffel gingen Tuberkelbacillen aus dem Peritonealinhalt reichlich auf.

II. Reihe.

Beginn derselben am 25. Jan. 1905. Ausgangspunkt zu derselben bildete eine Aufschwemmung von Tb. in K. Gleiche Quantitäten derselben wurden

1) Kochsalzlösung,
2) in Kochsalzlösung aufgeschwemmten 20-stündigen Aleuronatexsudat vom Kaninchen zugesetzt.

Sofort nach der Herstellung der Mischung wurden von jeder derselben je 2 Meerschweinchen subkutan geimpft, so zwar, daß jedes Tier die gleichen Mengen der ersten Aufschwemmung erhielt. Weitere Proben kamen bei 37° C in die Brutkammer, um nach 1, 2, 4, 8, 16, 24 und 48^h langer Einwirkung verarbeitet zu werden. Außer den

Impfversuchen wurden auch Deckglaspräparate gefärbt und Kulturen angelegt. Die Impftiere wurden wöchentlich einmal gewogen.

1) Kochsalzreihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Ag.	Eg.	Gd.	ver.	get.	% Ta.	% Tz.
fr.	sofort	215	205	- 10	24. Tg.		0,42	
fr.	sofort	185	190	+ 5	31. "			0,16
I	1 ^h				nicht verarbeitet			
II	2 ^h	270	230	- 40	43. Tg.		0,93	
III	4 ^h				nicht verarbeitet			
IV	8 ^h	215	205	- 10		29. Tg.	0,34	
V	16 ^h				nicht verarbeitet			
VI	24 ^h	225	300	+ 75	100. Tg.			0,75
VII	48 ^h	215	260	+ 45	88. "			0,51

Obduktionsbefund der Impftiere.

Die Impftiere der frischen Probe, ferner der Proben nach 2 und 48^h zeigten Allgemeintuberkulose. Die Bilder zeigten hierbei keine wesentlichen Differenzen. Das am 29. Tg. nach der Impfung getötete Tier der Probe von 8^h zeigte ein kleines verkäses Infiltrat der Impfstelle, verkäste regionäre Lymphdrüsen und einzelne Tuberkel der Lunge. Bei Allgemeintuberkulose wies das Impftier der Probe von 24^h hanfkorngroße Tuberkel der Leber bei leichter Cirrhose derselben auf, sowie in der Lunge zahlreiche bis hanfkorngroße glattwandige Höhlen.

Die Infiltrate der Impfstellen zeigten in ihrem zeitlichen Auftreten insofern Differenzen, als mit Zunahme der Einwirkungsdauer der Kochsalzlösung eine Verzögerung der Infiltratbildung sich bemerkbar machte von 1 Woche bei der frischen Probe, bis zu 5 Wochen bei der Probe nach 48^h.

2) Aleuronatexsudatreihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Ag.	Eg.	Gd.	ver.	get.	% Ta.	% Tz.
fr.	sofort	275	256	- 19	38. Tg.		0,50	
fr.	sofort	285	245	- 40	36. "		1,11	
I	1 ^h	275	245	- 30	44. "		0,68	
II	2 ^h	250	205	- 45	41. "		1,09	
III	4 ^h	270	233	- 37	35. "		1,06	
IV	8 ^h	230	220	- 10	24. "		0,42	
V	16 ^h	200	205	+ 5	38. "			0,14
VI	24 ^h	180	175	- 5	22. "		0,23	
VII	48 ^h	240	240	0	48. "		0	

Obduktionsbefund der Impftiere.

Mit Ausnahme der nach 24 resp. 22 Tg. verendeten Tiere der Proben von 8 resp. 24^h, die außer Marasmus und brauner Atrophie der Organe lediglich Veränderungen der regionären Lymphdrüsen aufwiesen, zeigten alle Tiere Allgemeintuberkulose ziemlich gleichen Grades.

Die Infiltrate der Impfstellen traten bei der Verimpfung der frischen Proben sowie der Proben nach 1 und 2^h gleichzeitig nach 2 Wochen auf, bei der III. Probe in der 4. Woche, ebenso bei der Verimpfung nach 16- und 24-stündiger Einwirkung des Aleuronatexsudates, während bei der Probe nach 48^h ein Infiltrat schon in der 3. Woche wahrnehmbar war. Im allgemeinen waren die Infiltrate klein im Verhältnis zu denen der Impftiere der Kochsalzreihe und war das Infiltrat des Impftieres der Probe nach 48^h bei der Obduktion von stark narbigem Charakter.

Mikroskopischer Befund der Impftiere beider Reihen.

Die mikroskopische Untersuchung der tuberkulösen Organe der Impftiere ergab keine wesentlichen Differenzen. Bei den Tieren der Aleuronatexsudatreihe sahen wir gelegentlich Auftreten von mit Hämalau intensiv tingierten Bildungen nach Art der Kalkkonkremente (Infiltrat der Impfstelle des Tieres von der fr. und III. Probe).

Deckglasbefunde.

In der Kochsalzlösung zeigten die Bacillen eine mit der Dauer der Einwirkung zunehmende Segmentierung, waren gelegentlich bei gleichen Färbebedingungen etwas bräunlichrot, wie wir auch sehr schlanke Bacillenformen wahrnehmen konnten.

In der Aleuronatexsudataufschwemmung sahen wir Phagocytose von Tuberkelbacillen in polynukleären Leukocyten schon bei der frischen Probe. (Das Deckglaspräparat war knapp 10 Minuten nach der Mischung hergestellt worden.) Die Bacillen lagen meistens frei einzeln sowie in kleinen und größeren Häufchen. Die spärlich phagocytierten Bacillen lagen vereinzelt oder zu 2 und 3 Individuen neben den Kernen im anscheinend unveränderten Leukocytenprotoplasma. Nach 1^b waren neben freien, dabei oft etwas blaßroten und segmentierten Bacillen, die teilweise Leukocyten angelagert erschienen, bereits reichlichere Phagocytose oft zahlreicher Stäbchen in einem Leukocyten zu beobachten. Nach 2 und 4^b nahm die Zahl der freien Bacillen ab, waren freie Bacillen fast ausschließlich in der Nähe von Leukocyten zu sehen, enthielten letztere oft dichte Häufchen von Bacillen, die zum Teil deutlich rot, zum Teil nur blaß gefärbt und körnig zerfallen waren. Nach 8^b verhielten sich die phagocytierten Bacillen analog; doch wiesen jetzt die zelligen Elemente Veränderungen im Sinne einer Quellung und vakuolären Umwandlung des Protoplasmas auf, wobei auch die Kerne, nicht mehr mit Kernfarbstoff distinkt gefärbt, in Auflösung begriffen erschienen. Zugleich konnten wir im Protoplasma dunkler gefärbte blaue Krümel wahrnehmen. Nach 16^b sahen wir noch ein freies Bacillenhäufchen. Nach 24^b waren viele Zellen und deren Kerne in Zerfall begriffen und sahen wir endlich nach 48^b an vielen Stellen Krümelhaufen (wohl Residuen zerfallener Zellen) und zwischen ihnen noch deutlich rot gefärbte Bacillen.

Kulturell erzielten wir bei keiner der Proben ein Wachstum der verimpften Bacillen. (Glycerinagarkulturen waren bis auf die verimpfte Probe von 48^b Aleuronatexsudatmischung steril, während Glycerinkartoffelkulturen oft verunreinigt waren durch Schimmelpilze und Kartoffelbacillen.) Es wurden nur je eine Glycerinagar- und Glycerinkartoffel beschickt, woraus sich die mangelhaften Kulturergebnisse wohl hinreichend erklären.

III. Reihe.

Beginn derselben am 24. März 1905. Ausgangsmaterial zu derselben bildete eine zart getrübe Aufschwemmung von Tb. in i. S. vom Hund. Zu gleichen Mengen wurde dieselbe einer Reihe von Eprouvetten mit gleichen Mengen von 20-stündigem Aleuronatexsudat vom Hund zugesetzt. Sofort nach der Mischung wurden 3 Meerschweinchen mit gleichen Quantitäten subkutan geimpft, während die übrigen Proben bei 37° C in den Brutofen gestellt wurden. Letztere Proben wurden nach 6 1/2, nach 7, 68 und 98 Tg. in gleichen Mengen wie die frischen Proben immer an je 1 Meerschweinchen verimpft. Zugleich wurden Deckglaspräparate und Kulturen angelegt. Die Impftiere wurden alle Wochen 2mal gewogen (s. Tabelle p. 727).

Obduktionsbefund der Impftiere.

Sämtliche Impftiere erlagen nach kürzerer oder längerer Zeit und zeigten bei der Obduktion einen mehr oder minder ausgeprägten Grad der Tuberkulose. Ausgenommen ist hierbei das bereits 10 Tg. nach der Impfung verendete Tier der III. Probe, das weder Lymphdrüsen- noch Organtuberkulose aufwies, dagegen in der Peritonealhöhle eine geringe Menge schleimigen hämorrhagischen Exsudates enthielt. Bei den übrigen Tieren zeigten, mit Ausnahme von M₁ der I. Probe, dessen Lungen keine Tuberkel enthielten, Leber, Lunge und Milz sowie die Lymphdrüsen schon makroskopisch tuberkulöse Veränderungen. Die Lebern der M₁ von der II. und VI. Probe zeigten dabei Zeichen von Cirrhose, dies besonders bei dem Tier von der VI. Probe. Die Leber des M₁ der I. Probe war außerordentlich stark verfettet und enthielt nur einzelne, oft etwas undeutliche, kleine, gelbe Knötchen. Bei M₁ von der VI. Probe brach nach 35 Tg. das entstandene Infiltrat der Impfstelle durch und entleerten sich aus demselben reichlich käsige Massen mit zahlreichen Tuberkelbacillen. Darauf befand sich das vorher sehr matte Tier wieder besser.

Demgegenüber zeigten Tiere, geimpft mit in i. S. vom Hund suspendierten Tuberkelbacillen (sofort, ferner 6 und 24^b, sowie nach 7 Tg. bei 37° C aufbewahrt), folgendes Verhalten:

3 mit der Tuberkelbacillenaufschwemmung sofort nach der Mischung geimpfte Tiere verendeten nach 31, 24 und 28 Tg. an Allgemeintuberkulose. Die Tiere lebten also durchschnittlich 27 2/3 Tg., betrug ihr durchschnittlicher Gewichtsverlust 30 Proz. des Ausgangsgewichtes, der durchschnittliche Tagesverlust auf 100 g 1,13 g.

Die Impftiere nach 6^b, 24^b und 7-tägiger Beeinflussung der Tuberkelbacillen lebten 14, 25 resp. 19 Tg., zeigten Gewichtsverluste von 5, 21 resp. 4 Proz. des Ausgangs-

Verarbeitete Probe	ver.	Verhalten der Impftiere nach den Gewichtszahlen Ag. vorn, Eg. am Schluß, Gd.	% Gd. : Ag	A. p. d.	
I. sofort	M ₁	20. Tg. 660 — 640 — 610 + 660 — 600 — 480 — 180	27 %	1,35 g	Dz. der Lebensdauer: 25 Tg. längste Lebensdauer: 34 Tg. Dz. der % Gd. : Ag.: 29 1/3 % Dz. der A. p. d. (auf 100): 1,26 g
	M ₃	21. „ 590 — 560 — 520 — 480 + 530 — 505 — 385 — 215	34 %	1,62 „	
	M ₂	34. „ 425 — 390 = 390 + 400 — 390 — 350 — 325 = 325 + 335 — 305 — 110	28 %	0,82 „	
II. nach 6 1/2 h	M	35. „ 687 + 700 — 690 — 680 + 705 — 670 — 645 — 595 — 560 — 530 — 127	18 %	0,51 „	
III. nach 24 h	M	10. „ 450 — 445 — 420 — 415 — 35	8 %	0,80 „	
IV. nach 7 Tg.	M	30. „ 512 — 490 + 520 + 530 = 530 — 520 — 435 — 405 + 410 — 102	20 %	0,67 „	
V. nach 68 Tg.	M	30. „ 220 + 230 = 230 = 230 — 225 — 220 = 220 — 200 — 190 — 30	14 %	0,47 „	
VI. nach 98 Tg.	M	63. „ 210 — 200 + 230 — 210 + 215 — 210 = 210 = 210 = 210 = 210 + 230 — 220 + 225 — 220 + 235 — 230 — 185 + 190 + 200 — 10	5 %	0,08 „	

gewichtetes und einen Tagesverlust von 0,35, 0,84 resp. 0,21 g auf 100 g. Das Impftier der I. Probe nach 6^h zeigte schon in der 2. Woche Taumeln und Krämpfe und ging am 14. Tg. zu Grunde. Bei der Obduktion fand sich ein älterer, eingesunkener, stark pigmentierter Herd der linken Kleinhirnhemisphäre.

Deckglasbefunde.

In Deckglaspräparaten, aus der Mischung sofort nach derselben hergestellt, waren zahlreiche polynukleäre Leukocyten mit deutlich differenzierten Kernen und Protoplasma zu sehen. Die Bacillen, deutlich rot gefärbt, liegen zumeist außerhalb der Zellen, jedoch denselben oft sehr nahe angelagert, seltener vollkommen frei entfernt von den Zellen. Auch konnten wir bereits zu dieser Zeit spärlich phagocytierte Bacillen sehen. Später nahm die Phagocytose zu, so daß freie Bacillen nunmehr sehr spärlich vorhanden waren. Am 7. Tg. zeigten die Zellen einen deutlichen Zerfall der Kerne, die aus zahlreichen, zu einem unscharf abgegrenzten Klümpchen angeordneten Krümelhaufen zu bestehen schienen. Nach 68 Tg. waren Zellen überhaupt nicht mehr zu sehen und fanden sich nunmehr außerordentlich reichlich sehr dichte, oft das ganze Gesichtsfeld einnehmende Haufen durchwegs körniger, d. i. segmentiert gefärbter Bacillen von blaßroter bis leuchtend roter Farbe. Es zeigte hierbei schon makroskopisch die Mischung zahlreiche, oft der Wand der Eprovette anhaftende feine Krümel wie auch auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine sehr zarte Kahlhaut sichtbar war.

IV. Reihe.

Beginn derselben am 17. April 1905. Zur Vorbereitung zu den Versuchen wurde einem 7600 g schweren Hunde 70 ccm Aleuronatbri ip. injiziert. 22^h darauf wurde mittels Injektionspritze ca. 2 ccm des Exsudates aspiriert und, mit einer geringen Menge Tb.-Material zu einer Emulsion verrieben, wieder in die Bauchhöhle des Hundes injiziert. Zu verschiedenen Zeiten danach wurde das Abdomen des Tieres punktiert und das dabei gewonnene Exsudat immer an je 2 Meerschweinchen verimpft sowie Deckglaspräparate angefertigt und Kulturen angelegt. Im ganzen wurden 10 Punktionen ausgeführt (s. Tabellen p. 729 u. 730).

Obduktionsbefund der Impftiere.

Mit Ausnahme des M₁ der II. Probe, das, nach 5 Tg. verendet, noch keine Zeichen von Tuberkulose aufwies, war bei allen Impftieren eine die Lymphdrüsen und Organe betreffende Tuberkulose zu konstatieren. Hierbei ergaben jedoch die Obduktionsbefunde insofern eine Verschiedenheit, als bei einer Zahl von Tieren neben tuberkulösen Veränderungen an der Leber mehr oder minder deutliche Zeichen von Cirrhose vorhanden waren; M₁ und M₂ der I. Probe, M₂ der II. Probe, M₁ der III. Probe, M₁ und M₂ der IV. Probe, M₁ der V. Probe, M₂ der VI. Probe, M₂ der VII. Probe, M₁ der X. Probe. Die Milzen dieser Tiere waren durchaus stark vergrößert und enthielten neben Aussaat kleiner Tuberkel oft sehr zahlreiche infarktähnliche Käseherde. Bei einer weiteren Zahl von Tieren wies die Leber neben mehr oder minder zahlreichen kleinen Käseherden einen sehr starken Grad von Verfettung auf: M₂ der VI. Probe, M₁ der VII. und M₂ der IX. Probe. Bei diesen Tieren war gleichfalls die Milz sehr groß mit zum Teil infarktähnlichen Käseherden. Ein weiterer Teil der Tiere zeigte kleine Lebern mit ziemlich glatter Oberfläche und zahlreichen eingesprengten Käseherden und dabei eine kleine mit Tuberkeln durchsetzte Milz: M₂ der III. Probe, M₂ der VIII., IX. und X. Probe. Die Tuberkel der Lunge waren bis auf die spärlichen miliaren Herde bei M₂ der III. Probe sehr reichlich, teils ungemein klein, teils bis fast hanfkorngroß in allen Teilen der Lungen gleichmäßig vorhanden. Dabei zeigten die fast hanfkorngroßen Tuberkel bei M₁ der I. Probe an vielen Stellen bläschenartige Hohlräume. Analoge Hohlräume sahen wir in der Lunge des Impftieres der VI. Probe der Kochsalzreihe aus der II. Versuchsreihe. Die Milz des M₁ der X. Probe war durch derbes Bindegewebe am Zwerchfell fixiert. Die Lymphdrüsentuberkulosen wiesen keine Besonderheiten auf.

Klinisches Verhalten und Obduktionsbefund des Hundes.

Schon zur Zeit der letzten Punktion, d. i. 28 Tg. nach der Impfung, war das Abdomen stark gespannt und waren bei der letzten Punktion 25 ccm hellgelben, etwas schleimigen, leicht gerinnenden Exsudates gewonnen worden. 10 Tg. später, d. i. am 38. Tage nach der Impfung, verendete der Hund. Ag. 7600 g, Eg. 6150 g.

Obduktionsbefund: Im Abdomen eine sehr reichliche, leicht gelbliche, wäßrige Flüssigkeit, die einzelne Gerinnsel enthält. Peritoneum mit zahllosen feinsten Knötchen bedeckt, die Baueingeweide miteinander vielfach verklebt und verwachsen. Leber, Milz und Nieren ohne Zeichen von Tuberkulose, die Mesenteriallymphdrüsen stark pigmentiert, anscheinend frei von Tuberkulose, retroperitoneal an der Mesenterialwurzel über erbsengroße verkäste Lymphdrüsen. Die Bronchiallymphdrüsen über bohnen groß verkäst. Die Lungen mit Aussaat feinsten miliärer Knötchen, rechts durch pleuralen Erguß komprimiert, Marasmus, braune Atrophie der Organe.

Kulturell wurden positive Resultate mit Glycerinkartoffel bei der I., II., III. und V. Punktion erzielt. Die Bacillen zeigten morphologisch und tinktoriell kein abnormes Verhalten, die Kulturen waren zum Teil sehr reichlich aufgegangen.

Deckglasbefunde.

In Deckgläsern angelegt aus dem Punktat 2^h nach der Bacilleninjektion waren sehr reichliche, gut gefärbte, in großer Zahl durch polynukleäre Leukocyten allein phagocytierte Bacillen wahrnehmbar. Sie lagen einzeln und zu kleinen Häufchen neben den Kernen in dem schwach tingierten Protoplasma. Freie Bacillen waren nur spärlich vorhanden. Nach 1 Tg. traten neben in polynukleären Leukocyten phagocytierten Bacillen Bilder von Phagocytose in großen runden Zellen mit einem großen runden Kern auf. Diese Zellen waren in der Größe schwankend von etwas über Leukocytengröße bis zu etwa der 3-fachen Größe der letzteren. Die Kerne dieser Zellen waren bald etwas blasser, bald intensiver gefärbt und dann von einem ebenfalls intensiv gefärbten Protoplasma umgeben, von demselben dann oft nicht mehr genau zu differenzieren. Wie bei den Leukocyten, lagen auch hier die Bacillen außerhalb des Kernes und waren auch noch spärlich freie Bacillen zu sehen. Die Bacillenzahl im Deckglaspräparat wies zugleich gegenüber der I. Probe eine starke Verminderung auf, die in

Tabelle über die Proben I—VI.

Verarbeitete Probe, Menge derselben und Menge der Verimpfung	ver.	Verhalten des Impftieres nach den Gewichtszahlen Ag. vorn, Eg. am Schluß, Gd.	% Gd. : Ag.	T. a.	Dz. der % Zahlen
I. nach 2 ^{te} ca. 2 1/2 ccm	M ₁ 1 ccm	50. Tg. 520 — 515 + 530 — 505 + 510 — 500 — 480 — 440 — 405 — 380 + 425 — 415 — 385 — 340 + 360 + 365 — 155	30 %	0,60 g	0,42
	M ₂ 3/4 ccm	42. " 255 — 235 + 265 = 265 = 265 + 275 — 255 + 270 — 230 + 255 — 250 — 235 = 235 — 230 — 25	10 %	0,24 "	
II. nach 24 ^{te} ca. 2 ccm	M ₁ 1 ccm	5. " 515 — 500 — 15	3 %	0,60 "	0,58
	M ₂ 3/4 ccm	48. " 260 — 235 + 260 + 270 + 275 — 270 — 240 + 275 + 290 — 280 — 260 — 250 — 230 — 200 — 195 — 190 — 70	27 %	0,56 "	
III. nach 2 Tg. ca. 1 1/2 ccm	M ₁ 3/4 ccm	33. " 485 + 500 + 530 — 495 + 520 — 445 = 445 — 395 + 405 + 415 — 405 — 80	16 %	0,48 "	1,09
	M ₂ 1/2 ccm	16. " 205 — 200 + 205 + 208 — 198 — 150 — 55	27 %	1,69 "	
IV. nach 3 Tg. ca. 1 1/2 ccm	M ₁ 3/4 ccm	32. " 525 + 575 = 575 — 555 — 525 — 450 + 470 — 460 + 475 — 425 — 415 — 110	21 %	0,66 "	0,66
	M ₂ 1/2 ccm	37. " 225 — 215 = 215 — 205 + 225 — 200 + 205 — 200 + 215 — 210 — 190 — 170 — 55	24 %	0,65 "	
V. nach 4 Tg. ca. 3/4 ccm	M ₁ 3/4 ccm	37. " 565 + 605 + 655 — 625 — 555 — 540 — 520 — 490 + 505 — 480 — 455 + 482 — 83	15 %	0,41 "	0,24
	M ₂ 1/2 ccm	33. " 205 = 205 + 225 — 215 — 210 = 210 = 210 = 210 + 220 = 220 — 200 — 5	2 %	0,06 "	
VI. nach 8 Tg. 3/4 ccm	M ₁ 3/4 ccm	27. " 530 + 545 — 535 — 520 — 480 — 475 — 440 — 380 — 335 — 325 — 205	39 %	1,44 "	0,72
	M ₂ 1/2 ccm	62. " 210 — 200 = 200 = 200 = 200 + 225 — 215 + 230 = 230 — 220 = 220 — 200 + 210 + 220 = 220 = 220 — 210 = 210 = 210 — 0	0 %	0,00 "	

Tabelle über die Proben VII—X.

Verarbeitete Probe, Menge derselben und Menge der Verimpfung	ver.	Verhalten des Impftieres nach den Gewichtszahlen Ag. vorn, Eg. am Schluß, Gd.	% Gd.: Ag.	Ta.	Dz. der % Zahlen
VII. nach 9 Tg. ca. 2 ccm	M ₁ ¼ ccm	19. Tg. $\begin{matrix} 765 - 740 + 755 - 770 \\ - 660 - 600 - 540 \\ - 225 \end{matrix}$	29 %	1,53 g	0,85
	M ₂ ¼ ccm	27. " $\begin{matrix} 255 = 255 - 240 + 260 \\ = 260 + 270 - 260 + 275 \\ - 250 - 230 \\ - 25 \end{matrix}$	10 %	0,37 "	
VIII. nach 10 Tg. ca. 3 ccm	M ₁ 1 ccm	30. " $\begin{matrix} 365 + 380 + 385 - 360 \\ = 360 - 350 - 345 - 335 \\ = 335 - 305 \\ - 60 \end{matrix}$	16 %	0,53 "	0,76
	M ₂ ¼ ccm	27. " $\begin{matrix} 195 + 197 + 200 - 180 \\ + 195 - 170 + 180 - 165 \\ - 140 \\ - 55 \end{matrix}$	28 %	1,04 "	
IX. nach 11 Tg. ca. 4 ccm	M ₁ 1 ccm	24. " $\begin{matrix} 605 + 625 - 610 = 620 \\ - 615 - 575 - 510 - 470 \\ - 450 \\ - 155 \end{matrix}$	26 %	1,08 "	0,86
	M ₂ 1 ccm	33. " $\begin{matrix} 190 + 195 = 195 + 200 \\ + 220 - 215 = 215 = 215 \\ - 180 - 130 + 150 \\ - 40 \end{matrix}$	21 %	0,63 "	
X. nach 28 Tg. reichliches Exsudat	M ₁ 1 ccm	48. " $\begin{matrix} 540 + 560 - 555 - 520 \\ = 520 - 490 + 495 - 480 \\ + 490 - 450 + 460 = 460 \\ - 430 + 440 - 350 \\ - 190 \end{matrix}$	35 %	0,73 "	0,83
	M ₂ 1 ccm	26. " $\begin{matrix} 185 - 180 + 185 - 180 \\ = 180 - 150 + 165 - 150 \\ - 140 \\ - 45 \end{matrix}$	24 %	0,92 "	

den späteren Proben noch sehr stark zunahm. Mit den nächsten Proben nahm die Zahl der phagocytierenden Leukocyten ab, verschwanden die freien Bacillen und trat die Phagocytose durch die großen mononukleären Zellen immer mehr in den Vordergrund. Zugleich nahm auch die Zahl der in großen Zellen phagocytierten Bacillen zu, so daß gelegentlich kleine Häufchen bis zu 18 Bacillen in einer Zelle lagen. Von der VIII. Probe ab beobachteten wir starken Zerfall von Bacillen innerhalb von Zellen sowie blaßrote Färbung. Auch traten Bilder von Zerfall, Vakuolenbildung und Quellung der Zellen auf.

In unserer ersten Reihe brachten wir also Tuberkelbacillen in die Bauchhöhle von Meerschweinchen, woselbst schon durch vorherige Aleuronatinjektion eine große Menge von Leukocyten angesammelt waren. Es ist dies derselbe Vorgang, wobei Metschnikoff (4) Schutz gegen tödliche Mengen von Pestbacillen, Bordet (5) gegen Streptokokken, Funk (6) gegen Typhus beobachten konnten. Metschnikoff und seine Schule führten diese „Immunität“ auf eine erhöhte Tätigkeit der Phagocyten zurück, die durch vorherige Injektion von Bouillon und anderen Flüssigkeiten gewissermaßen stimuliert würden, während Pfeiffer und Isaeff diesen Schutz als „erhöhte Resistenz“ von der

Immunität abtrennen, einen Unterschied, den auch Metschnikoff (7) in neuester Zeit anerkennt. Genaue Untersuchungen Isaeffs (8), der durch vorherige Injektion von physiologischer Kochsalzlösung, Tuberkulin, Harn, Blutserum, 2-proz. Nukleïnlösung und Bouillon seine Versuchstiere gegen sonst tödliche Dosen von Choleravibrien schützen konnte, zeigen nun, daß im Momente der Vibrieninjektion 50 000 bis 70 000 Leukocyten im Kubikmillimeter Peritonealflüssigkeit vorhanden waren. Es wird also diese erhöhte Resistenz durch die Ansammlung der polynukleären Leukocyten bedingt und verliert sich mit dem Verschwinden des künstlichen Exsudates in 10—14 Tagen.

Tuberkelbacillen gegenüber fehlte aber in unserem Falle jeder Schutz der angesammelten Leukocyten. Freilich handelt es sich dabei um die Wanderzellen einer Tierspecies, die nach den Untersuchungen von Wyssokowitsch (9) nicht einmal mit 8 eingeführten Tuberkelbacillen fertig zu werden vermag. Löwenstein (10) schreibt allerdings in einer erst kürzlich erschienenen Arbeit ihrem Einfluß die geringen positiven Impfversuche Bergerons (11) mit dem Blute tuberkulöser Menschen an Meerschweinchen zu, indem er sagt: „Es ist nicht ausgeschlossen, daß die durch die Blutinjektion eingetretene massenhafte Einwanderung von Leukocyten den Zerfall einer beschränkten Anzahl von Tuberkelbacillen zu bewirken vermag“. Dabei ist noch eins zu erwägen. Wilde (12) hat nämlich gezeigt, daß Aleuronat im Stande ist, das Alexin des aktiven Blutserums vollständig zu binden, so daß solches Serum weder bakterizid, noch hämolytisch wirkt. Auch erlagen Tiere, denen er Cholerakultur gleichzeitig mit Aleuronatemulsion injizierte, der Infektion bei geringeren Dosen des Virus, als Tiere, denen dieses gleichzeitig mit NaCl-Lösung einverleibt wurde. Wenn er dagegen das Aleuronat vorher durch längeren Kontakt mit aktivem Rinderserum mit Alexin absättigte, zeigte sich dieser deletäre Einfluß des alexinbindenden Eiweißkörpers nicht mehr. Wir müssen uns daher die Frage vorlegen, ob nicht diese Absorption des Alexins auch bei unseren Versuchen gilt, die durchwegs mit Aleuronatexsudat angestellt wurden. Wilde setzte nun zu den aktiven Serumproben die Aleuronatemulsion regelmäßig in gleicher oder wenigstens halb so großer Menge zu und injizierte es in seinen Tierexperimenten stets gleichzeitig mit den Kulturen. In unseren Versuchen dagegen waren die verwendeten Aleuronatmengen im Verhältnis zur Quantität des gewonnenen Exsudates viel geringer, außerdem wurde es erst 24 Stunden nach der Aleuronat-injektion mit den Bacillen zusammengebracht, bis zu welcher Zeit der Organismus wohl wieder reichlich Alexin oder andere, eventuell auch gebundene Schutzstoffe gebildet haben dürfte, vielleicht sogar im Ueberschuß, analog den Vorgängen bei der Immunisierung. Und tatsächlich konstatierte Buchner (13), daß nach 24 oder 48 Stunden gewonnenes Aleuronatexsudat viel stärker bakterizid wirkte, als Blut und Blutserum desselben Tieres. Dasselbe bewies van de Velde (14) an Exsudaten, die er durch Injektion toter Staphylokokken in die Pleurahöhle von Kaninchen darstellte, obwohl doch nach Wilde auch tote Bakterien Alexin absorbieren. Andere Forscher wieder, wie Bail (15) und Weleminsky (16), konnten an zellfrei abzentrifugiertem Aleuronatexsudat wenigstens das gleiche Maß von Bakterizidie nachweisen, welches das aktive Blutserum besaß. Wir hielten uns demnach für vollkommen berechtigt, von der Verwendung mit Alexin gesättigten Aleuronats abzusehen, was unsere Versuche um vieles kompliziert und durch wieder-

holte Passage die Möglichkeit einer Verunreinigung bedeutend erhöht hätte, um so mehr, als wir durch Däublers (17) Untersuchungen wissen, wie schwer es ist, den Aleuronateiter mikrobefrei zu bekommen. Unserer Versuchsanordnung nach waren wir aber vielfach gezwungen, solchen Eiter tage- und wochenlang bei Bruttemperatur aufzuheben, wodurch sich etwa hineingelangte Keime oder Sporen, die der Bakterizidie des frischen Eiters Widerstand zu leisten vermochten, ins Ungemessene hätten vermehren können.

In der zweiten Reihe verwendeten wir die Leukocyten des Kaninchens, weil sich diese Tiere gegen menschliche Tuberkelbacillen viel resistenter erweisen, indem die meisten von ihnen nach Wyssokowitsch selbst der 3—4mal größeren Bacillenmenge erfolgreichen Widerstand leisten als Meerschweinchen. Dabei sahen wir, daß auch *in vitro* die Phagocytose der Tuberkelbacillen durch die polynukleären Zellen sehr rasch und energisch einsetzt, gleichwie es v. Behring in der schon eingangs erwähnten Arbeit anführt. Denn schon im ersten Präparat, das spätestens 10 Minuten nach der Mischung angefertigt worden war, zeigten sich Bacillen innerhalb von Zellen. Es stimmt diese rasche Aufnahme mit den Beobachtungen von Almquist (18) überein, der an anderen Bakterien schon nach 2 Minuten Phagocytose *in vitro* konstatierte, freilich aber auf rein physikalische Vorgänge zurückführen möchte. Bordets (19) Untersuchungen aber und auch die vorerwähnten v. Behrings, wonach die Phagocyten auch *in vitro* noch ein Wahlvermögen zeigen und sich gegen verschieden virulente Bacillen different verhalten sollen, beweisen doch, daß die Leukocyten selbst außerhalb des Körpers ihre vitalen Eigenschaften bewahren, ja Buchner (20) beobachtete sogar, daß sie, bei niedriger Temperatur „außerhalb der Gefäße“ aufbewahrt, selbst mehrere Wochen lang ihre Eigenbeweglichkeit behielten, also lebensfähig blieben. In unseren Versuchen zeigten sich die ersten Zeichen beginnenden Zerfalls der bei 37° C in 0,9-proz. Kochsalzlösung gehaltenen Leukocyten nach 8 Stunden, doch nahm dieser Zerfall erst mit 24 Stunden erheblichere Dimensionen an.

Während nun aber die in reiner Kochsalzlösung gehaltenen Tuberkelbacillen eine bis zu 24 Stunden konstant zunehmende, dann wieder etwas abnehmende Abschwächung erfuhren, sich äußernd in Verzögerung der Infiltratbildung, Zunahme der Lebensdauer und in günstigerem Verhalten des Körpergewichts, worauf wir an anderer Stelle näher eingehen wollen, zeigte das Aleuronatexsudat innerhalb der beobachteten Einwirkungszeit von 48 Stunden keine Beeinflussung, die im Sinne einer teilweisen Abtötung von Tuberkelbacillen oder einer Virulenzverminderung zu deuten wäre. Dieses Verhalten der phagocytierten Tuberkelbacillen harmoniert vollkommen mit den Beobachtungen an anderen Bakterien. So fand Kowalewsky (21), daß die in Phagocyten der Schnecke eingeschlossnen Milzbrandbacillen 48 Stunden, die in den Freßzellen der Krebse sogar bis 4 Tage sich vollvirulent erhalten. Auch wies Bardach (22) nach, daß die während der Krise und einige Stunden nachher in den polynukleären Zellen der Milz enthaltenen Rekurrensspirillen ungeschwächte Virulenz besaßen. Landsteiner (23) zeigte ferner, daß aus einer großen Menge von Exsudat abgeschiedene, noch der Phagocytose fähige Leukocyten, gleichzeitig mit Typhusbacillen injiziert, nicht die geringste schützende Wirkung ausübten, welche Beobachtung auch Däubler (17) bestätigte. Freilich können diese Versuche nur in beschränktem Umfange mit den unseren in Parallele

gesetzt werden, weil sich in jenen Experimenten das zellfreie Serum nach Abzentrifugieren der Leukocyten als wirksam erwies, in unserem Falle Exsudatserum und Zellen ungetrennt blieben. Auch handelte es sich dort um immunisierte Tiere, während wir nicht vorbehandelte, also normale Tiere, zur Verwendung brachten.

Konnten wir also auch keinen schützenden Einfluß der Leukocyten-einwirkung erkennen, so fiel uns doch auf, daß die an der Injektionsstelle sich bildenden Infiltrate bedeutend kleiner waren, in einem Falle sogar an Stelle der sonst vorhandenen Käsemassen eine derbe Narbe sich ausgebildet hatte, während freilich die mikroskopische Untersuchung der Impfstellen keinen auffallenden Unterschied gegenüber anderweitigen tuberkulösen Infiltratbildungen ergab. Man könnte dabei daran denken, daß diejenigen Stoffe der Bacillenleiber, welche positiv chemotaktisch auf polynukleäre Leukocyten wirken, schon außerhalb des Tierkörpers im Reagenzglas großenteils gebunden oder vernichtet worden waren, ein Vorgang, der sich sonst immer erst innerhalb des Organismus vollzieht. Darauf möchten wir die von vielen Forschern gemachte und auch von uns in der IV. Reihe bestätigte Beobachtung zurückführen, daß bei Injektion von Tuberkelbacillen zuerst polynukleäre Leukocyten sich ihrer bemächtigen, um dann 24 Stunden nachher [Brodén (24), Acharé et Loeper (25)] oder 48 Stunden später [Dembinski (26)] oder erst nach 3 Tagen [Markl (27), Borrel (28)] allmählich von mononukleären Elementen abgelöst zu werden, bis sie am 3.—5. Tage vollständig verschwunden sind. Sie treten dann erst wieder auf, wenn Verkäsung und Gewebserfall neuerdings positiv chemotaktisch wirkende Nukleoproteide freimacht. Nur Römer (29) fand bei intraperitonealer Injektion von Mäusen ein davon abweichendes Verhalten, indem „anfangs die Tuberkelbacillen mehr die mononukleäre Form mit reichlichem Cytoplasma bevorzugten“. Erst später fanden sie sich mehr in den polynukleären Leukocyten. Vielleicht hängt dieser Unterschied mit den Beobachtungen von Wolff und v. Torday (30) zusammen, die konstatierten, daß die Maus ein stark zur Lymphocytose neigendes Tier sei, bei welchem auch durch Stoffe, die bei Meerschweinchen Polynukleose hervorrufen, Lymphocytose erzeugt wird. Mit dem geringeren Herbeiströmen von Leukocyten und dem dadurch sich ergebenden Ausfall von Gewebseinschmelzung infolge ihrer proteolytischen Enzyme könnte auch die in 2 Fällen mikroskopisch sich ergebende frühzeitige Verkalkung des infizierten Gewebes zusammenhängen.

In einer dritten Reihe verwendeten wir Aleuronatexsudat des gegen Tuberkulose noch widerstandsfähigeren Hundes, das wir übrigens in größerer Menge und unverdünnt mit den Bacillen zusammenbrachten, auch bedeutend länger einwirken ließen. Außerdem wurde die Tuberkelbacillenenulsion nicht mittels NaCl-Lösung, sondern mit inaktivem Hundeserum hergestellt, da sich ja in unserer zweiten Reihe das Kochsalz als nicht ganz indifferent herausgestellt hatte. Dabei erwiesen sich die Leukocyten hier bedeutend resistenter, indem wir selbst nach 24 Stunden noch keine Zerfallerscheinungen wahrnehmen konnten. Die Ursache dafür liegt wohl darin, daß in diesem Falle die Leukocyten in ihrem natürlichen Medium sich befanden, während wir sie früher in isotonischer 0,9-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt hatten, die doch wohl nicht ganz gleichgültig für lebende Zellen ist, zum Teil spielen dabei auch sicherlich in der Tierspecies gelegene Resistenzverschiedenheiten der Leukocyten überhaupt eine Rolle. In der Probe vom 7. Tage freilich

zeigen alle Leukocyten deutliche Zeichen des Zerfalls und in jener vom 68. Tage, die übrigens von anderen Keimen vollkommen steril geblieben war, sahen wir keine Spur von zelligen Beimengungen mehr, sie waren sämtlich der Autolyse anheimgefallen. Dafür aber zeigten die Tuberkelbacillen eine enorme Vermehrung, die auch späterhin noch zunahm.

Bei den Tieren dieser Reihe nun ist immerhin eine Beeinflussung der Tuberkelbacillen kaum zu verkennen, wenn man die prozentuellen Gewichtsverluste im ganzen und die für den Tag ins Auge faßt. Denn während die sofort geimpften 3 Tiere einen durchschnittlichen Verlust von 30 Proz. aufwiesen und pro Tag und 100 g Körpergewicht 1,26 g verloren, nimmt der prozentuelle Gewichtsverlust fast kontinuierlich ab, je länger die Einwirkung der Phagocyten dauert, und auch die tägliche Gewichtsabnahme stellt sich immer niedriger, was bei den letzten 2 Proben, in welchen, wie erwähnt, eine kolossale Vermehrung der Bacillen aufgetreten war, gewiß auffällig ist. Freilich bedürfen die scheinbar besonders beweisenden Zahlen der letzten Probe (eine Gewichtsabnahme von 5 Proz. und ein Tagesverlust von 0,08 g) einer Einschränkung. Es trat nämlich bei diesem Tiere am 38. Tage ein Durchbruch des lokalen Infiltrates auf, worauf sich das Allgemeinbefinden des Tieres wesentlich hob. Es ist dies ein Verhalten, wie wir es während unserer Versuche wiederholt feststellen konnten und ein experimenteller Beitrag zur Bedeutung sezernierender Abscesse für die Ausscheidung schädlicher Mikroben aus dem Körper. Immerhin müssen wir doch eine Beeinflussung der Tuberkelbacillen zugeben, womit wir auch die Bilder von Lebercirrhose zusammenbringen möchten, die wir bei 2 Tieren, besonders aber beim letzten, beobachten konnten. Auch stark ausgeprägte Verfettung der Leber eines der Tiere der frischen Probe gehört vielleicht hierher. Ueber die Bedeutung dieser histologischen Vorgänge haben wir an anderer Stelle (31) bereits eingehend gesprochen, worauf wir daher verweisen möchten.

Hatten wir bisher nur die kombinierte Wirkung von Exsudatserum und polynukleären Leukocyten von Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden untersucht, so suchten wir in der letzten Reihe auch die Schutzwirkung der mononukleären Zellelemente von Exsudaten, der Makrophagen Metschnikoffs, zu prüfen. Diese sollen ja nach ihm (32) die Hauptrolle bei den chronischen Infektionskrankheiten spielen, während die Mikrophagen für akut verlaufende Krankheiten in Betracht kämen. Freilich versteht er unter Makrophagen auch die Lymphocyten, die sich nach unseren bereits veröffentlichten Untersuchungen so überaus wirksam den Tuberkelbacillen gegenüber erwiesen hatten. Aber Metschnikoff selbst spricht ihnen jegliche phagocytäre Tätigkeit ab und er reiht sie nur deshalb unter seine Makrophagen, weil aus ihnen phagocytierende, große, mononukleäre Leukocyten, ferner Epitheloidzellen und Riesenzellen mit ihrer ausgesprochenen Phagocytose hervorgehen sollen. Diese Meinung findet aber unter den deutschen Hämatologen durchaus keine Stütze, denn selbst Pappenheim (33), der alle Elemente des strömenden Blutes, Erythrocyten, Lymphocyten und Leukocyten von großen, blaßkernigen, von ihm „Lymphocyten“ genannten Zellen ableitet, sieht in den „trachychromatischen“ Lymphocyten des Blutes ausgereifte Gebilde, die höchstens eine heteroplastische Umwandlung zu Normoblasten einzugehen vermögen, sonst aber einfach altern. Daher spricht sich auch Türk (34) nach kritischer Beleuchtung der wichtigsten Arbeiten über Bildung und Zusammenhang der ver-

schiedenen Leukocytenarten dahin aus, daß ein Uebergang der Lymphocyten des zirkulierenden Blutes in die großen mononukleären Leukocyten heute schon ziemlich sicher abgelehnt werden kann. Daß andererseits Epitheloid- und Riesenzellen aus den fixen Bindegewebszellen und nicht aus zugewanderten Lymphocyten hervorgehen, darüber herrscht unter den deutschen Forschern wohl auch kein Zweifel. Ferner waren diese Versuche insofern noch nötig, als wir in unseren früheren Reihen das Aleuronatexsudat mit seinen Schutzstoffen lange Zeit in vitro aufheben mußten, wir aber durch Untersuchungen Buchners und seiner Schule wissen, wie labil diese Körper, das Alexin vor allem, sind. Zwar behauptet Baumgarten (35), daß Aderlaßblut nicht selten wochenlang seine bakterizide Kraft beibehält, aber genaue Ermittlungen Cohns (36) lehren, daß Kaninchenblut nur nach 2—3-tägigem, Hammelblut nach 3—4-tägigem Aufbewahren im Eisschrank sich bakterizid erhält. Ja bei 30—40° C aufbewahrtes Kaninchen- und Meerschweinchenblut erfährt sogar schon nach 6—12 Stunden eine erhebliche Abschwächung seiner bakteriziden und hämolytischen Wirksamkeit, wie wir aus den jüngst veröffentlichten Untersuchungen Lüdkes (37) wissen. Nun hatte sich aus unseren Versuchen mit Lymphocyten herausgestellt, daß erst mit 20 Tagen eine, dann aber sehr deutliche Abschwächung zu Tage trat. Wenn wir bei unseren Leukocytenproben keine solchen Resultate erhielten, so konnte das daran liegen, daß eben die aktiven Stoffe des Serums und der Leukocyten sich nicht so lange wirksam erhielten, als zur Beeinflussung der wohl infolge ihrer wachsartigen Hülle besonders widerstandsfähigen Tuberkelbacillen erforderlich gewesen wäre. Um also auch in vivo Aleuronatexsudat auf die Bacillen einwirken lassen zu können, stellten wir uns bei einem Hunde solches Exsudat her, sogen nach 24 Stunden etwas davon ab, versetzten es mit der Kultur und brachten diese Emulsion wieder in die Bauchhöhle des Tieres zurück. Es leidet dieses Verfahren freilich an dem Uebelstande, daß die verwendete Bacillenmenge stetig geringer wird, indem die Wanderzellen sich der Eindringlinge bemächtigen und sie namentlich ins Netz und in die Mesenteriallymphdrüsen verschleppen, wie dies besonders eingehend Metschnikoff (38) an ins Meerschweinchenperitoneum injizierten Gansblutkörperchen studiert hat. Freilich fällt dieser Uebelstand nicht ins Gewicht, ja er verleiht den Versuchen sogar eine noch höhere Beweiskraft, wenn sich keine Virulenzverminderung konstatieren läßt.

Gleich Broden (24) und Achard et Loeper (25) sahen wir nun die ersten Zeichen mononukleärer Phagocytose nach 24 Stunden auftreten und dann von Tag zu Tag mehr in den Vordergrund treten. Doch konnten wir im Gegensatz zu den Angaben der vielen anderen Autoren selbst in Proben vom 28. Tage noch gelegentlich Tuberkelbacillen in polynukleären Zellen beobachten, wenn auch in überwiegender Minderzahl, vielleicht zurückzuführen auf die große Menge der schon vorher angesammelten polymorphkernigen Elemente. Unter den phagocytierenden mononukleären Zellen fanden sich teils typische mononukleäre Leukocyten, viele darunter erwiesen sich aber morphologisch als abgestoßene Peritonealendothelien, worauf ja Broden (24), gestützt auf sorgfältige Untersuchung an mit Silber imprägnierten Netzen und nativen Omentumpräparaten, sämtliche mononukleäre Elemente des tuberkulösen Peritonealexsudates zurückführen möchte.

Trotz dieser stark ausgesprochenen mononukleären Phagocytose aber, trotzdem hier von einem Unwirksamwerden der aktiven Schutz-

stoffe nicht mehr die Rede sein konnte, und obwohl die Bacillenzahl mit jeder Probe geringer wurde, wie sich deutlich aus der Durchmusterung der Deckglaspräparate ergab, erhielten wir dennoch keine Resultate, die auf eine wesentliche Abschwächung der Ausgangskultur zu beziehen wären. Nur die Zahlen der V. Probe (8 Proz. Totalgewichtsverlust, 0,24 g pro Tag und 100 g Körpergewicht) scheinen darauf hinzuweisen, daß mit diesem Zeitpunkte, also nach 4-tägigem Verweilen in der Peritonealhöhle, eine Abschwächung begonnen habe, die aber schon in der nächsten Probe nach weiteren 4 Tagen nicht mehr nachweisbar war. Man könnte dabei vielleicht an die Verhältnisse denken, wie sie Wilde (39) für die Milzbrandinfektion nachgewiesen hat. Er zeigte nämlich, daß das Blutserum von Tieren kurze Zeit (höchstens 6 Stunden) vor dem Tode seine bakterizide Wirkung auf diese Bakterien *in vitro* gänzlich verliert, daß also das Unterliegen des Organismus im Kampfe gegen diese Bakterien-species auf der Vernichtung des Alexins und auf Aufhebung von dessen Neubildung beruhe. Es müßte dann in unserem Falle die am 4. Tage einsetzende Abschwächung am 8. wieder verschwunden sein, weil der infizierte Hund der Tuberkelbacilleninvasion erlag, und damit die Schutzkräfte, die in seinen Exsudatzellen und in seinem Exsudatserum angesammelt waren, vollständig aufgebraucht, die Fähigkeit, neue Stoffe zu bilden, vollständig vernichtet war. Es wäre das jener Zeitpunkt, wonach man bei neuerlicher Bacilleneinfuhr akute Tuberkulose im Sinne Bails (40, 41) bekommen müßte. Dieser Zeitpunkt tritt aber nach den Beobachtungen dieses Forschers (40) selbst beim so empfänglichen Meerschweinchen und bei größtmöglicher Bacilleneinfuhr nicht vor einer gewissen Zeit ein. So zeigte ein Tier, dem innerhalb von 3 Tagen 800 mg Tuberkelbacillen injiziert worden waren, weder am 9. Tage bei neuerlicher Injektion von 100 mg, noch am 11. Tage bei Wiederholung dieser Dosis die Ueberschwemmung mit den Tuberkelgiften und für das Versagen der Abwehrvorrichtungen typischen Erscheinungen, obwohl es am 16. Tage der Infektion erlag. Unser Hund nun lebte nach jenem oben erwähnten Zeitpunkte noch 30 Tage, auch erfolgte sein Tod hauptsächlich durch Behinderung der Atmung infolge des mächtig entwickelten Exsudates, während die inneren Organe, mit Ausnahme der Lungen, sich tuberkulosefrei erwiesen. Dazu kommen noch Untersuchungen Kentzlers (42), der zeigte, daß in den verschiedensten Stadien der Tuberkulose beim Menschen der Komplementgehalt des Blutes mit dem Gesunder übereinstimmt, also keine Komplement- oder Alexinabnahme erfährt, Beobachtungen, die auch von Lüdke in oben erwähnter Arbeit bestätigt werden.

Nach alledem halten wir uns für vollkommen berechtigt, auch diese Möglichkeit eines negativen Ausfalls unserer Versuche auszuschließen und glauben mit Recht sagen zu können, daß auch die mononukleären Elemente tuberkulöser Exsudate keine Aufhebung der Tuberkelbacilleneinwirkung bedingen, wie wir sie durch Lymphocytenwirkung erreichen konnten. Freilich scheinen die gelegentlich beobachteten Bilder von Lebercirrhose und Fettleber für eine gewisse Abschwächung der Tuberkelbacilleneinwirkung zu sprechen.

Fassen wir nun die Resultate aller unserer Versuchsreihen zusammen, so fühlen wir uns zu folgenden Schlüssen berechtigt:

„Bei der Bekämpfung in den lebenden Organismus eingedrungener infektiöser Tuberkelbacillen kommt weder dem Alexin (Komplement oder Mikrocytase) noch

der polynukleären oder mononukleären Phagocytose eine ausschlaggebende Rolle zu. Die Phagocytose, die so augenfällig in Erscheinung tritt, daß danach allein v. Behring und Bail ihr eine größere Bedeutung hierbei zuschreiben möchten, mag insofern von Bedeutung sein, als sie vorwiegend dazu bestimmt erscheint, eingedrungene Tuberkelbacillen in die Lymphdrüsen oder sonstige Stätten mit Lymphocytenansammlung zu schaffen, wo der eigentliche Vernichtungskampf gegen die Infektionserreger und ihre Gifte geführt wird.“

Literatur.

- 1) v. Behring, Beitrag zur Frage der Rindertuberkulose-Immunisierung. (Beitr. z. exper. Therap. 1905. Heft 10. p. 9.)
- 2) Goggia, I fenomeni di necrobiosi presentati dai bacilli tubercolari iniettati sotto la cute degli animali. (Ann. dell'Istituto Maragliano. Vol. I. Maggio 1904. No. 1.)
- 3) Héricourt et Richet, Nouvelles expériences sur les effets des injections de sérum dans la tuberculose. (Compt. rend. de la soc. de biol. Séance 16 mai 1891. p. 335.)
- 4) Metschnikoff, L'immunité. Paris (Masson) 1901. (Zit. nach Metschnikoff in Kolle u. Wassermann. Bd. IV, I. 1904. p. 392.)
- 5) Bordet, J., Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897. p. 183.)
- 6) Funk, La sérothérapie de la fièvre typhoïde 1896. (Zit. nach Metschnikoff in Kolle u. Wassermann. Bd. IV, I. 1904. p. 392.)
- 7) Metschnikoff, Die Lehre von den Phagocyten und deren experimentellen Grundlagen. (Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. IV, I. 1904. p. 392.)
- 8) Isaëff, Untersuchungen über künstliche Immunität gegen Cholera. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI. 1894. p. 287.)
- 9) Wyssokowitsch, Ueber den Einfluß der Quantität der verimpften Tuberkelbacillen auf den Verlauf der Tuberkulose bei Kaninchen und Meerschweinchen. (X. Internat. Kongr. Bd. II. 3. Abt. 1890. Zit. nach Gärtner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. 1893. p. 187.)
- 10) Löwenstein, Ueber Septikämie bei Tuberkulose. (Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenw. Bd. VII. 1905. Heft 6.)
- 11) Bergeron, La présence du bacille de Koch dans le sang. [Thèse.] Paris 1904. (Zit. nach Löwenstein, l. c.)
- 12) Wilde, Ueber die Beeinflussung der Alexinwirkung durch Absorption. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIV. 1902. p. 51 ff.)
- 13) Buchner, Ueber Immunität und Immunisierung. (Münch. med. Wochenschr. 1894. p. 717 u. 745.)
- 14) Van de Velde, Etude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène. (La Cellule. T. X. 1894. Fasc. 2. Zit. nach Wauters, Arch. de méd. experim. T. X. 1898. p. 751.)
- 15) Bail, Ueber das Freiwerden der bakteriziden Leukocytenstoffe. (Berl. klin. Wochenschr. 1897. p. 887.)
- 16) Weleminsky, Ueber die mechanische Gewinnung bakterizider Leukocytenstoffe. (Prag. med. Wochenschr. Bd. XXV. 1900. S.-A.)
- 17) Däubler, Ueber die bakterizide Kraft der Leukocytenstoffe verschiedener Tier-species etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXV. 1899. p. 134.)
- 18) Almquist, Zur Phagocytose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. 1899. p. 507.)
- 19) Bordet, Recherches sur la phagocytose. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. X. 1896. p. 104.)
- 20) Buchner, Immunität. (Münch. med. Wochenschr. 1900. p. 1193.)
- 21) Kowalewsky, Mélanges biologiques de l'Académie de Saint-Petersbourg. T. XIII. 1894. p. 437. Zit. nach Metschnikoff, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VIII. 1894. p. 712.)
- 22) Bardach, Recherches sur la fièvre récurrente. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 365.)
- 23) Landsteiner, Ueber die Folgen der Einverleibung steriler Bakterienkulturen. (Wien. klin. Wochenschr. 1897. p. 439.)

- 24) Broden, Recherches sur la histogenèse du tubercule et de réaction active de la tuberculine. (Arch. de méd. expér. 1899. p. 20.)
- 25) Achard et Loeper, Les globules blancs dans la tuberculose. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 39. p. 1066. Ref. Baumgartens Jahresberichte. 1900. p. 298.)
- 26) Dembinski, La phagocytose chez les pigeons à l'égard du bacille tuberculeux oviar et du bacille humain. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899.)
- 27) Markl, Ueber den Mechanismus der Abwehr des Organismus bei Infektion mit Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 1.)
- 28) Borrel, Tuberculose pulmonaire expérimentale. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893.)
- 29) Römer, Tuberkelbacillenstämme. (Beitr. z. exper. Therap. 1903.)
- 30) Wolff u. v. Torday, Ueber experimentelle Erzeugung von Lymphocytenexsudaten. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 49.)
- 31) Bartel u. Neumann, Lymphocyt und Tuberkelbacillus. (Eingesandt d. Centralbl. f. Bakt. etc.)
- 32) Metschnikoff, Ueber die Immunität bei Infektionskrankheiten, mit besonderer Berücksichtigung der Cellularpathologie. (Lubarsch-Ostertags Ergebnisse. Bd. I. 1896. p. 298.)
- 33) Pappenheim, Zit. nach Türk, Vorlesungen über klinische Hämatologie. Wien 1904. p. 332—336.)
- 34) Türk, Vorlesungen über klinische Hämatologie. Wien 1904. p. 397.
- 35) Baumgarten, Beitrag zur Lehre von der natürlichen Immunität. (Arb. a. d. path.-anat. Institute zu Tübingen. Bd. III. 1902. p. 131.)
- 36) Cohn, Ueber die Immunisierung von Typhusbacillen gegen die bakterizide Kraft des Serums. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903. p. 61.)
- 37) Lüdke, Beiträge zum Studium der Komplemente. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 43.)
- 38) Metschnikoff, Études sur la résorption des cellules. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIII. 1899. p. 744.)
- 39) Wilde, Ueber das Verhalten der bakteriziden Kraft des Kaninchenserums bei der Milzbrandinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901. p. 476.)
- 40) Bail, Ueberimpflichkeit bei tuberkulösen Tieren. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 30.)
- 41) —, Der akute Tod von Meerschweinchen an Tuberkulose. (Ibid. 1905. No. 9.)
- 42) Kentzler, Der Komplementgehalt des Blutes bei verschiedenen Formen der Lungentuberkulose. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 11.)

Nachdruck verboten.

Ueber eine die Blutgerinnung hemmende Substanz in *Ankylostoma caninum*.

[Aus dem pathologischen Laboratorium der University of Pennsylvania.]

Von Leo Loeb und Allen J. Smith.

In der Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. L. 1905 berichtet H. Liefmann unter anderem über Versuche, eine gerinnungshemmende Substanz in *Ankylostoma caninum* nachzuweisen. Er fand in einem Versuch eine gerinnungshemmende Wirkung, in zwei anderen nicht. Er glaubt, daß diese gerinnungshemmende Wirkung durch Beimischung von Peptonen und Pankreassekret bewirkt sein könne. Diese Erklärungsweise ist nicht zutreffend aus folgenden Gründen: 1) In unseren Versuchen¹⁾ waren die Würmer in 0,85-proz. NaCl-Lösung gewaschen worden, ehe der Extrakt bereitet wurde. 2) Es zeigte sich ein sehr deutlicher Unterschied zwischen der Wirkung der vorderen und der hinteren Körperhälfte ganz entsprechend den bei *Hirudo* und

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904.

Ixodes erhobenen Befunden. Diese Tatsache ist unvereinbar mit der Annahme von Beimengungen als den wirksamen Substanzen. 3) Pepton wirkt gerinnungshemmend nach intravenöser Injektion. In vitro wirken Lösungen von Pepton anders. Lösungen von Wittes Pepton können sogar in vitro die Gerinnung des Gänseplasmas beschleunigen¹⁾. Vermutlich verhält es sich mit Hundeblood ähnlich. Daß kleine Peptonmengen auf Hundeblood in vitro stark gerinnungshemmend wirken, darüber ist jedenfalls nichts bekannt, und das ist auch unwahrscheinlich. Ferner wird die Wirkung des *Ankylostoma*-Extraktes durch Kochen merklich abgeschwächt. Die intravenöse Wirkung des Peptons wird durch Kochen nicht herabgemindert. 4) Eine Beimengung von Dünndarmschleimhaut des Hundedarmes oder des den Darm bedeckenden Schleimes wirkt nicht nur nicht gerinnungshemmend, sondern stark gerinnungsbeschleunigend auf Hundeblood. Ebenso wirkt Pankreasextrakt des Hundes, wenn auch schwächer, doch ebenfalls beschleunigend auf die Blutgerinnung des Hundes²⁾. 5) Wären Beimischungen die Ursache der Gerinnungshemmung gewesen, so sollten Extrakte von *Ascaris* und *Taenia*, die aus dem Hundedarm gewonnen wurden, ebenfalls gerinnungshemmend gewirkt haben; sie wirkten aber, wie zu erwarten, gerinnungsbeschleunigend.

Worauf es beruht, daß Liefmann unter 3 Versuchen nur einmal Gerinnungshemmung fand, ist schwer zu sagen, da der Verf. keine Mitteilungen macht über die Anzahl der zum Extrakte benutzten Ankylostomen und über die Menge der benutzten Salzlösung. Es hängt natürlich viel von der Herstellungsweise des Extraktes ab, ebenso davon, daß das zur Prüfung benutzte Hundeblood richtig mit einer Kanüle entnommen und sofort mit dem Extrakt gut gemischt wird. Wir fanden in 3 Versuchen eine sehr starke gerinnungshemmende Wirkung von *Ankylostoma*. Nur in einem Versuch fehlte dieselbe. In diesem Versuch war eine geringere Anzahl von Tieren benutzt worden, ferner blieben die zerschnittenen Würmer einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen, bevor der Extrakt hergestellt wurde. Die Möglichkeit besteht allerdings, daß gewisse Variationen in der Menge der in den Würmern vorhandenen gerinnungshemmenden Substanzen zwischen verschiedenen Tieren bestehen, oder daß Unterschiede zwischen den Würmern verschiedener Länder bestehen. Jedenfalls steht fest, daß zum mindesten in einer sehr großen Anzahl der hier gefundenen Exemplare von *Ankylostoma caninum* in der vorderen Körperhälfte der Tiere eine die Blutgerinnung stark hemmende Substanz vorhanden ist. Daß die Extrakte nicht hämolytisch wirken, haben wir schon in unserer früheren Publikation angegeben.

1) Versuche über einige Bedingungen der Blutgerinnung etc. (Virchows Arch. Bd. CLXXVI. 1904. p. 31.) — Ueber die Koagulation des Blutes einiger Arthropoden. (Hofmeisters Beitr. Bd. V. 1904. p. 203.)

2) Weitere Untersuchungen über Blutgerinnung. (Hofmeisters Beitr. Bd. V. 1904. p. 548.)

Nachdruck verboten.

Ein weiterer Versuch über die die Blutgerinnung hemmende Substanz in *Ankylostoma caninum*.

[Aus dem pathologischen Laboratorium der University of Pennsylvania, Philadelphia.]

Von Leo Loeb, Philadelphia.

Weitere Untersuchungen bestätigten die früheren Schlußfolgerungen¹⁾ in Bezug auf die die Blutgerinnung hemmende Wirkung von *Ankylostoma*-Extrakt vollkommen.

Im Darne dreier Hunde wurden 62 *Ankylostomen* gefunden; dieselben wurden in etwa 10 ccm steriler 0,85-proz. NaCl-Lösung gelegt und dann abgespült. Einzelne Würmer hatten etwas grauweiße Substanz an ihrer Außenseite haften. Diese wurde abgewaschen. Sodann wurden sie, nachdem sie mehrere Stunden in der Salzlösung auf Eis gestanden hatten, in einem weiteren Schälchen mit Salzlösung nochmals abgspült, darauf wurde mit Filtrierpapier jedes einzelne Tier getrocknet. Dann wurden die *Ankylostomen* in einem kleinen Mörser unter Zufügen einer sehr geringen Menge sterilen Sandes zu einer breiigen Masse zerstoßen, und 4 ccm einer 0,85-proz. NaCl-Lösung wurde damit sorgfältig gemischt. Dieses Gemisch wurde, ebenso wie die erste Salzlösung, in der die Würmer gewaschen worden waren, über Nacht etwa 17 Stunden lang auf Eis gehalten. Es wurde der Extrakt öfters geschüttelt. Am nächsten Morgen wurde mittels Kanüle aus der Femoralis eines Hundes Blut entnommen und in Reagenzröhren, die die Extrakte, die Salzlösung, in der die *Ankylostomen* gewaschen worden waren und 0,85-proz. NaCl-Lösung als Kontrolle enthielten, aufgefangen und sofort geschüttelt.

- 1) 3 Kontrollröhren mit je 1 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 1 ccm Blut, nach 7—8 Minuten ganz koaguliert.
- 2) 3 Röhren mit je 1 ccm Salzlösung, in der die *Ankylostomen* gewaschen worden waren, nach 3—5 Minuten ganz koaguliert.
- 3) I. 1 ccm *Ankylostoma*-Extrakt + 1 ccm Blut, Koagulation beginnt nach 3 Stunden 18 Minuten.
 II. 1 ccm *Ankylostoma*-Extrakt + ein wenig mehr wie 1 ccm Blut, Koagulation beginnt nach 2 Stunden 23 Minuten, beendet nach $3\frac{1}{4}$ Stunden.
 III. $\frac{3}{4}$ ccm *Ankylostoma*-Extrakt + ungefähr $1\frac{3}{4}$ ccm Blut, 56 bis 60 Minuten koaguliert.

Dieser Versuch zeigt auf das deutlichste, was schon aus unseren früheren Versuchen hervorging, daß den *Ankylostomen* außen anhaftende Substanz nicht die Ursache der Gerinnungshemmung ist. Die Waschlösigkeit hatte im Gegenteil eine die Gerinnung beschleunigende Wirkung, was auch zu erwarten war, da aus früheren Versuchen hervorging, daß die der Schleimhaut direkt aufliegende Substanz die Gerinnung beschleunigt. Da die *Ankylostomen* der Schleimhaut dicht anliegen, so könnten solche gerinnungsbeschleunigenden Substanzen als Beimengungen in Betracht kommen. Aber auch diese Substanzen werden ja durch Reinigen der *Ankylostomen* beseitigt. Dazu kommt noch, daß der Körper des Tieres neben der in der vorderen Körperhälfte pro-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904.

duzierten gerinnungshemmenden Substanz wie die meisten anderen tierischen Gewebe voraussichtlich Gewebskoaguline enthält und daher die Gerinnung beschleunigt. Außerdem wirken Fremdkörper wie Sand, kleine Gewebstücke gerinnungsbeschleunigend.

Die Gerinnungshemmung war in dem hier mitgeteilten Versuch deutlich ausgesprochen, obwohl sie nicht so stark war wie in einigen unseren früheren Versuche, da nur eine geringere Anzahl Würmer zur Verfügung stand. Außerdem wurden die ganzen Tiere und nicht nur die vorderen Hälften benutzt.

In früheren Versuchen hatte sich gezeigt, daß, nachdem der flüssige Inhalt des Dünndarms einmal mit 0,85-proz. NaCl-Lösung abgespült worden war, die der Schleimhaut aufliegenden Substanzen (vermutlich hauptsächlich Schleim) einen die Gerinnung stark beschleunigenden Einfluß hatten. Obwohl andere Substanzen als die letztgenannten bei unserer Versuchsanordnung als Beimengungen nicht in Betracht kommen, sollte doch noch besonders geprüft werden, wie der Inhalt des Dünndarmes, der bei der ersten Ausspülung mit einigen Kubikcentimetern einer 0,85-proz. NaCl-Lösung erhalten wurde, sich der Blutgerinnung gegenüber verhielt. In 2 Versuchen wurde der Darminhalt von 2 Hunden und ebenso das Blut von 2 anderen Hunden benutzt. Das Blut eines dieser beiden letzten Hunde war auch auf sein Verhalten gegenüber *Ankylostoma*-Extrakt geprüft worden.

Es wurde wiederum 1 ccm (mit 0,85-proz. NaCl) verdünnter Darminhalt mit ungefähr 1 ccm Blut gemischt.

In beiden Versuchen gerannen je 3 Kontrollröhrchen mit 0,85-proz. NaCl-Lösung in 5—7 Minuten.

In beiden Versuchen verursachte der Inhalt des Duodenums Gerinnung innerhalb 1 Minute.

Der Inhalt des Duodenums hatte eine gelbgrünliche Farbe.

Der Inhalt eines Stückes, das etwa der Grenze vom oberen und mittleren Drittel des Dünndarms entsprach, verursachte ebenfalls Gerinnung innerhalb der ersten Minute. Diese Masse (Flüssigkeit mit suspendierten Flocken) hatte eine weißlichgraue Farbe. Eine grünliche Flüssigkeit, die aus einem tieferen Teil des Dünndarmes gewonnen war (aber noch in einiger Entfernung von dem Dickdarm), verursachte Gerinnung des mit ihm gemischten Blutes in 15—19 Minuten. Die Mehrzahl der *Ankylostomen* finden sich in den oberen zwei Dritteln des Dünndarms, wenn die unteren Teile viele Tänien enthalten.

Also 3mal hatte der Inhalt des Dünndarms eine die Blutgerinnung stark beschleunigende Wirkung, die den unteren Teilen entnommene Flüssigkeit hatte eine schwach hemmende Wirkung; diese hemmende Wirkung war aber bedeutend geringer wie die durch das *Ankylostoma*-Extrakt ausgeübte.

Aus allen bisher vorliegenden Versuchen können wir schließen, daß in dem vorderen Körperende von *Ankylostoma* vorhandene gerinnungshemmende Substanz sehr wirksam ist, und wenn wir die geringe Größe der Tiere berücksichtigen, liegt es nahe, anzunehmen, daß sie der im Blutegel vorhandenen an Stärke kaum nachsteht.

Es bliebe nur noch zu untersuchen, ob die *Ankylostomen* in verschiedenen Ländern sich in Bezug auf diese Substanz verschieden verhalten. Das ist aber unwahrscheinlich.

Nachdruck verboten.

Ueber die immunisierende Wirkung des aus dem Milzbrandbacillus extrahierten Nukleoproteids auf Schafarten.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie in Florenz
(Direktor: Prof. A. Lustig).]

Experimentelle Untersuchungen.

Von Dr. N. Tiberti, Privatdozenten an der königl. Universität Florenz.

In einer von mir im Centralblatt für Bakteriologie im Jahre 1904¹⁾ veröffentlichten Arbeit habe ich die Möglichkeit nachgewiesen, Kaninchen gegen Milzbrand zu immunisieren, vermitteltst wiederholter Inokulationen einer Substanz (Nukleoproteid), die nach einer von mir in allen ihren Einzelheiten beschriebenen Methode aus den Bacillen des Milzbrandes gewonnen wird.

Die Resultate meiner Untersuchungen wurden zuerst von Galeotti²⁾ und hierauf von Rossi³⁾ bestätigt.

Im Verlaufe dieses Jahres wollte ich die Wirkungen dieser auf chemischem Wege erhaltenen Impfstoffe auf Schafarten erproben, da diese Tiere sich ebenso empfänglich für den experimentellen Milzbrand, wie für die natürliche Infektion erweisen. — Ehe ich jedoch in Kürze über die von mir erzielten Resultate berichte, halte ich es für angezeigt, einige Modifikationen zu erwähnen, die ich bei der Präparation des Nukleoproteids vornahm, weil man, wie ich schon in meiner früheren Arbeit bemerkte, bei derselben auf nicht geringe Schwierigkeiten stößt. Letztere sind namentlich abhängig von der sporogenen Natur des Mikroorganismus und von dem mitunter sehr beträchtlichen Widerstand, den die Bacillen der lösenden Einwirkung der zur Präparierung des Nukleoproteids verwendeten Lösungen von Aetzkali entgegensetzen.

Ich hatte bemerkt, daß die Bacillen, die der Einwirkung des Aetzkalis den größten Widerstand entgegensetzten, diejenigen waren, welche zahlreiche Passagen durch die künstlichen Kulturböden erlitten hatten. Deshalb kam ich auf den Gedanken, Kulturen zu verwenden, die ich frisch aus dem Blute experimentell infizierter Meerschweinchen gewonnen hatte, und in der Tat erwiesen sich die Kulturen als besser dem Zweck entsprechend. Um dem anderen Uebelstand abzuweichen, der durch die Anwesenheit der Sporen herbeigeführt wurde, verwendete ich asporogene Kulturen, die ich dadurch erhalten hatte, daß ich die Bacillen auf Agar in breite, vorher sterilisierte Glaskapseln aussäte und die Kulturen bei einer konstanten Temperatur von 42,5° drei Tage lang hielt; dieser Zeitraum genügte, um eine ziemlich reichliche Vegetation zu erhalten.

Außerdem dachte ich daran, um die Disintegrierung der Mikroorganismen zu erleichtern, mit der auflösenden Wirkung des Aetzkalis die mechanische Zerreibung zu verbinden; deshalb sammelte ich die Vegetation in einem sterilisierten Mörser, verdünnte sie durch kleine Mengen von 3-proz. Aetzkalilösung, setzte sterilen Glasstaub hinzu und untersetzte die Zerreibung lange und zu wiederholten Malen.

1) Ueber die immunisierende Wirkung des aus dem Milzbrandbacillus extrahierten Nukleoproteids. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. 1904.)

2) Il Morgagni. Anno XLV. 1903. Marzo.

3) Gazzetta internazionale di Medicina. Anno VII. 1904. No. 13.

Nach Beendigung dieser Operation, bei der die größte Vorsicht anzuwenden ist, goß ich das Ganze in ein steriles Glasgefäß und setzte eine beträchtliche Menge der obenerwähnten Aetzkalklösung hinzu, mit der ich die Bacillen 3—4 Tage bei 25° in Kontakt ließ; dabei trug ich Sorge dafür, die Flüssigkeit von Zeit zu Zeit mit einem sterilen Spatel umzurühren. Indem ich auf diese Weise verfuhr, erhielt ich eine größere Disintegrierung des Milzbrandbacillus als diejenige war, welche zu erreichen, mir bei Anwendung der in meiner früheren Arbeit von mir beschriebenen Methode gelungen war. Ich konnte jedoch auch bei Befolgung dieser Methode sehen, daß, während der größte Teil der Bacillen einen mehr oder weniger deutlichen Grad der Auflösung darbietet, andere sich ziemlich gut erhalten zeigen. Die kulturelle Untersuchung der Flüssigkeit beweist jedoch, daß diese Formen nicht mehr lebensfähig sind insofern, als wenn die Präparierung mit der gewissenhaftesten Asepsis ausgeführt wurde und genau sterilisierte Gefäße und Lösungen verwendet wurden, die Kulturen konstant steril bleiben.

Nach Abklärung der Flüssigkeit, welche die zum großen Teil disintegrierten Bakterien aufschwebend und die aus den Bacillenleibern extrahierten Substanzen aufgelöst enthält, setzt man tropfenweise eine sehr verdünnte Essigsäurelösung hinzu. Es zeigt sich ein Niederschlag, der sich von der Flüssigkeit trennt, indem er sich auf dem Boden des Glases sammelt. Der so gewonnene Niederschlag wird auf einem Filter aus sterilisiertem Löschpapier gesammelt, und wiederholt mit sterilem destilliertem Wasser gewaschen, bis zum völligen Verschwinden der sauren Reaktion; hierauf wird der Filter über einer Glasplatte ausgebreitet, und nachdem man die auf ihm abgelagerte Patina vermittelt eines Spatels gesammelt hat, löst man sie in einer 2-proz. sterilen Natriumkarbonatlösung auf. Auf diese Weise erhält man eine Flüssigkeit von opalartigem Aussehen, die außer einigen abgestorbenen Bacillenformen das Nukleoprotein des Milzbrandbacillus gelöst enthält.

Während ich bei meinen Experimenten an Kaninchen regelmäßig, durch Chamberlandsche Kerze filtrierte Nukleoprotein verwendete, benutzte ich bei dieser Reihe von Experimenten nicht filtrierte Impfstoffe; dies zu tun, war mir deshalb möglich, weil ich asporogene Kulturen verwendet hatte und eine größere Disintegrierung des Mikroorganismus hatte erzielen können.

Die bei diesen Experimenten von mir verwendete Nukleoproteinlösung enthielt 55 mg aktive Substanz in 5 ccm Natriumkarbonatlösung.

Ich stellte Versuche mit meinem Impfstoffe an zwei Lämmern und zwei Böckchen an. Ein Lamm von 9,400 kg Gewicht wurde einmal am 20. März 1905 geimpft mit 5,5 mg Nukleoprotein, wobei ich die Lösung unter der Haut der inneren Region des rechten Schenkels inokulierte; ein zweites Mal wurde es 10 Tage später (31. März) mit 8,25 mg Nukleoprotein geimpft, wobei die Injektion unter der Haut des linken Schenkels gemacht wurde. — Ein zweites Lamm von 7,800 kg Gewicht wurde ebenfalls zweimal im ganzen, am 13. und am 25. März, geimpft, unter denselben Modalitäten wie das vorige und mit denselben Dosen von Nukleoprotein. Beide Lämmer reagierten auf die Inokulation des Impfstoffes durch Erhöhung der Temperatur, die zwischen 39 und 40,2° schwankte, während vorher die Abendtemperatur höchstens auf 38,4° C stieg. Sowohl beim ersten als beim zweiten Tiere wurde die Impfung ausgeführt, als die durch die vorhergehende Impfung verursachte Temperatursteigerung aufgehört hatte und die Temperatur wieder eine

normale geworden war, und nachdem sich das Versuchstier vollständig erholt hatte. Es ist zu betonen, daß bei diesen Tieren kein lokale Erscheinung an der Impfstelle zum Vorschein gekommen ist.

Das erste Lamm wurde nachher (am 18. Mai) auf subkutanem Wege mit virulenter Milzbrandkultur, 1 Monat und 18 Tage nach der letzten Impfung infiziert und wog damals 13,500 kg; das zweite Tier, das ebenfalls an Gewicht bedeutend zugenommen hatte, wurde auf intraperitonealem Wege mit derselben Kultur (eine Platinöse einer virulenten Kultur) zwei Monate nach der letzten Inokulation von Nukleoprotein infiziert. Beide Tiere zeigten sich etwas abgeschlagen während der ersten auf die Injektion der Milzbrandkultur folgenden Tage. Sie reagierten gleichzeitig durch erhöhte Temperatur, die beim zweiten 41,6° erreichte. Die Tiere zeigten sich nachher, was Temperatur und allgemeinen Zustand betrifft, ganz normal, nahmen erst in den heißen Monaten an Gewicht ab, besonders weil sie nicht in angemessener Weise ernährt werden konnten. Als jedoch die intensive Hitze aufgehört hatte, erholten die Tiere im September sich sehr schnell und noch heute, 7 Monate nach der Inokulation mit der Milzbrandkultur, erfreuen sie sich einer vollkommenen Gesundheit, haben an Gewicht bedeutend zugenommen und leben gemeinsam in Laterina bei Arezzo mit 30 anderen gesunden Schafen zusammen.

Ungefähr gleichzeitig mit den beiden Lämmern impfte ich auch zwei sehr junge Böckchen mit gleichen Dosen von Nukleoprotein wie die bei den Lämmern verwendeten. Sie reagierten auch auf die Inokulation von Nukleoprotein durch Erhöhung der Temperatur, die jedoch geringer war als bei den vorigen Tieren. Sie wurden beide mit virulenten Milzbrandkulturen in der Bauchhöhle infiziert. Während der folgenden Tage zeigten die Tiere Abgeschlagenheit und zwischen 39,5 und 40,8° schwankendes Fieber. Bei beiden war der Bauch beträchtlich angeschwollen und beide erlagen 4 Tage nach der Infektion.

Bei der Nekroskopie wurde das Bild einer purulenten Peritonitis angetroffen. Die bakteriologische Untersuchung des Exsudates im Peritoneum ergab die Anwesenheit von sehr virulenten Streptokokken und nicht zahlreiche Milzbrandbacillen. Letztere sind auch spärlich im Kreislauf vorhanden. Wie man wohl einsieht, haben diese zwei Experimente von meinem Gesichtspunkt aus keinen Wert, da ja die schwere purulente Peritonitis die Hauptursache des Todes der Tiere gewesen war. Als Kontrolltier habe ich ein gesundes Lamm genommen. Dasselbe wurde subkutan mit einer Platinöse jener virulenten Milzbrandkultur infiziert, die mir für meine anderen Experimente gedient hatte.

Das Kontrolltier starb 54 Stunden nach der Inokulation an Milzbrandseptikämie, wie die Obduktion nachher zeigte.

Wenn auch die Zahl meiner Experimente nicht eine solche ist, daß sie mir gestattet, ein endgültiges Urteil hinsichtlich der durch die von mir verwendeten Impfstoffe auf Schafarten ausgeübten immunisierenden Wirkung abzugeben, so scheint mir doch, daß man auf Grund der bei den Lämmern erhaltenen Resultate die Möglichkeit nicht in Abrede stellen kann, diese Tiere vermittelt Impfungen von Nukleoprotein, das aus dem Milzbrandbacillus gewonnen wurde, gegen Milzbrandinfektion zu immunisieren.

Nachdruck verboten.

Ueber die Heilwirkung der Radiumstrahlen bei der durch Strassenvirus verursachten Wut.

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie der kgl. Universität zu Bologna (Direktor: Prof. G. Tizzoni).]

4. vorläufige Mitteilung.

Von Prof. Guido Tizzoni und Dr. Alessandro Bongiovanni.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

In unseren vorhergehenden Mitteilungen¹⁾ haben wir festgestellt, daß die Radiumstrahlen, besonders die β -Strahlen, eine energische Wirkung auf die durch fixes Virus verursachte Wut ausüben, und zwar sowohl bei gleichzeitiger Anwendung als auch noch dann, wenn schon die ersten Anzeichen der Krankheit sich gezeigt haben; dies wurde von uns auch in weiteren Versuchen, die wir in den erwähnten Abhandlungen veröffentlicht haben, bestätigt.

Nach diesen Feststellungen war es natürlich und auch geboten, daß wir zu prüfen suchten, ob diese selben Strahlen auch auf das Straßenvirus die gleiche Wirkung ausüben würden.

Die betreffenden Untersuchungen wurden alle nach derselben Methode wie die vorangehenden gemacht. Die Infektion wurde immer subdural vorgenommen, und zwar nahm man dazu entweder Virus vom Hunde oder ließ es erst nacheinander mehrere Kaninchen passieren. Das Radium im Werte von 100 000 R.E. (radioaktiven Einheiten) wurde immer auf das Auge appliziert und ebenso lange dort in seiner Lage gehalten, wie bei den mit fixem Virus angestellten Parallelversuchen, und auch noch längere Zeit, wenn nämlich die ersten Experimente kein günstiges Resultat geliefert hatten. Die Radiumbehandlung wurde bald gleichzeitig, bald kurativ (längere Zeit nach der Infektion) vorgenommen.

Die bei diesen Versuchen erhaltenen Resultate waren folgende:

Bei der kurativen Applikation des Radium erhielt man hinsichtlich des Straßenvirus dieselben günstigen Wirkungen, wie man sie beim fixen Virus gefunden hatte. Alle auf diese Weise behandelten Tiere blieben am Leben, wenn die Behandlung am 13.—15.—17. Krankheitstage begonnen hatte, während die entsprechenden Kontrolltiere in 20—23 Tagen starben. In den Fällen, in denen die Radiumapplikation in einer vorgerückteren Periode vorgenommen worden war, hatten sich auch die Symptome für die voll entwickelte Krankheit schon ganz deutlich gezeigt; es war nämlich hohes Fieber (41,3° C), beträchtliche Körpergewichtsverminderung und Steifheit oder Parese an den hinteren Extremitäten eingetreten; und als Beweis für die schweren Veränderungen, die das Virus schon im Zentralnervensystem hervorgerufen hatte, muß die spastische Paralyse einer hinteren Extremität auf der

1) L'azione dei raggi del radio sul virus rabido in vitro e nell'animale; 1ª comunicazione. (Setta alla R. Accad. delle Scienze di Bologna nella seduta del 9 aprile 1905.) — La cura della rabbia coi raggi del radio; 2ª comunicazione. (Setta alla R. Accad. delle Scienze di Bologna nella seduta del 28 maggio 1905.) — Ancora della cura della rabbia coi raggi del radio e sul loro meccanismo di azione; 3ª comunicazione. (Rendiconti della R. Accad. dei Lincei, classe scienze fisiche, matematiche e naturali, Vol. XIV. Ser. 5. Fasc. 6.)

der Operationsstelle entsprechenden Seite angesehen werden, welche wir während der Behandlung und auch einige Zeit nachher beobachten konnten; mit einer spastischen Paralyse begannen auch beim Kontrolltiere die Erscheinungen, die dem ausgesprochenen Krankheitsbilde und dem Tode kurz voraufgingen. In diesen Fällen machten es übrigens die Schwankungen im Eintritte des Todes der Kontrolltiere, die hier viel größer als wie für das fixe Virus waren, außerordentlich schwierig, die Beziehungen zwischen dem Augenblicke, in dem man mit der Behandlung begann, und der Dauer der ganzen Krankheit zahlenmäßig festzustellen.

Bei der gleichzeitigen Applikation dagegen hatte man niemals Erfolge, auch wenn man das Mittel 12 anstatt 8 Stunden lang an der betreffenden Stelle (Auge) liegen ließ. Die derartig behandelten Tiere starben immer gleichzeitig mit den Kontrolltieren.

Dieses Resultat muß auf den ersten Blick sehr sonderbar erscheinen; denn bei der unbestreitbaren Identität der beiden Virusarten, von denen doch das eine nur ein Derivat des anderen ist, begreift man eigentlich nicht, aus welchem Grunde das Radium bei seiner gleichzeitigen Anwendung auf das weniger starke Virus, wie es das Straßenvirus ist, eine schwächere Wirkung ausüben soll.

Uebrigens ist dieser Widerspruch nur scheinbar und in Wirklichkeit gar nicht vorhanden; die neuen bei den vorliegenden Untersuchungen erhaltenen Resultate dienen vielmehr nur noch zur besseren Erklärung und Erläuterung der vorhergehenden, besonders hinsichtlich des Wirkungsmechanismus des Radium.

So sagt uns der Mißerfolg des Radium dem Straßenvirus gegenüber bei gleichzeitiger Anwendung, daß die Wirkungen nicht lange Zeit in dem gewünschten Grade anhalten, und daß die Wirksamkeit des Mittels sich nicht in jeder beliebigen Periode der Krankheit gleichmäßig entfaltet.

Ist daher die Inkubationszeit sehr lang, wie es beim Straßenvirus der Fall ist, so muß die Wirkung des Radium gerade in dem Zeitpunkte, in welchem es eigentlich seine größte Wirksamkeit entfalten soll, beträchtlich geschwächt oder ganz aufgehoben sein, und zwar scheint dieser Zeitpunkt derjenige zu sein, in welchem die Vermehrung des Virus vor sich geht.

Ist dagegen die Inkubationszeit kurz, wie es beim fixen Virus der Fall ist, oder trifft es sich auch bei der durch Straßenvirus hervorgerufenen Wut gerade so, daß die Behandlung mehr in die Periode fällt, in der das Virus eben im Begriff ist, seine ersten Entwicklungsphasen durchzumachen, und die Krankheit sich auch äußerlich bemerkbar macht, dann entfaltet es auch diejenige Wirksamkeit, die man im letzten Falle, als man es gleichzeitig anwandte, vermißte.

Alle diese Tatsachen ermöglichen es uns heute, ein besseres Bild unserer Vorstellung von der sterilisierenden Wirkung zu geben, die das Radium im Tierkörper auf das Wutgift ausübt; diese Wirkung würde also nicht bedingungslos eintreten, sondern sich nur den ersten Entwicklungsformen des Virus gegenüber äußern, die am wenigsten widerstandsfähig zu sein scheinen. Einstweilen wollen wir die Frage offen lassen, ob dies der direkten Einwirkung auf die jungen Elemente der Kultur oder den im Nervensystem entstandenen Veränderungen zuzuschreiben ist, die den Nährboden für die Kultur vielleicht ungeeignet machen, so daß sie dadurch schnell zu Grunde gehen würde.

Diese Frage, welche mehr auf direktem Wege den Wirkungsmechanismus des Radium bei der Wut erklären soll, wollen wir in einer

anderen Mitteilung besonders behandeln. Durch die vorliegenden Untersuchungen wird nur soviel bewiesen, daß man, um mit dem Radium positive Resultate zu erhalten, die Zeit und die Art und Weise seiner Applikation regeln muß, und zwar derartig, daß die Wirkungen des Radium auf das Nervensystem sich in der gewünschten Intensität in einem bestimmten Momente der Krankheit äußern.

Dies veranlaßt uns, auch für den Erreger der Wut einen besonderen Entwicklungszyklus anzunehmen, in dem sich ganz klar und deutlich zwei Phasen unterscheiden lassen. Die eine, die Anfangs- oder Entwicklungsphase, fällt mit dem Zeitpunkte zusammen, in welchem die Krankheit sich gerade äußerlich bemerkbar macht; in ihr finden sich Formen, die noch leicht durch die Radiumstrahlen angegriffen und zerstört werden; die andere Phase folgt später und zeigt Formen, die wenig oder gar nicht durch dasselbe physikalische Agens beeinflusst werden.

Diese Tatsachen können uns in der Hoffnung noch mehr bestärken, im Radium ein wirksames Heilmittel auch für den Menschen gefunden zu haben.

Diese kurative Wirkung muß man sich übrigens durchaus anders als die der Pasteurschen Schutzimpfung vorstellen.

Der Pasteursche Impfstoff greift nämlich nicht das Virus an, sondern benutzt einfach die lange Inkubationszeit, um den Organismus zu immunisieren und ihn zu einem für die Vermehrung der Erreger ungeeigneten Nährboden zu machen; das Radium dagegen greift das Virus selbst an und vernichtet es direkt oder indirekt, indem es nach und nach seine jungen in der Bildung begriffenen Formen tötet; es übt indessen keinen Einfluß auf die mehr resistenten Formen aus, die sich während der Inkubationszeit und am Ende der Krankheit finden.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Typhusdiagnose aus Faeces.

Von Oberstabsarzt Dr. Hammerschmidt-Gnesen.

In einer Arbeit aus dem hygienischen Institute der Universität Breslau ist die Einwirkung der gebräuchlichsten desinfizierenden Lösungen auf Agarkulturen einer Reihe von pathogenen Bakterien einer Prüfung unterzogen worden¹). Aus der Tabelle, welche die gewonnenen Resultate zusammenstellt, geht hervor, daß die 2—5-proz. wässrige Lösung des Liquor cresoli saponatus der 2—3-proz. Karbolsäurelösung „mindestens gleichwertig, in manchen Fällen sogar überlegen ist“, und daß namentlich Typhusbacillen nach 3, Coli-Bakterien nach 3—5 Minuten abgetötet werden. Da es von Wichtigkeit erschien, welche Konzentration des Kresolwassers nötig ist, um in infizierter Wäsche Typhuskeime sicher abzutöten, ohne den Stoff selbst zu schädigen, und welcher Zeit es dazu bedarf, sind die Versuche einer Nachprüfung unterzogen worden. Der Gang der letzteren war im wesentlichen der in der Mosebachschen Arbeit angegebene: Stückchen von Leinwand und Kaliko (Unterhosen-

1) Mosebach, Untersuchung zur Praxis der Desinfizientien. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. L. Heft 3. p. 485 u. f.)

und Hemdenstoff) wurden im Heißluftsterilisator sorgfältig sterilisiert, mit künstlichem Typhuskot oder -urin beschickt und alsdann vollkommen getrocknet. Darauf wurden aus denselben unter einer Glasglocke mit steriler Schere kleine Streifen herausgeschnitten und diese in frisches, selbstbereitetes Kresolwasser hineingelegt. Nach Ablauf der zu prüfenden Zeit wurden die Streifen herausgenommen, in 3mal erneutem sterilem Wasser sorgfältig abgespült und in Bouillonröhrchen getan, in denen sie der Brutschranktemperatur ausgesetzt wurden. War nach 24—48 Stunden eine Trübung entstanden, so wurden von der Flüssigkeit Drigalski-Platten geimpft.

Das Resultat war, wie es erwartet wurde: Bei längerer Einwirkung und höherer Konzentration des Kresolwassers blieben die Platten steril; wurden hingegen geringere Mengen Kresolseifenlösung verwendet und dauerte die Einwirkung nur kurze Zeit, so war die Platte mit roten Kolonien übersät, kaum daß es gelang, hie und da eine blaue Kolonie herauszufinden. Dauerte jedoch die Einwirkung des Kresolwassers nicht zu lange und wurden Konzentrationen von mittlerer Stärke angewendet, so war das Ergebnis ein unerwartetes. Es wuchsen an Stelle der roten nur blaue Kolonien, wenn auch in geringer Zahl. Die Untersuchung derselben mittels eines aus dem Institute für Infektionskrankheiten in Berlin stammenden trockenen hochwertigen Pferdeserums ergab deutliche Agglutination. Es war also klar, daß die Kresollösung die Coli-Keime eher abgetötet bzw. in der Entwicklung gehemmt hatte, als dies bei Typhusbakterien der Fall war. Das so gewonnene Resultat führte zu genaueren Feststellungen; es wurden nicht mehr mit Stuhl beschmutzte Streifen verwendet, sondern 24-stündige Bouillonkulturen von Typhus bzw. Coli kamen zur Anwendung und zwar wurden Lösungen von Liquor cresoli saponatus verwendet in einer Stärke von 1—5 Proz.

Min.	5 Proz.		4,5 Proz.		4 Proz.		3,5 Proz.		3 Proz.		2,5 Proz.		2 Proz.		1,5 Proz.	
	Typhus	Coli	Typhus	Coli	Typhus	Coli	Typhus	Coli	Typhus	Coli	Typhus	Coli	Typhus	Coli	Typhus	Coli
1/2	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
2	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
3	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Aus der Tabelle geht hervor, daß bei Einwirkung von 4—5-proz. Lösungen sowohl die Typhus- als auch die Coli-Keime bereits nach 1/2 Minute kein Wachstum zeigen, während bei 3,5-proz. die ersteren erst nach 4, die letzteren schon nach 1 Minute nicht mehr entwickelungsfähig sind. Bei 1,5-proz., wohl der schwächsten Lösung, welche in der Praxis zur Verwendung kommen dürfte, sind in den Streifen Typhuskeime erst nach 10, Coli-Bakterien schon nach 3 Minuten abgetötet. Dies Ergebnis unterscheidet sich von dem Mosebachs erheblich.

War einmal festgelegt, daß Coli-Bakterien gegen Kresolwasser mehr empfindlich sind als Typhuskeime, so lag die weitere Prüfung nahe, um wie viel früher Reinkulturen der ersteren der Einwirkung des Desinficiens erliegen als Typhusbakterien. Zu dem Zwecke wurden

Bouillonkulturen verwendet und zwar wurden, um einigermaßen eine Gleichmäßigkeit in der Zahl der Keime zu erzielen, Röhrchen benutzt, welche 5 g Bouillon enthielten, mit einer Normalöse einer 18-stündigen Agarkultur geimpft waren und 24 Stunden im Brutschrank gestanden hatten. In diese frischen Typhus- bzw. Coli-Kulturen wurde Kresolwasser in den verschiedensten Konzentrationen hineingegossen und nach tüchtigem Schütteln Proben entnommen. Aus der großen Zahl der Versuche sollen nur die Erwähnung finden, bei denen das Desinficiens angewendet wurde, in welcher es in der Praxis am meisten Anwendung findet, in der 2,5-proz. Lösung. Das Wachstum der Keime wurde im Durchschnitt verhindert bei Zusatz von

5,0	2,5-proz. Kresolwasser (Liq. cresol. sup. 0,125)	bei Typhus n.	6,	bei Coli n.	5 Min.
4,5	2,5- " " (" " " 0,1125)	" " "	6,	" " "	5 "
4,0	2,5- " " (" " " 0,1)	" " "	10,	" " "	7 "
3,5	2,5- " " (" " " 0,0875)	" " "	20,	" " "	10 "
3,0	2,5- " " (" " " 0,075)	" " "	20,	" " "	15 "
2,5	2,5- " " (" " " 0,0625)	" " "	35,	" " "	25 "
2,0	2,5- " " (" " " 0,05)	" " "	90,	" " "	50 "
1,5	2,5- " " (" " " 0,0375)	" " "	100,	" " "	90 "
1,0	2,5- " " (" " " 0,025)	" " "	150,	" " "	120 "
0,75	2,5- " " (" " " 0,01875)	" " "	4—6,	" " "	6—8 Std.
0,5	2,5- " " (" " " 0,0125)	" " "	24,	" " "	vor 24 "

Bei noch niedrigeren Konzentrationen trat auch nach mehreren Tagen manchmal keine Einwirkung mehr auf, während in anderen Fällen bald Typhus-, bald Coli-Keime überwucherten.

Das Wichtigste aus der Zusammenstellung bildet die Tatsache, daß nach 24-stündiger Einwirkung des Kresolwassers die Typhuskultur noch lebensfähige Keime enthielt, die Coli-Kultur hingegen nicht mehr. Auf diesem Befunde wurde eine neue Versuchsreihe aufgebaut, in der Annahme, daß aus einem Gemisch beider nur die Typhuskeime sich weiter entwickeln würden. Und in der Tat, wurden 5 g Typhus- und Coli-Bouillonkultur zusammengewaschen und mit 0,5—1,0 2,5-proz. Kresolwasser gemischt, so wuchsen nach 24 Stunden nur noch blaue Kolonien. Bei schwächerer Konzentration zeigten sich auch rote in geringer Menge auf der Platte. Von Bedeutung aber war die Tatsache, daß aus einer mit einer Oese Typhus versetzten 24-stündigen Coli-Bacillenkultur nach Zusatz von 0,1—0,75 g 2,5-proz. Kresolwasser kaum jemals Coli-, wohl aber regelmäßig Typhuskeime sich entwickelten und das oft in einer Menge, daß man zu der Annahme gezwungen war, trotz der die Bakterien schädigenden Kresolseifenlösung habe in der Bouillon ein üppiges Wachstum der Typhuskeime stattgefunden. Dieses Ergebnis, das bei Anwendung von 5 Typhusstämmen (Moabit und Kolle aus dem hygienischen Institute zu Berlin, W und E aus dem Institute für Infektionskrankheiten und ein selbstgezüchteter Ws) sowie mehreren Coli gewonnen wurde, legte den Gedanken nahe, auch aus einer Stuhlprobe Typhuskeime zur Entwicklung und Vermehrung zu bringen. Wer Typhusstühle direkt mittels Drigalski-Platten untersucht hat, der weiß, wie lästig es ist, wenn die mit Faeces beschickte Platte [und für die Endo-Platte gilt dasselbe]¹⁾ vollständig rot gefärbt ist und wie schwer es dann fällt, die blauen Kolonien herauszufinden. Die Tatsache, daß die Coli-Bakterien 4—5mal soviel Säure (8—10 Proz. der $\frac{1}{10}$ Normalsäure gegen 2 Proz.) bilden, erklärt die Rotfärbung der Platte hinreichend. Diese Eigenschaft, welche der Drigalski-Platte

1) Jorns, Ueber die Brauchbarkeit des Malachitgrün-Nähragars zum Nachweis von Typhusbacillen. (Hyg. Rundschau. Bd. XIV. No. 15.)

und dem noch angeblich um $\frac{1}{8}$ mehr brauchbaren Endo-Nährboden¹⁾ als wenig angenehm anhaftet, soll am ehesten vermieden werden, wenn der Farbstoff in einer Menge von 0,05 Proz. zugesetzt wird. Ein gleichzeitiger Zusatz von 1 Proz. Normalnatronlauge soll den Colibacillus hemmen, dem Typhuskeim aber unschädlich sein, eine Angabe, die bereits wieder bestritten wird, da letzterer auf so behandeltem Nährboden von einem dem *Pyocyanus* ähnlichen Keim überwuchert wird [Klinger, Paul, Ueber neuere Methoden zum Nachweise von Typhusbacillen in den Darmentleerungen. (Hyg. Rundschau. Bd. XV. 1905. No. 22.)]. Am besten wird bekanntlich die zu starke Rotfärbung der Platte vermieden, wenn die Stuhlaufschwemmungen möglichst verdünnt werden; aber dann ist es bei geringer Anzahl der Keime, namentlich in den ersten Tagen der Krankheit²⁾, nicht sehr wahrscheinlich, daß man solche finden wird. Ein Verfahren, das in sehr einfacher Weise Coli-Bakterien in der Entwicklung hemmt, die Entwicklung der Typhuskeime aber in keiner Weise hindert, wäre daher für die Praxis sehr wünschenswert. Gelänge es dadurch doch zu einer Zeit, wo nur ganz wenig lebensfähige Bakterien in den Stühlen vorhanden sind, die Diagnose mit Sicherheit zu stellen. Diese Hoffnung, das will ich gleich vorausschicken, hat sich nicht erfüllt. Es ist weder geglückt, durch Zusatz von Kresollösung alle Coli-Bakterien abzutöten, noch die vorhandenen Typhuskeime zu einer lebhaften Vermehrung zu bringen. Immerhin sind bei den Versuchen, die mit den mittels sterilen Wassers und Bouillon verdünnten Typhusstühlen unter Zusatz von Kresolwasser angestellt wurden, einige Erfahrungen gewonnen worden, welche bemerkenswert erscheinen. Es ergab sich bei

5 g Bouillon + 1 g verdünnter Stuhl + 0,125-proz. Kresolwasser nach 24 Stunden	Coli —, Typhus sehr zahlreich
desgl. bei 0,2	" —, " weniger zahlreich
" " 0,3	" —, " 12 Kolonien
" " 0,4	" —, " 9 "
" " 0,5	" —, " 2 "

Diese Versuche wurden in einer großen Anzahl ausgeführt, wozu einerseits die Stühle von 7 Typhuskranken, andererseits durch Zusatz einer frischen Kultur künstlich hergestellte Typhusstühle zur Verfügung standen. Das Resultat war im wesentlichen dasselbe, doch kamen auch Fälle vor, wo es nicht gelang, alle Coli-Keime auszuschließen. Der Kontrolle wegen wurden übrigens jedesmal Platten aus den Stühlen angelegt, bevor die letzteren mit Kresollösung versetzt waren. Hier überwucherten die Coli-Bakterien regelmäßig alle übrigen.

Die Versuche haben nicht das ergeben, was von ihnen erwartet wurde: ein Anreicherungsverfahren nach Art der Choleradiagnose stellen sie nicht vor; der Zusatz von Kresollösung kann daher nur auf eine Stufe gestellt werden mit anderen chemischen Mitteln, welche die Entwicklung der übrigen Bakterien hemmen sollen, Phenol, Salzsäure, Methylviolett, Kartoffelsaft etc. Es ist aber das Verfahren insofern einfacher, als die Kresollösung nicht dem Nährboden, wie Gelatine oder Agar, hinzugefügt werden muß, sondern nur in die Bouillon hineingegossen zu werden braucht. Wenn es dann gelingt, alle oder doch wenigstens die meisten der starke Säure bildenden Bakterien abzutöten und nur einen oder zwei Typhuskeime zur Weiterentwicklung zu

1) Fürnstedt, Ueber einige Eigenschaften des Endoschen Fuchsinagars. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. Heft 4.)

2) Conradi (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 32) hat Typhusbacillen am 5. Krankheitstage im Stuhl gefunden.

bringen, so wird man in der Lage sein, in kürzester Zeit den Nachweis des Typhus zu führen in einem Stadium der Krankheit, in dem die klinische Diagnose kaum mit Wahrscheinlichkeit gestellt werden kann, die bakterielle aber, abgesehen von dem sehr umständlichen, zeitraubenden und oft versagenden Auffinden von Keimen im Blute, überhaupt unmöglich ist.

Nachdruck verboten.

Ueber ein Verfahren zum Nachweis von Milzbrandbacillen in Blut und Geweben.

Von Prof. J. Forster.

In dem unter meiner Leitung stehenden hygienisch-bakteriologischen Institut an der hiesigen Universität werden im Auftrage der landwirtschaftlichen Abteilung des Ministeriums für Elsaß-Lothringen seit einer Reihe von Jahren zum Zwecke der bakteriologischen Feststellung der Diagnose von Tierseuchen regelmäßig Blut und Organstücke untersucht, die die Kreistierärzte des Reichslandes dem Institute zugesandt haben. Begreiflicherweise wurden auch hier die bekannten Erfahrungen gemacht, die wesentlich nach zwei Richtungen unangenehm fühlbar werden. Nicht selten kommt das eingesandte Material bereits im Zustande fortgeschrittener Zersetzung an, die durch die Entwicklung von aëroben und anaëroben, namentlich auch sporenbildenden Bakterien hervorgerufen wurde; die Auffindung der spezifischen Krankheitskeime wird so erschwert oder unmöglich. Sodann ereignet es sich bisweilen, daß auf dem Transporte die Versandtgefäße verletzt werden, bei starker Gasentwicklung oder aus anderer Ursache der Verschuß aufgehoben wird, und so der infektiöse Inhalt die Verpackung beschmutzt. Besonders bei milzbrandverdächtigem Materiale führen solche Vorkommnisse nicht bloß zur Unsicherheit in der bakteriologischen Diagnose, sondern liefern auch Gefahr bei der Versendung. Solchen Unzuträglichkeiten abzuhelpfen, erschien mir bei diesem Material nach den Erfahrungen über die Lebens-eigenschaften der Milzbrandbacillen ausführbar. Die Aufgabe war deutlich; es handelte sich einmal darum, die in dem zur Untersuchung bestimmten Blute oder Saft enthaltenen Milzbrandbacillen möglichst vollständig in die widerstandsfähigen Sporen umwandeln zu lassen, und andererseits, das verdächtige Material in Form einer festen Masse und doch genügender Menge versenden zu können unter der Bedingung, daß die Sporenbildung vorhandener Milzbrandbacillen nicht gehemmt, sondern womöglich befördert wird.

Ausgehend von der Erwägung, daß die Milzbrandbacillen bei Gegenwart von Sauerstoff und bei einigermaßen beschränkter Nahrungszufuhr reichlich Sporen bilden, beauftragte ich im Wintersemester 1902/03 meinen damaligen Assistenten für die tierärztlichen Untersuchungen, Herrn Dr. Pfersdorff, den Eintritt der Sporenbildung in Milzbrandbacillenkulturen für die verschiedenen Temperaturen auf befeuchteten Gipsplättchen und feinen Kieseln mit etwa 40 Proz. Porenvolumen festzustellen. Wenn unter solchen Umständen in kürzerer Zeit als bei den Kulturen in Bouillon, auf Agar oder Kartoffeln Sporen gefunden würden, durfte man erwarten, daß dabei die Sporenbildung begünstigt würde, d. h. daß die Milzbrandbacillen jetzt auch dann noch Sporen liefern,

wenn sie, wie etwa in faulendem Blute, schon geschwächt sind. Die von Dr. Pfersdorff begonnenen Versuche wurden nach dessen Abgange von meinem Institute im Frühjahr 1903 von meinem Assistenten Dr. Jacobsthal fortgesetzt und beendet.

Das für meinen Zweck wichtigste der Ergebnisse der zahlreichen und vielfach modifizierten Versuche, über die Dr. Pfersdorff und Dr. Jacobsthal binnen kurzem berichten werden, war, daß speziell auf den mit Löfflerscher Bouillon befeuchteten Gipsplättchen, die mit dünnen Lagen von Milzbrandblut bestrichen worden waren, bei allen angewendeten Temperaturen die Milzbrandbacillensporen in kürzerer Zeit auftraten als bei den gewöhnlichen Züchtungen. Nach den Untersuchungen von mir und meinem Schüler Weil¹⁾ bilden die Milzbrandbacillen in Bouillon nach der Impfung mit dem sporenfreien Milzbrandblute, auf biologischem Wege nachweisbar, Sporen:

bei 12—13°	nach	72—108	Stunden
„ 18°	„	48—50	„
„ 24°	„	34—36	„
„ 37°	„	14—16	„

Die auf Gipsblöckchen gezüchteten Milzbrandbacillen lieferten dagegen die auf gleiche Weise nachgewiesenen Sporen:

bei 16°	nach	62	Stunden
„ 24°	„	22	„
„ 37°	„	8—9	„

Die weiteren Versuche rechtfertigten die Erwartungen. In Blut und Säften von Versuchstieren, die, nachdem sie an Impfmilzbrand gefallen, tagelang im Brutschrank der Fäulnis ausgesetzt blieben, konnten durch die Züchtung auf Gipsplättchen mittelst der Sporenbildung (nebst folgender Plattenkultur und Tierimpfung) noch Milzbrandbacillen nachgewiesen werden, wenn lange vorher schon die gewöhnlichen Züchtungsverfahren oder die Tierimpfung versagt hatten. Ebenso gelang es auf dem gleichen Wege, in Material, das von faulenden Milzbrandkadavern entnommen, dem Institut zugesandt worden war, den Nachweis der Gegenwart von Milzbrandbacillen zu führen, wo alle anderen Methoden im Stiche ließen.

Außer der Begünstigung der Sporenbildung bietet die Züchtung in Blut und Säften auf der Gipsoberfläche noch weitere Vorteile. Zunächst kommt es nicht zur Entwicklung der in faulendem Blute etc. anwesenden, den Nachweis der Milzbrandbacillen störenden anaëroben Bakterien, besonders der Bacillen des malignen Oedems; sie gehen vielmehr zu Grunde. Weiter wird die Vermehrung und Sporenbildung der vielfach im übersandten Material von Kadavern enthaltenen Bakterien der Heu- und Kartoffelbacillengruppe dadurch hintangehalten, daß man die Züchtung auf der Gipsoberfläche bei einer Temperatur von 18—20° vor sich gehen läßt. Endlich stört die Entwicklung von Coli-, Proteus-, Fluorescens- und ähnlichen Bakterien, die in dem nicht sterilen eingesandten Materiale kaum jemals fehlen, bei dem Gipsplattenverfahren das Auffinden der Milzbrandbacillen und ihrer Sporen noch viel weniger als bei den gewöhnlichen Züchtungen, da man hier diese Bakterienarten durch geeignetes Erwärmen ohne Nachteil für den Zweck ausschalten kann. Nach meinen vielfachen Versuchen sterben die genannten Bakterien ab, wenn sie 1—2 Minuten lang bei 62° gehalten werden; diese Temperatur halten aber schon die Vegetationsformen der Milzbrandbacillen, die erst nach 5 Minuten dauernder Einwirkung von 65° ihr Leben verlieren²⁾, leicht

1) Archiv für Hygiene. Bd. XXXV. 1899. p. 355.

2) Weil, a. a. O. p. 407.

aus. Die auf der Gipsoberfläche bei 18—20° gewonnene Kultur kann also vor der Verwendung zum Plattenverfahren oder der Impfung ohne besondere Schädigung der Milzbrandbacillen, geschweige der Sporen, von jenen Bakterien befreit werden.

Es blieb noch übrig, für die Gipsoberflächenkultur eine Form zu wählen, die für die Entnahme des Materiales und für die Verpackung und Versendung möglichst zweckmäßig war. Nach einigen Versuchen Dr. Jacobsthals gelangten wir dahin, daß etwa 12—14 cm lange, 1,5 cm breite, durch Drahtstücke verstärkte Gipsstäbchen verfertigt, mit Löfflerscher Bouillon getränkt und in starkwandigen Reagierröhrchen sterilisiert und getrocknet wurden, die dann in die bekannten Holzhülsen verpackt werden konnten. Als ich so weit war, bat ich den Landestierarzt des Reichslandes, Herrn Regierungsrat Feist, der meinen Bestrebungen warmes Interesse entgegengebracht hatte, anzuordnen, daß bei Verdacht auf Milzbrand von den Kreistierärzten neben Blut und Organteilen, wie bisher üblich, auch auf Gipsstäben dem Institute Untersuchungsmaterial zugesandt werde. Zu dessen Entnahme mußte der vorher kurz befeuchtete Gipsstab an einem frischen Venen- oder Gewebsschnitte so abgestrichen werden, daß er mit einer dünnen Lage Blutes oder Gewebssaftes überzogen erschien. Von Oktober 1903 ab erhielten wir so das Material zur Prüfung des Verfahrens. Der dadurch ermöglichte Vergleich zeigte, daß die erwarteten Vorzüge: Sicherheit der bakteriologischen Diagnose, Einfachheit der Verpackung und Gefährlosigkeit bei der Versendung dem neuen Verfahren in hervorragendem Maße zukommt. Ueber die günstigen Erfolge, die im Laufe der Jahre 1903 und 1904 in der kalten und warmen Jahreszeit erzielt wurden, hat Herr Dr. Marxer, damals Assistent für die tierärztlichen Untersuchungen an meinem Institute, schon Näheres berichtet¹⁾. Anfang 1905 verfügte der Herr Unterstaatssekretär für Landwirtschaft auf meinen Antrag, daß bei Fällen von Rinder- und Pferdemilzbrand außer mikroskopischen Präparaten nur mehr die den Kreistierärzten zur Verfügung gestellten, von ihnen laut Vorschrift bestrichenen Gipsstäbchen zur bakteriologischen Untersuchung an mein Institut einzusenden wären. Das Verfahren hat sich denn auch weiterhin durchaus bewährt.

Nähere Mitteilungen über die Herstellung der Gipsstäbchen, über die Vorschriften zur Materialentnahme damit und über ihre weitere Behandlung, die teilweise in der Veröffentlichung Dr. Marxers enthalten sind, werden die Herren Pfersdorff und Jacobsthal ausführlich zugleich mit der Darstellung ihrer Versuche und Beobachtungen bringen.

Für die Behandlung der ins Laboratorium eingesandten Gipsstäbe habe ich auf Grund der vielfachen Versuche, die über die Kultur und über die Abtötung von Milzbrand- und anderen Bakterien durch Erhitzung in dem hiesigen und früher im Amsterdamer hygienischen Institute angestellt worden sind, folgende Anordnung für den mit den tierärztlichen Untersuchungen beauftragten Assistenten getroffen:

1) Von dem Materiale auf dem Gipsstabe ist ein Ausstrichpräparat für die mikroskopische Untersuchung anzufertigen.

2) Der Gipsstab wird mit einer sterilisierten Pinzette aus dem Glase genommen und von seiner bestrichenen Fläche Material in ein Röhrchen mit Löfflerscher Bouillon abgeschabt. Das Gipsstabbröhrchen wird nach Zurückbringen des Stabes im Dunkeln bei einer Temperatur auf-

1) Ostertags Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. Jahrg. XV. 1905. p. 129.

bewahrt, die zwischen 18—22° schwanken, aber keinesfalls 24° erreichen oder überschreiten darf.

Sollte gegen die Vorschrift das Gipsstabörhrchen in zu trockenem Zustande eingesandt worden sein, so ist die am Boden des Rörhrens befindliche Watte (die entfettet ist) vor dem Wiedereinbringen des Stabes mit einigen Tropfen reinen Wassers zu befeuchten.

3) Das geimpfte Bouillonrörhchen wird, um bei Schonung der Milzbrandbacillen andere Bakterien, namentlich Coli- und Proteus-Bakterien abzutöten, 2 Minuten lang unter Umschütteln in einem Wasserbade von 65° gehalten und danach sofort gekühlt. Dann werden Agarplatten angelegt und zwar so, daß von der Bouillon zu einer Platte etwa 60 mg und zu einer zweiten Platte die dreifache Menge¹⁾ genommen wird; vor dem Gießen der zweiten Platte wird mit drei Spiralen eine dritte Agarplatte angefertigt.

4) Die auf den Platten aufgekomenen Kolonien werden geprüft:

- a) im hängenden Tropfen und gefärbten Präparate;
- b) durch Anlage einer Bouillonkultur; und eventuell
- c) durch subkutane Impfung einer Maus.

Sollten nur wenige verdächtige Kolonien neben vielen anderen aufgekomen sein, so werden die verdächtigen Stellen mit Bouillon beströfelt, zerrieben und von der Aufschwemmung ein Tier geimpft. Man nimmt so viel Bouillon, daß man nach Steigen der Platte etwa $\frac{1}{10}$ ccm mit der Injektionsspritze aufsaugen kann.

5) Werden hierbei keine Milzbrandbacillen aufgefunden, so wird von dem inzwischen bei 18—22° bewahrten Gipsstabe (nach 2—3 Tagen)

- a) Bouillon in gleicher Weise wie anfänglich geimpft und behandelt, nur mit dem Unterschiede, daß diese 10 Minuten lang bei 65° gehalten wird;
- b) ein Versuchstier (Maus oder Meerschweinchen) subkutan mit abgeschabtem Material geimpft, das in wenig Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung verteilt, 2 Minuten lang auf 65° erwärmt und sofort wieder gekühlt worden war.

Straßburg, Januar 1906.

Nachdruck verboten.

Cultures du Bacterium typhi, du Bact. coli et de quelques autres bactéries rapprochées du groupe coli-typhique, sur milieu de Drigalski-Conradi.

[Institut d'hygiène et de parasitologie de l'Université de Lausanne.
(Professeur B. Galli-Valerio.)]

Par le Dr. **Vourloud.**

Au cours de travaux bactériologiques et parasitologiques divers, au laboratoire d'hygiène de l'Université, sous la direction de M. le Professeur Galli-Valerio, et sur ses indications, j'ai répété, une fois

1) Dies geschieht am besten mit den in unserem Institute gebräuchlichen geeichten Platinspiralen, von denen in diesem Falle solche von einem Fassungsvermögen von etwa 30 oder 60 mg gebraucht werden. Wo solche Spiralen nicht vorhanden sind, werden 1 und 3 Tropfen Bouillon zu den Platten entnommen.

de plus, la culture du *Bacterium typhi*, du *Bact. coli* et de quelques autres bactéries rapprochées du groupe coli-typhique, sur milieu de Drigalski-Conradi.

On sait que ce milieu a été vanté par les auteurs pour déceler facilement et rapidement le *Bact. typhi* dans les selles de dothiéntériques. Voici sa préparation d'après le travail original des auteurs, et selon Lehmann et Neumann qui y apportent quelques légères modifications.

Original):

a) Préparation de l'agar: 1500 g de viande de bœuf, finement hâchée, sont mis à macérer dans 2 litres d'eau pendant 24 heures; le jus de viande exprimé est cuit une heure, filtré, additionné de 20,0 de pepton sicc. Witte, 20,0 de nutrose, 10,0 de NaCl; de nouveau cuit une heure, filtré et, après adjonction de 60,0 d'agar, cuit 3 heures durant, faiblement alcalinisé (indicateur tournesol), filtré, recuit $\frac{1}{2}$ heure.

b) Solution de tournesol: 260 ccm de solution de tournesol (de Kubel et Tiemann) sont cuits 10 minutes; on ajoute 30,0 de lactose chimiquement pure, puis l'on cuit de nouveau 15 minutes.

c) La solution chaude de tournesol est mêlée à l'agar, on agite le mélange et alcalinise faiblement, puis on ajoute encore 4 ccm d'une solution de soude, à 10%, chaude et stérile et 20 ccm d'une solution fraîchement préparée de 0,1 de crystal-violet Höchst B sur 100 d'eau distillée stérilisée.

Lehmann et Neumann 2):

1500 g de viande de bœuf sont mis à macérer dans 2 litres d'eau pendant 24 heures; le jus de viande, passé à travers un linge fin, est cuit une heure, filtré, additionné de 20,0 de peptone de Witte, 20,0 de nutrose, 10,0 de NaCl, de nouveau cuit une heure, filtré et, après adjonction de 60,0 d'agar, recuit 3 heures durant, alcalinisé et filtré. D'autre part 300,0 de solution de tournesol de Kahlbaum sont cuits 15 minutes avec 30,0 de sucre de lait. Les deux solutions sont versées dans un même ustensile et le mélange qui en résulte est alcalinisé avec une solution de soude à 10%, jusqu'à réaction faiblement alcaline. A cette faible solution alcaline, on ajoute encore 4 ccm d'une solution de soude, à 10%, chaude et stérile et 20 ccm d'une solution stérile (0,1 : 100,0) de crystal-violet Höchst B.

Les colonies du bacille typhique croissent colorées en bleu, celles du coli en rouge.

C'est en somme le procédé „perfectionné“ de Wurtz, agar-lactosé-tournesolé à 3% d'agar, au lieu de $1\frac{1}{2}$ %, pour rendre plus difficile la diffusion des acides, avec adjonction de nutrose, pour augmenter la valeur nutritive du milieu et favoriser la croissance du *Bact. typhi*, de crystalviolet pour empêcher la pullulation de bactéries banales, de microcoques en particulier.

Le milieu Drigalski-Conradi n'est pas difficile à préparer, mais les nombreuses manipulations exigent beaucoup de temps. Je l'ai chaque fois réussi d'emblée.

Ne pas oublier que la solution de tournesol doit être fraîchement préparée et le sucre de lait chimiquement pur. En masse, après refroidissement, conservé en flacons d'Erlenmeyer par exemple, il a une coloration un peu plus foncée que l'agar ordinaire, avec une nuance bleuâtre-lilas peu sensible.

Coulé en plaque de Petri, il est à peu près incolore et l'observateur peut apprécier dès le début une légère coloration des colonies. Il n'est donc pas possible d'admettre avec Endo 3) que „les plaques de Drigalski-Conradi sont d'emblée colorées en bleu par le tournesol, de là plus ou moins d'incertitude pour apprécier un léger degré de coloration, bleu ou rouge des colonies“.

Le milieu Drigalski-Conradi est et doit être alcalin; acide, il devient absolument hors d'usage, les colonies de typhique et de coli y sont alors colorées en rouge. Au moment où j'écris ces lignes —

15 août 1905 — je constate qu'un milieu, préparé en avril de la même année, est devenu acide.

Hagemann 4) a proposé de simplifier le milieu Drigalski: il remplace le milieu agar-lactosé au tournesol par de l'agar au lait et au tournesol, qu'il prépare comme suit: cuire ensemble extrait de Liebig 10, peptone Witte 10, NaCl 3—4 dans eau 600. Ajouter lait 500, recuire, additionner d'agar 20.

Pour obtenir la dissolution complète, maintenir à 110—115° le mélange pendant 30 minutes. Filtrer à chaud et répartir dans des flacons d'Erlenmeyer.

Au moment de s'en servir, liquéfier l'agar au bain-marie, ajouter solution sodique jusqu'à bleuissement léger du papier de tournesol, ensuite 20 de solution de tournesol, enfin 3 gouttes de cristalviolet en solution alcoolique à 1%.

Bacterium typhi et Bacterium coli.

Les recherches ont porté sur les cultures suivantes (le milieu de Drigalski-Conradi préparé d'après Lehmann et Neumann):

- 1) Bact. typhi en culture pure;
- 2) Bact. coli en culture pure;
- 3) mélange de Bact. typhi et de Bact. coli, culture pure;
- 4) culture de selles typhiques;
- 5) culture de selles typhiques avec adjonction de bacilles typhiques en bouillon, culture pure;
- 6) culture d'urines de typhiques;
- 7) culture d'urines de typhiques avec adjonction de bacilles typhiques en bouillon, culture pure.

Les échantillons de bacilles typhiques provenaient: un premier, de la collection du laboratoire, où il est cultivé depuis plusieurs années = typhique Italie; un deuxième, de la même collection, isolé en 1904, par M. Galli-Valerio, de la rate d'un typhique = typhique Lausanne; un troisième, de la collection du laboratoire de bactériologie et sérothérapie de la ville de Genève, très-aimablement donné par M. le Professeur Massol = typhique Genève. L'échantillon de coli provenait également de la collection de M. Galli = coli; les selles et l'urine typhiques, de malades en traitement à l'Hôpital cantonal.

Lesensemencements ont été faits, soit coulés en plaques de Petri, soit en stries, ou par piqûres: fil de platine plongé dans un tube d'eau stérilisée dans laquelle avait été délayée une anse de culture de 24 heures, en bouillon. Pour le mélange de typhique et de coli une anse de chaque culture de 24 heures, en bouillon. Les selles ont été diluées au $\frac{1}{10}$ dans la solution physiologique de NaCl à 7‰. — Enfin, les colonies ont été essentiellement examinées au point de vue de leur coloration.

Ensemencements du 17 novembre 1904. (Plaques de Petri.)

Typhique Italie.	Coli.
18 nov. Rares colonies profondes, 2 superficielles, aucune coloration.	Fort développement.
19 nov. Pas de coloration.	Pas de coloration.
21 nov. Quelques colonies légèrement colorées en bleu.	Quelques colonies rougeâtres.
22 nov. Un peu plus.	Pas beaucoup plus.

Typhique Italie.

Coli.

23 nov. Toutes les colonies sont nettement colorées en bleu.

Colonies rouges; quelques-unes présentent un noyau d'un rouge plus accentué; un certain nombre de colonies sont simplement rougeâtres.

Mélange de typhique et de coli: à aucun moment il n'est possible de constater une colonie bleue; il n'y a que des colonies rouges ou rougeâtres, le coli a tout envahi.

Ensemencements du 22 novembre 1904.
(Plaques de Petri.)

Typhique Italie.

Coli.

23 nov. Développement assez considérable.

Développement plus considérable.

24 nov. Développement continue, aucune coloration.

Développement continue; aucune coloration.

25 nov. Quelques colonies se colorent légèrement: elles „bleuâtisent“.

Pas de coloration.

26, 27 nov. La coloration augmente.

Pas de coloration.

28 nov. La coloration s'accroît, les colonies sont bleues.

La coloration rouge, ou mieux rougeâtre apparaît, inégalement répartie; toutes les colonies ne sont pas colorées.

29 nov. La coloration bleue s'accroît de plus en plus; toute la plaque prend une teinte générale vert-bleuâtre qui permet de diagnostiquer d'emblée par comparaison avec la plaque de coli jaune-rougeâtre.

La coloration rouge est très-nette, toutes les colonies sont colorées. Teinte générale de la plaque rougeâtre ou jaune-rougeâtre.

2 déc. Les colonies sont d'un bleu intense, d'une netteté absolue.

Les colonies prennent une coloration rouge-violet qui fait contraste avec la coloration du typhique.

9 déc. Toujours bleu intense, malgré le dessèchement de l'agar; la teinte générale de la plaque vert-bleuâtre ne change pas.

Le rouge-violet tend à s'accroître du côté du violet, mais la coloration demeure toujours très-tranchante comparée à celle du typhique.

29 avril 05 (quatre mois plus tard): Les colonies sont toujours colorées, typhique bleu, coli rouge; la teinte générale des plaques, décrite d'autre part, est également bien conservée et toujours très tranchée.

Ensemencements du 22 novembre 1904.
(Plaques de Petri, par stries.)

23 nov. Le développement est beaucoup plus accentué pour le coli que pour le typhique. En examinant par transparence, on peut facilement faire la distinction des deux cultures: les stries du coli sont beaucoup plus prononcées que celles du typhique. Le développement continue les jours suivants, mais la coloration ne devient visible que le 28 nov. Si l'on observe alors contre la lumière atténuée par une traverse en bois du cadre de la fenêtre, le typhique est nettement bleu, le coli rougeâtre.

Ensemencements du 1^{er} décembre 1904.
(Plaques de Petri.)

Typhique Italie.

Coli.

2 déc. Fort développement; nombreuses petites colonies superficielles arrondies, ou profondes lancéolées, plus petites, mais beaucoup moins opaques que celles du coli; à côté d'autres colonies arrondies, translucides à contour très-net.

Fort développement; nombreuses colonies superficielles, assez grandes, arrondies, profondes lancéolées, plus ou moins opaques; d'autres, confluentes par places, avec noyau central, bords ondulés.

3 déc. Développement continue, pas de coloration.

Développement continue, pas de coloration.

5 déc. La teinte générale de la plaque vert-bleuâtre fait contraste avec celle du

Teinte générale jaune-rougeâtre bien marquée; les colonies ne sont pas colorées.

Typhique Italie.

coli jaune-rougeâtre; les colonies très-nombreuses, commencent à se colorer très-discrètement, macroscopiquement, par transparence, on constate un semis très-fin „bleuâtrisant“.

- 7 déc. Presque toutes les colonies sont bleues; la teinte générale vert-bleuâtre est des plus accentuées.

29 avril 05. La teinte générale des plaques et la coloration des colonies sont toujours typiques.

Un ensemencement d'un mélange de typhique et de coli, le 1^{er} décembre 1904, n'a donné que des colonies rougeâtres. Le 7 déc., quelques rares colonies douteuses au point de vue de leur coloration: prélevées examinées et ensemencées, elles ont présenté les caractères du coli.

Ensemencements du 1^{er} décembre 1904.

(Plaques de Petri; par piqûres: 4 piqûres sans recharger le fil de platine.)

Typhique Italie.

- 2 déc. Fort développement de colonies confluentes, transparentes.

- 3 déc. Coloration des colonies visibles par transparence contre la lumière atténuée franchement bleue.

- 5 déc. Macroscopiquement la coloration bleue est particulièrement visible aux petites colonies qui se sont développées autour des piqûres.

Coli.

- 6 déc. Les colonies se colorent très-faiblement en rougeâtre.

Les colonies sont rougeâtres; la coloration se voit mieux macroscopiquement; le teinte générale jaune-rougeâtre est très marquée.

Coli.

- Fort développement de colonies confluentes, presque opaques.

- En tous points semblables; mais la coloration est rosée.

- Aspect semblable: la coloration des colonies est rose-rougeâtre.

Ensemencements du 20 décembre 1904.

Typhique Lausanne. (Plaque de Petri.)

21 déc. Fort développement de colonies profondes ovalaires, presque opaques; d'autres superficielles arrondies plus ou moins transparentes, confluentes par places.

22 déc. Sur une partie de la plaque, la teinte générale vert-bleuâtre commence à apparaître.

26 déc. La teinte générale est très-marquée; les colonies sont bleues.

30 déc. Colonies très-nettement bleues; teinte générale vert-bleuâtre des plus accentuées.

En mars 1905, ayant voulu ensemercer à nouveau du typhique Italie, du typhique Lausanne, du coli et un 3^e bacille d'Eberth, typhique Genève, je n'ai obtenu partout que des colonies rouges; le milieu était trop ancien.

Un nouveau milieu de culture Drigalski a été préparé avec de la teinture de tournesol fraîche et du sucre de lait de provenance récente, chimiquement pur. Les ensemencements ont été pratiqués comme il est dit, au début de ce travail, avec cette différence cependant que, pour le mélange de typhique et de coli, j'ai prélevé une anse d'un tube d'eau stérilisée dans lequel on avait délayé 5 anses de culture typhique de 24 heures en bouillon et une anse de coli de 24 heures en bouillon.

Ensemencements du 11 avril 1905.

(Plaques de Petri.)

Typhique Italie.

- 12 avril. Quelques colonies très-petites, superficielles et profondes; ces dernières „bleuâtrisant“. Teinte générale de la plaque vert-bleuâtre très-discrète.

Coli.

- Nombreuses colonies superficielles et profondes; ces dernières „rougeâtrisant“. Teinte générale de la plaque jaune-rougeâtre.

Typhique Italie.

Coli.

- 13 avril. Les colonies superficielles se colorent en bleu; les profondes sont plus fortement colorées. Teinte générale plus distincte. Les colonies superficielles sont rougeâtres, les profondes rouges. Teinte générale plus marquée.
- 17 avril. Coloration bleue des plus nettes; teinte générale vert-bleuâtre très-accentuée. Coloration rouge des plus nettes; teinte générale jaune-rougeâtre très-accentuée.

Ensemencements du 15 avril 1905.

(Plaques de Petri.)

	Typhique Italie.	Typhique Lausanne.	Typhique Genève.	Coli.
16 avril.	2 ou 3 petites colonies.	Nombreuses colonies plus ou moins grandes.	2 ou 3 petites colonies.	Très-fort développement, très-nombreuses colonies.
17 avril.	Une 20 ^e de colonies „bleuâtrisant“.	Légère coloration bleuâtre de la plupart des colonies.	Grand nombre de colonies bleuâtres.	Pas de coloration.
19 avril.	Colonies bleues, teinte générale vert-bleuâtre.	Colonies d'un beau bleu intense; teinte générale vert-bleuâtre des plus marquées.	Colonies légèrement bleues; teinte générale vert-bleuâtre sensible.	La coloration rougeâtre des colonies apparaît, en même temps que la teinte générale jaune-rougeâtre.

Un mélange de typhique Lausanne et de coli n'a donné que des colonies rougeâtres ou rouges.

Ensemencements du 15 avril 1905.

(Plaques de Petri, par stries.)

	Typhique Lausanne.	Typhique Genève.	Coli.
16 avril.	Pas de développement.	Pas de développement.	Nombreuses colonies sur les 3 stries.
17 avril.	4 à 5 petites colonies bleuâtres.	Petites colonies incolores.	Colonies rougeâtre sur les 3 stries.
19 avril.	Colonies franchement bleues.	Colonies bleuâtres.	id.
20 avril.	Id; teinte générale vert-bleuâtre très-marquée.	Colonies bleues; teinte générale vert-bleuâtre moins indiquée.	Colonies rouges; teinte générale jaune-rougeâtre.

Dans quatre cas de fièvre typhoïde, en traitement à l'Hopital cantonal, il n'a pas été possible de déceler le bacille typhique, ni dans les selles, ni dans l'urine. Les selles étaient diluées au $\frac{1}{10}$ dans la solution physiologique, puis ensemencées sur milieu Drigalski-Conradi, coulées en plaques, ou étalées en stries. Toujours les colonies étaient rougeâtres; dans les cas douteux, — des colonies profondes, — l'examen subséquent a toujours montré qu'il s'agissait bien de coli.

J'ai répété maintes fois l'ensemencement suivant: à une anse de matière fécale de typhique, diluée au $\frac{1}{10}$ dans la solution physiologique, on ajoute 5 anses de culture d'Eberth de 24 heures en bouillon.

De ce mélange je prélève une anse, ou bien je me suis servi du fil de platine, pour l'ensemencement.

Le résultat a été invariablement le même, toujours de nombreuses colonies de coli, jamais de colonies typhiques. Dans l'urine, additionnée de culture typhique, de nombreuses colonies typhiques se sont développées.

En somme, le bacille typhique et le coli se développent fort bien sur milieu Drigalski-Conradi.

Les colonies du typhique sont bleues et la plaque prend une teinte générale vert-bleuâtre, celles du coli sont rouges ou rougeâtres avec une teinte générale jaune-rougeâtre de la plaque. La coloration des colonies apparaît du lendemain au 6^e jour après l'ensemencement; parfois, elle est plus précoce pour le typhique que pour le coli. Le *Bacterium typhi* n'a pas été retrouvé dans les cultures d'un mélange de typhique et de coli, de selles typhiques, ou de selles typhiques additionnées de culture typhique.

Il ne l'a pas été non plus dans l'urine, mais bien dans l'urine avec adjonction de bacille d'Eberth; dans ce dernier cas, le bacille typhique n'a pas été empêché dans son développement par son rival, le coli, ou par d'autres microbes; des plaques ont même présenté la teinte générale vert-bleuâtre du typhique en culture pure.

Dans les cas de colonies à coloration douteuse, l'examen subséquent a toujours montré qu'il s'agissait bien du coli.

Il semblerait donc que le coli, par sa croissance exubérante, annihilait totalement le développement du typhique. Peut-être, lorsqu'il s'agit de selles typhiques, ou bien, comme on l'a dit, le bacille typhique n'est pas en si grande abondance dans les selles qu'on a voulu le prétendre, et il échappe à la recherche, ou bien par le traitement médical des malades on porte atteinte à son développement? Un fait certain, c'est qu'on ne le constate pas toujours.

Krause 5), qui vante le procédé Drigalski-Conradi, dit qu'il réussit dans le 60% environ des cas (1^{ère} série, 104 cas — un peu moins de 60% de réussite; 2^e série, 560 cas — environ 64% de réussite). Cet auteur rappelle l'opinion de Neufeld que dans la recherche bactériologique des selles typhiques, il ne faut pas tant s'en rapporter à la méthode, qu'à la pratique que l'on a de cette méthode et à la patience que l'on possède.

Krause et Stertz 6), tout en reconnaissant que le milieu de Drigalski-Conradi permet de séparer facilement et rapidement le typhique du coli, ajoutent: si on ne trouve pas le *Bacterium typhi*, c'est qu'il ne se rencontre pas dans les selles de tous les typhiques; ou bien il y est en si petite quantité que sa démonstration n'est plus uniquement qu'une affaire de hasard (ihr Nachweis dem Zufall anheimgestellt ist).

Reischauer 7) dit que dans une série de cas, en partie cliniquement traités, il n'a pas réussi à trouver le bacille typhique.

Cambier 8), à propos de son procédé de la bougie pour la recherche du bacille d'Eberth, en présence des résultats négatifs qu'il obtenait, s'est astreint à ensemencer parallèlement deux tubes à bougie pour chaque selle; l'une avec la matière provenant telle quelle du malade, la 2^e avec cette matière intentionnellement additionnée d'une trace de bacille d'Eberth. „Or, dit-il, j'ai toujours pu, dans tous les cas, mettre en évidence à l'aide de cette seconde bougie le bacille que j'avais ajouté dans les selles. La méthode n'est donc pas en défaut et je ne puis expliquer mes soi-disant insuccès que de deux manières: ou bien le bacille typhique se trouve dans l'intestin, mais alors il différait sensiblement du bacille qu'on peut isoler de la rate des malades et refuserait de traverser les bougies, ou bien, ce qui est plus vraisemblable, je suppose que le bacille typhique n'est pas aussi fréquent qu'on le pense généralement dans l'intestin et dans les selles. J'ai eu du reste l'occasion d'examiner depuis des selles de typhique par la méthode de

Drigalski-Conradi dont M. le Dr. Bienstock, de Mulhouse, a eu l'amabilité de m'enseigner la technique dans ses plus petits détails. Dans les selles en question je n'ai pas rencontré le bacille d'Eberth.⁴

Lipschütz 9) trouve que le milieu Drigalski-Conradi constitue une grande simplification pour la culture du bacille typhique provenant des matières fécales ou de l'urine; cependant les autres moyens de contrôle ne sont pas superflus.

Kühn 10) relève le fait de la difficulté du diagnostic en présence des paratyphiques et de paracolis, ce qui oblige d'avoir recours aux autres procédés d'interprétation.

Petkowitzsch 11) dit que la méthode de Drigalski-Conradi a fait faire un grand progrès pour diagnostiquer le bacille typhique dans les selles, mais que les autres moyens de contrôle sont nécessaires.

Heinrich Keyser 12) démontre que 8 bacilles, entre le typhique et le coli, forment des colonies semblables au premier sur milieu de Drigalski-Conradi, mais il les sépare facilement de l'Eberth par leur culture sur agar au rouge-neutre.

P. Klinger 13) rappelle que Musehold (Vierteljahrsschr. für öffentliche Gesundheitspflege 1902, Augustheft und Deutsche militärärztl. Zeitschr. Aprilheft 1902. p. 23) déclare la méthode de Drigalski-Conradi, dans la main d'un bactériologiste expérimenté, un instrument utile qui doit être employé avec circonspection pour apprécier sa valeur en temps d'épidémie. Musehold se demande jusqu'à quel point on peut se fier à l'identification de colonies suspectes typhiques sur milieu Drigalski-Conradi et soumises à l'agglutination?

Comme suite à ce point d'interrogation, Klinger s'est occupé de quatre bacilles: 2 provenant de selles typhiques, un 3^e de selles d'un tuberculeux suspect de typhus, enfin un 4^e de l'urine d'un malade atteint de catarrhe intestinal fébrile.

Ces quatre bacilles se comportaient sur milieu Drigalski-Conradi comme de véritables typhiques. Pour leur identification, l'agglutination n'a pas suffi, il a fallu la culture sur différents milieux.

Autres bactéries rapprochés du groupe coli-typhique.

Lesensemencements sont faits d'une façon semblable à ceux du typhique et du coli.

Bacterium typhi-murium.

Ensemencements du 19 décembre 1904.

(Plaques de Petri.)

20 déc. Très-fort développement; colonies arrondies et ovalaires plus ou moins régulières. En outre, grandes colonies confluentes, bords ondulés. On constate par transparence une teinte bleu-verdâtre.

22 déc. La coloration devient plus visible; le développement continue.

24 déc. Le développement a considérablement augmenté; les colonies ovalaires profondes sont bleu-violet.

26 déc. La plaque prend dans son pourtour et par places, où les colonies sont nettement bleues, cette teinte générale vert-bleuâtre caractéristique des plaques de bacille typhique.

Une 2^e plaque de Petri, ensemencée en même temps, présente des colonies semblables, mais elles sont plus colorées en bleu et la teinte générale vert-bleuâtre est également plus accentuée.

Ensemencements du 18 avril 1905.
(Plaques de Petri.)

19 avril. Fort développement sous forme de nuage, coloration nettement bleuâtre.

20 avril. En plus, de-ci de-là, quelques colonies arrondies franchement bleues; microscopiquement la coloration n'est plus visible.

22 avril. Coloration bleue très-nette de beaucoup de colonies; elle disparaît à peu près complètement à l'examen microscopique. Teinte générale vert-bleuâtre de la plaque.

Donc, le *Bact. typhi-murium* se comporterait comme le bacille typhique sur milieu Drigalski-Conradi.

Siebert¹⁴) dit qu'il obtient, déjà après 12 heures, des colonies bleues avec le *Bact. typhi-murium* sur milieu Drigalski-Conradi.

Bacterium dysenteriae (Shiga-Kruse).

Un *Bact. dysenteriae*, Shiga-Kruse, provenant de la collection du laboratoire (originaire de la collection Král) ensemencé à plusieurs reprises, après avoir passé sur des milieux récents d'agar et de bouillon, où il s'était parfaitement développé, n'a donné, sur milieu Drigalski-Conradi, qu'une fois un pointillé de fines colonies, régulièrement arrondies, transparentes, sans aucune coloration.

Pareillement, un autre bacille, isolé par M. Galli-Valerio, d'un cas de dysenterie en Valteline¹⁸) (sept. 1904) n'a jamais donné de développement sur milieu Drigalski-Conradi.

Krencker¹⁵), dans un travail sur la biologie du groupe colityphique, dit que sur milieu Drigalski-Conradi le *Bact. coli*, le *Bact. Grünthal*, le *paracoli* donnent des colonies rouges, le milieu est rougeâtre. Les bactéries suivantes donnent des colonies bleues, comme le typhique:

<i>B. breslaviensis</i> Kaen-	<i>B. Gaustad</i>	<i>B. paratyphi</i> B
sche	<i>B. morbificans bovis</i>	<i>B. paratyphi</i> A
<i>B. bremensis febris-</i>	<i>B. morseelensis</i>	<i>B. typhi</i>
<i>gastricae</i>	<i>B. typhi-murium</i>	<i>B. dysenteriae</i>
<i>B. enteritidis</i> Gärtner	<i>B. suipestifer</i>	(Shiga-Kruse)
<i>B. friedebergens</i>		<i>B. faecalis alcaligenes</i>

D'après Otto Lentz¹⁶), le *Bact. dysenteriae*, sur milieu Drigalski-Conradi, donne des colonies qui ont environ 1 mm de diamètre, ressemblant à de gouttelettes de rosée, avec un léger trouble laiteux, contours nettement tranchés.

Dante De Blasi¹⁷), dans une étude comparative de 5 bacilles dysentériques, d'origine diverse: *B. Celli*, *B. Shiga*, *B. Flexner* (New-Haven), *B. Flexner* (Manille), *B. Kruse*, qu'il réunit ensuite pour ne plus former que trois variétés: *B. Celli*, *B. Shiga-Kruse*, *B. Flexner* (Manille), dit que les 5 bacilles dysentériques, sur milieu Drigalski-Conradi, ont donné des colonies arrondies sans aucune coloration.

Le bacille dysentérique, de la collection du laboratoire de M. Galli, n'a donné qu'une fois un développement sans aucune coloration; de même le 2^e bacille dysentérique (de la Valteline) n'a jamais laissé voir le moindre développement sur milieu Drigalski-Conradi.

Pour expliquer ce résultat, plutôt négatif, il n'est pas possible d'incriminer la conservation par trop longue du bacille au laboratoire, puisque le 1^{er} type (originaire Král), qui est cultivé depuis des années

dans les locaux de l'Institut, s'est développé une fois, tandis que le 2^e de la Valteline, isolé en 1904, ne s'est pas du tout développé. Il faut donc se borner à constater l'insuccès du développement.

Il était intéressant de voir comment se comporteraient, sur milieu Drigalski-Conradi, le *Bacterium pestis*, le *Bact. pseudo-tuberculosis rodentium*, ainsi qu'un 3^e bacille, isolé d'un cas suspect de peste 18) et que M. Galli avait considéré comme très-rapproché du *Pseudo-tuberculosis rodentium*.

Ensemencements du 28 janvier 1905.
(Plaques de Petri: 3 stries pour chaque culture.)

Les ensemencements proviennent d'une culture d'agar de 48 heures:

Bacterium pestis.

30 janv. Pas de développement. 31 janv. Faible développement sur l'une des stries; colonies finement striées, bords festonnés, rouges, la coloration est visible macro- et microscopiquement. 1^{er} févr. Le développement est un peu plus considérable: on constate, sur la 2^e strie, des colonies qui sont également rouges. 3/4 févr. Le développement s'est accentué; mêmes caractères. Teinte générale rougeâtre de la plaque rappelant celle du coli. 9 févr. La coloration des colonies et la teinte générale de la plaque sont toujours typiques.

A l'examen microscopique (6 févr.) d'une préparation colorée à la fuchsine, on constate que le bacille est beaucoup plus régulier; il ne présente plus, à son centre, l'espace clair, les extrémités étant seules colorées. Il paraît plus gros, plus long et il y a dans la préparation beaucoup de formes allongées, de filaments plus ou moins droits, contournés, recourbés.

A rapprocher de cet aspect l'observation des formes involutives, sur agar salé à 3%, après 24 heures de croissance. (Lehmann et Neumann' Atlas u. Grundriß der Bakt. p. 237.)

Bacterium pseudo-tuberculosis rodentium.

30 janv. Très-fort développement sur deux stries; colonies confluentes, opaques, sans coloration. 31 janv. Le développement augmente considérablement. 1^{er} févr. Le développement a encore progressé, des ramifications latérales s'étendent entre la 1^{ère} et la 2^e strie. 2 févr. Le développement continue. 4 févr. Teinte générale vert-bleuâtre, verdâtre, de la plaque rappelant celle du bacille typhique; pas de coloration des colonies. 9 févr. La teinte générale est encore plus accentuée.

Bacterium pseudo-pestis.

30 janv. Développement sur une des stries. 31 janv. Développement plus marqué, mais pas de coloration des colonies qui sont grossièrement granuleuses. 1^{er} févr. Colonies confluentes; ramifications latérales semblables à celles du *Pseudo-tuberculosis rodent.* 2 févr. Une colonie se développe sur la 3^e strie. 4 févr. Teinte générale vert-bleuâtre de la plaque. 9 févr. La teinte générale est même bleue par places.

Ensemencements du 27 avril 1905, semblables à ceux du 28 janvier, mais ils proviennent d'agar de 24 heures:

Bacterium pestis.

28 avril. Faible développement sur l'une des stries. 29 avril. Le développement est un plus indiqué, mais toujours sur une seule strie; quelques petites colonies diffuses sur le côté de la strie, pas de coloration. 1^{er} mai. Pas de coloration. 3 mai. Petites colonies sur la 2^e strie et légère coloration rougeâtre aux 2 stries; teinte générale jaune rougeâtre, analogue à celle du coli. 6 mai. Le développement continue par des prolongements latéraux, formés de petites colonies arrondies, confluentes, qui se présentent macroscopiquement sous forme nuageuse. Coloration bien rouge des colonies, moins visible à l'examen microscopique. Teinte générale jaune-rougeâtre.

Bacterium pseudo-tuberculosis rodentium.

28 avril. Développement sur les trois stries sous forme irrégulière; colonies opaques. 29 avril. Développement plus considérable, nombreuses colonies arrondies, confluentes; pas de coloration. 1^{er} mai. Le développement a progressé, les colonies sont plus tranchées. 3 mai. La teinte générale vert-bleuâtre, verdâtre, apparaît. 6 mai. Le développement a encore augmenté; teinte générale des plus distinctes.

Bacterium pseudo-pestis.

28 avril. Développement assez semblable à celui du *Pseudo-tuberculosis rodentium*; forme nuageuse moins opaque. 29 avril. Les colonies ont des contours moins nets, moins tranchés, plus diffus que le pseudo-tuberc. 1^{er} mai. Le développement a progressé. 3 mai. Pas de coloration des colonies, mais on constate la teinte générale vert-bleuâtre qui est des plus accentuées le 6 mai.

Ainsi donc, sur milieu Drigalski-Conradi, les colonies du bacille pesteux se colorent en rouge et tout le milieu prend une teinte générale jaune-rougeâtre analogue à celle du coli.

Les colonies du *Pseudo-tuberculosis rodentium* ne se colorent pas, mais le milieu prend une teinte générale vert-bleuâtre analogue à celle du bacille typhique.

Le bacille, provenant d'un cas suspect de peste, mais que M. Galli avait considéré comme très-rapproché du *Pseudo-tuberculosis rodentium*, s'est aussi comporté comme ce dernier, sur milieu Drigalski-Conradi, quant à son développement, le non-coloration des colonies et la teinte générale vert-bleuâtre semblable à celle du typhique.

Il y aurait là un caractère distinctif important pour le diagnostic du bacille pesteux et sa différenciation du *Pseudo-tuberculosis rodentium*.

**Résumé du développement des bacilles expérimentés
sur milieu Drigalski-Conradi.**

	Colonies	Teinte générale de la plaque
B. typhi	arrondies, plutôt translucides; bleues	vert-bleuâtre
B. coli	arrondies opaques; rouges ou rougeâtres	jaune-rougeâtre
B. typhi-murium	arrondies, opaques; bleues	vert-bleuâtre
B. dysenteriae (Shiga-Kruse)	petites colonies arrondies; pas de coloration (une seule fois)	pas de coloration
B. dysenteriae (Val- teline)	pas de développement	
B. pestis	colonies finement striées; rouges	jaune rougeâtre
B. pseudo-tubercu- losis rodentium	arrondies, opaques; pas de coloration	vert-bleuâtre
B. pseudo-pestis	diffuses, opaques; pas de coloration	vert-bleuâtre

En terminant, j'exprime à M. le Professeur Galli-Valerio mes sincères remerciements pour son extrême obligeance et tout l'intérêt qu'il me témoigne depuis que je travaille à son laboratoire.

Ouvrages cités dans ce travail.

- 1) Zeitschrift für Hygiene. Bd. XXXIX. 1902. p. 283.
- 2) Lehmann et Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. München 1904. 3. Aufl. p. 580.
- 3) Endo, J., Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1903. p. 109.)
- 4) Hagemann, C., Eine Vereinfachung des Drigalski-Conradischen Nährbodens. (Hyg. Rundsch. Bd. XIV. 1904. p. 623. D'après Bulletin de l'Institut Pasteur. T. II. 1904. p. 848.)
- 5) Krause, Paul, Ueber die zur Zeit üblichen bakteriologischen Untersuchungsmethoden der klinischen Typhusdiagnose. (Centralbl. f. Bakt. Referate. Bd. XXXV. No. 7/9. 1904. p. 250.)
- 6) Krause, P. u. Stertz, G., Ein Beitrag zur Typhusdiagnose aus dem Stuhle mittelst des v. Drigalski-Conradischen Verfahrens. (Zeitschr. f. Hygiene u. Inf.-Krankh. Bd. XLIV. 1903. p. 469.)
- 7) Reischauer, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen in den Darmentleerungen mit Verwendung der neueren Anreicherungsverfahren. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIX. 1905. No. 1. p. 116.)
- 8) Cambier, Robert, Contribution à l'étude des eaux alimentaires. Méthode de recherche du bacille typhique. Paris 1904. p. 52.
- 9) Lipschütz, Ueber die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis mit Hilfe des Drigalski-Conradischen Nährbodens und der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. No. 6. p. 798.)
- 10) Kühn, A., Die Frühdiagnose des Abdominaltyphus. Eine klinische und literarische Studie. (Centralbl. f. Bakt. Referate. Bd. XXXVI. 1905. No. 14/17. p. 502.)
- 11) Petkowitsch, Drag. S., Beiträge zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. No. 2. p. 304.)
- 12) Keyser, Heinrich, Das Wachstum der zwischen Bacter. typhi und coli stehenden Spaltpilze auf dem v. Drigalski-Conradischen Agarboden. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXI. 1902. No. 9. p. 426.)
- 13) Klinger, P., Beitrag zum v. Drigalski-Conradischen Verfahren des Typhusbacillen-Nachweises und zur Identifizierung typhusverdächtiger Bacillen durch die Agglutinationsprobe. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 7. p. 542.)
- 14) Siebert, C., Ueber das Verhalten der Loefflerschen Mäuse typhusbacillen zu dem v. Drigalski-Conradischen Nährboden. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIV. 1903. No. 6. p. 608.)
- 15) Krencker, Ernst, Zur Biologie der Typhus-Coligruppe. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIX. 1905. No. 1. p. 14.)
- 16) Lentz, Otto, Dysenterie dans Kolle et Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. II. p. 322.
- 17) Dante De Biasi, Studio comparativo di alcuni stipiti di B. dysentericum — dans Annali d'igiene sperimentale. Vol. XIV. 1904. Fasc. 1. p. 7.
- 18) Galli-Valerio, B., Notes de parasitologie et de technique parasitologique. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 230.)

Nachdruck verboten.

Ueber ein besonderes Kulturverfahren für den Tuberkelbacillus auf Kartoffeln.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Universität Pisa
(Prof. Dr. J. Guarnieri).]

Von Dr. J. Anzilotti, I. Assistenten.

Seit längerer Zeit ist in unserem Laboratorium für den Bac. Koch ein Kulturverfahren üblich, zu dessen Mitteilung ich mich aus dem Grunde

entschließe, weil eine mehr als 10-jährige Erfahrung dessen Zweckmäßigkeit und vollkommene Zuverlässigkeit verbürgt.

Seitdem Pawlowsky (Ann. Inst. Pasteur. 1888. p. 303) als erster darauf hinwies, daß Kartoffeln einen vorzüglichen Nährboden für den Bac. Koch bilden und Nocard und Roux die Beobachtung machten, daß ein Zusatz von Glycerin das Wachstum des Bacillus befördert, wurden in unserem Laboratorium zu Kulturzwecken, anstatt des vorher gebräuchlichen Glycerin-Agars oder Blutserums, nur noch Glycerin-Kartoffeln verwendet. Erst nachträglich wurden von Arloing und Courmont (C. R. de l'Acad. des Sciences. T. CXXVI. 1898. p. 1319) Glycerin-Kartoffeln, ähnlich den in unserem Laboratorium präparierten, hergestellt, und zwar entnahmen dann obige Forscher aus den auf diesem Wege gewonnenen Kulturen das Material zu weiteren flüssigen, homogenen Kulturen zu serodiagnostischen Zwecken.

Das in unserem Laboratorium übliche Verfahren ist folgendes: Man wählt am besten sogenannte weißfleischige Kartoffeln, aus denen man, nachdem sie vorher sorgfältig geschält und von allen jungen Trieben befreit worden sind, mittels eines Korkbohrers oder eines an dem einen Ende geschärften Rohres walzenförmige Stücke aussticht, die ungefähr 4 cm Länge messen und so breit sind, daß sie bequem in die Kulturgläser passen. Ein jedes dieser Stücke wird noch durch einen schräg geführten Schnitt in zwei Hälften zerlegt, so daß für die Aussaat eine weite, geneigte Oberfläche zur Verfügung steht. Nachdem man die so vorbereiteten Stücke vorher noch sorgfältig in Aq. destill. gewaschen, werden sie in einer 6-proz. Glycerinlösung, die mit einer gesättigten Lösung von kohlen saurem Natron alkalisch gemacht wird, so lange gekocht, bis sie ganz weich und stark aufgequollen sind. Dazu braucht es ungefähr 20 Minuten, und man muß dabei beachten, daß die Lösung immer alkalisch bleibt, indem man, sobald eine starke saure Reaktion eintritt, was fast immer der Fall ist, sofort von der Natronlösung zusetzt. Auch die Kartoffeln selbst müssen nach dem Kochen eine alkalische Reaktion aufweisen.

Die Gläser, die sich am besten zur Aufnahme der Kartoffelstücke eignen, sind die von Roux, mit einer Verengung versehen, doch kann man sie ebensogut in gewöhnliche Kulturgläser mit sehr weitem Durchmesser unterbringen. In letzterem Fall legt man auf den Boden des Glases einen Glasscherben oder ein Glasstäbchen derart, daß die Kartoffeln etwa 2 cm vom Boden des Glases erhöht zu liegen kommen. In den so freigebliebenen Raum gießt man dann so viel von der bereits erwähnten leicht alkalischen 6-proz. Glycerinlösung, bis sie die untere Fläche der Kartoffeln berührt und durchtränkt. Die Gläser werden vorher bei 120° auf trockenem Wege sterilisiert, und dann, nachdem sie mit der Glycerinlösung und den Kartoffeln beschickt, und mit einem Wattebauch verschlossen worden sind, in drei aufeinanderfolgenden Tagen während 20 Minuten im Kochschen Apparat oder ein einziges Mal während 20 Minuten im Autoklaven bei 120° nochmals sterilisiert; sie sind jetzt für die Aussaat fertig.

Besät man nun die Kartoffeln mit einer Kultur von Bac. Koch, indem man das Material sorgfältig über die ganze Fläche ausstreicht, so sind die neuen Kolonien bereits am 4. oder 5. Tage in Form gelblich-grauer Körnchen sichtbar. Dieselben nehmen beständig an Größe zu, so daß sie am 15. Tage die ganze Oberfläche der Kartoffeln üppig überwuchern. Zu dieser Zeit erscheint die ganze Oberfläche der Kartoffel mit einer

dicken, unregelmäßigen, gelb-grauen Schicht bedeckt, die auch auf die Berührungsfäche mit der Gefäßwand übergreift. An der Oberfläche der Glycerinlösung bildet die Kultur ein dichtes, gekräuseltes Häutchen. In den darauffolgenden Tagen nimmt die Kulturschicht beständig an Dicke zu, bis sie am Ende ein so üppiges Aussehen gewinnt, wie sonst auf keinem anderen, auch glycerinhaltigen Nährboden, um so weniger auf Blutserum. Mit der Zeit verfärben sich die Kolonien bald in grau, bald in gelb, bald in weiß, je nach der Qualität der Kartoffeln, bewahren jedoch stets in untrüglicher Weise die kulturellen Merkmale der Kochschen Bacillen. Auf dem so zubereiteten Nährboden habe ich sowohl Menschen- als Vögel- und Rindertuberkulose gezüchtet und immer mit demselben Erfolg; die Rindertuberkulosekolonien erscheinen daselbst von weißer Farbe und grobkörnig. Auch auf die direkte Impfung von menschlichen oder tierischen Organen (Lungen-, Hoden- und Lymphdrüsentuberkulose) erfolgte jedesmal eine rasche Entwicklung typischer üppiger Kolonien des Bac. Koch.

Die Glycerinlösung am Boden des Gefäßes schützt die Kartoffeln vor Vertrocknung, und man kann die Verdunstung noch vollkommener verhindern, indem man den Wattebausch mit Siegellack überzieht oder ein Gummikäppchen über das Glas stülpt.

Unter solchen Bedingungen blieben die Kulturen während des Sommers 2 bis 3 Monate lang den Schwankungen der Zimmertemperatur ausgesetzt, ohne daß sich eine Uebertragung derselben auf frischen Nährboden als nötig erwiesen hätte, und ohne etwas von ihrer Lebenskraft und Virulenz einzubüßen.

Die auf Kartoffeln gezüchteten Tuberkelbacillen weisen keinerlei morphologische Unterschiede von den in anderen Nährmedien zur Entwicklung gelangten auf; den körnigen, streptokokkenähnlichen Formen begegnet man äußerst selten und nur in sehr alten Kulturen; ebenso wenig ist es mir gelungen, die von einigen Autoren beschriebenen fadenförmigen oder verzweigten Formen aufzufinden.

Da obiges Kulturverfahren in unserem Laboratorium seit mehr als 10 Jahren in stetem Gebrauch ist, so bin ich in der Lage, über die pathogene Wirkung solcher Kulturen zuverlässige Angaben mitteilen zu können. Ich konnte mich nämlich öfters überzeugen, daß sich auf Kartoffeln viel virulenter Kolonien entwickeln, als auf Glycerin-Agar oder Blutserum. Eine so kleine Menge, wie sie an der Spitze einer Platinnadel haften kann, genügt, um bei einem Meerschweinchen eine Miliartuberkulose hervorzubringen und das Tier in etwa 15 Tagen zu töten. Kulturen, die während 2 bis 3 Monaten der Zimmertemperatur ausgesetzt blieben, erwiesen sich immer noch als sehr virulent und in hohem Grade toxisch. Endlich eignet sich die von uns befolgte Methode sehr gut zur Herstellung homogener Kulturen nach Arloing und Courmont.

Das in unserem Laboratorium gebräuchliche Verfahren bietet folglich, gegenüber den gewöhnlichen Kulturmethoden für den Bac. Koch, mehrere tatsächliche nicht zu unterschätzende Vorzüge, deren wichtigste sich, wie folgt, zusammenfassen lassen.

Die nach obigem Verfahren hergestellten Kulturen:

- 1) entwickeln sich bedeutend rascher und üppiger, als auf jedem beliebigen anderen Nährboden,
- 2) halten sich lange Zeit am Leben und ohne etwas von ihrer Virulenz einzubüßen, auch wenn die Uebertragung auf frischen Nährboden nur in sehr weiten Zeitabständen erfolgt,

3) besitzen eine hochgradigere Virulenz und Toxizität, als andere Kulturen und eignen sich vortrefflich zu Versuchszwecken und zur Herstellung homogener Kulturen für die Bestimmung des Agglutinationsvermögens.

Zum Schluß sei es mir noch vergönnt, meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Guarnieri, der mir die Veröffentlichung dieser kleinen Mitteilung aus der bakteriologischen Technik gütig gestattete, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Berichtigung.

Der Schlußsatz zu der Arbeit: „Ueber die Frage der Widerstandsfähigkeit der Granulationen dem Milzbrand gegenüber von Dr. Raffaello Giani“, welcher in Heft 2 vergessen wurde, möge hier folgen:

Es kann also sein, daß die Milzbrandbacillen die verletzte Oberfläche des Meerschweinchens nicht durchdringen, auch wenn das Granulationsgewebe auf dieser letzteren sich noch nicht entwickelt hat; daraus folgt, daß dieses Gewebe kein spezifisches Verteidigungsvermögen der Milzbrandinfektion gegenüber besitzt.

Inhalt.

- Anzilotti, J.**, Ueber ein besonderes Kulturverfahren für den Tuberkelbacillus auf Kartoffeln, p. 765.
- Bartel, Julius und Neumann, Wilhelm**, Leukocyt und Tuberkelbacillus, p. 723.
- Conforti, Giuseppe und Bordoni, Tito**, Beitrag zur Pathologie der akuten eitrigen Halsdrüsenentzündungen des ersten Kindesalters, p. 625.
- Ellermann, V.**, Ueber den Befund von Rhizopoden bei zwei Fällen von Poliomyelitis acuta, p. 648.
- Forster, J.**, Ueber ein Verfahren zum Nachweis von Milzbrandbacillen in Blut und Geweben, p. 751.
- Gaehdgens, Walter**, Ueber einen Fall von Mischinfektion von Typhus und Paratyphus, p. 621.
- Galbiati, Luigi Pietro**, Ueber den Durchtritt des Wutvirus durch intakte Schleimhäute, p. 644.
- Galli-Valerio, Bruno und Rochas-de-Jongh, Jeanne**, Ueber die Wirkung von *Aspergillus niger* und *Aspergillus glaucus* auf die Larven von *Culex* und *Anopheles*, p. 630.
- Gay, Frederick P.**, So-called "Complementoids", p. 695.
- de Kaan, J.**, Gibt es beim Menschen endoparasitär lebende Acariden?, p. 693.
- Haenle, Oscar**, Bakteriologische Studien über künstliches Selterswasser, p. 609.
- Hammerschmidt**, Ein Beitrag zur Typhusdiagnose aus Faeces, p. 747.
- Landsteiner, Karl**, Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung über Hämolysebildung von Bang und Forssman, p. 723.
- Loeb, Leo**, Ein weiterer Versuch über die die Blutgerinnung hemmende Substanz in *Ankylostoma caninum*, p. 740.
- — und **Smith, Allen J.**, Ueber eine die Blutgerinnung hemmende Substanz in *Ankylostoma caninum*, p. 738.
- Müller, Reiner**, Diphtheriebacillenähnliche Stäbchen bei Anginen mit scharlachartigem Exanthem, p. 613.
- Reischauer**, Ueber die Pocken der Vögel, ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erreger. (Schluß.), p. 653.
- de' Rossi, Gino**, Ueber die Phänomene der Agglutination der Bakterien. (Schluß.), p. 698.
- Schöffner, W.**, Ueber den neuen Infektionsweg der Ankylostomalarve durch die Haut, p. 683.
- Streit, Hermann**, Zur Frage der Agglutinierbarkeit von Kapselbacillen, p. 709.
- Tiberti, N.**, Ueber die immunisierende Wirkung des aus dem Milzbrandbacillus extrahierten Nukleoproteids auf Schafarten, p. 742.
- Tissoni, Guido und Bongiovanni, Alessandro**, Ueber die Heilwirkung der Radiumstrahlen bei der durch Straßenvirus verursachten Wut, p. 745.
- Vourloud**, Cultures du *Bacterium typhi*, du *Bact. coli* et de quelques autres bactéries rapprochées du groupe coli-typhique, sur milieu de Drigalski-Conradi, p. 754.
- Wolf-Eisner, Alfred**, Ueber Ermüdungs- und Reduktionstoxine, p. 634.

Berichtigung, p. 768.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XL enthaltenen Arbeiten.

Ankersmith, P., Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes.	100	Conforti, G. und Bordoni, T., Beitrag zur Pathologie der akuten eitrigen Halsdrüsenentzündungen des ersten Kindesalters.	625
Anzilotti, J., Ueber ein besonderes Kulturverfahren für den Tuberkelbacillus auf Kartoffeln.	765	Doepner, H., Ueber die Widerstandsfähigkeit der Antigene der roten Blutkörperchen gegen hohe Temperaturen.	500
Babucke, Zur schnellen Filtration des Nährgars.	607	Edens, Ueber Oxyuris vermicularis in der Darmwand.	499
Bail, O. und Weil, E., Unterschiede zwischen aggressiven Exsudaten und Bakterienextrakten.	371	Eljkman, C., Zur Reinigung des Trinkwassers mittels Ozon.	155
Bandi, J. und Simonelli, F., Ueber das Vorkommen der Spirochaete pallida im Blute und in den sekundären Erscheinungen der Syphiliskranken.	64	Eisenberg, P., Ueber sekundäre Bakterienkolonien.	188
— siehe Simonelli, F.		Ellermann, V., Ueber den Befund von Rhizopoden bei zwei Fällen von Poliomyelitis acuta.	648
Bang, J. und Forssman, J., Untersuchungen über die Hämolysebildung.	151	Ernst, W., Ueber Pyelonephritis diphtherica bovis und die Pyelonephritisbacillen.	79
Bartel, J. und Neumann, W., Leucocyt und Tuberkelbacillus.	723	Fermi, Cl., Die saccharifizierende Wirkung des Bac. tuberculosis.	187
— —, Lymphocyt und Tuberkelbacillus.	518	Forssman, J. siehe Bang, J.	
Bertarelli, E., Ueber die Antipilase.	231	Forster, J., Ueber ein Verfahren zum Nachweis von Milzbrandbacillen in Blut und Geweben.	751
—, Ueber einen pathogenen Keim der Iguana und interessante, von ihm erzeugte Verletzungen (Diplococcus iguanae n. sp.).	458	Friedberger, E., Die spezifischen Serumveränderungen bei Cholera-bacillen-zwischenträgern.	405
— und Volpino, G., Untersuchungen über die Spirochaete pallida Schaud. bei Syphilis.	56	Fuhrmann, O., Das Genus Diploposthe Jacobi.	217
Böhme, A., Die Anwendung der Ehrlichen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke.	129	Gachtgens, W., Ueber einen Fall von Mischinfektion von Typhus und Paratyphus.	621
Bongiovanni, A. siehe Tizzoni, G.		Galblati, L. P., Ueber den Durchtritt des Wutvirus durch intakte Schleimhäute.	644
Bordoni, T. siehe Conforti, G.		Galli-Valerio, B., Recherches expérimentales sur la rage des rats avec observations sur la rage du surmulot, de la souris et du mulot.	197. 318
Borini, A., Bakteriologische Untersuchungen über den Morbillus.	194	— und Rochaz-de-Jongh, J., Ueber die Wirkung von Aspergillus niger und A. glaucus auf die Larven von Culex und Anopheles.	630
Boxer, S., Ueber das Verhalten von Streptokokken und Diplokokken auf Blutnährböden.	591	Ghon, A. und Mucha, V., Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen.	37
Bronstein, J., Zur Technik der Serumgewinnung.	583	Giani, R., Ueber die Frage der Widerstandsfähigkeit der Granulationen dem Milzbrand gegenüber.	238
Bürgi, M., Die Staphylokokkeninfektion bei den Hasen.	91	Gloger, R., Calcium telluroidum in der Medizin und Hygiene.	584
Cache, A., Rolle des MgH ₂ PO ₄ bei der Zubereitung von Nährböden.	255	Gay, F. P., So-called Complementoids.	695
Cardanati, J. P. siehe Pezopoulo, N.			
Citron, J., Ueber die Immunisierung mit Exsudaten und Bakterienextrakten.	153		
Cler, E., Ueber einige Eigenschaften des Antimilzbrandsersums Sclavos.	241		
Cohn, L., Zur Anatomie zweier Cestoden.	362		

- de Haan, J., Gibt es beim Menschen endoparasitär lebende Ascariden? 693
- Haass, E., Beitrag zur Kenntnis der Aktinomyceten. 180
- Haenle, O., Bakteriologische Studien über künstliches Selterwasser. 609
- Hammerschmidt, Ein Beitrag zur Typhusdiagnose aus Faeces. 747
- Hunter, W., The spread of plague infection by insects. 43
- Igersheimer, J., Ueber die bakterizide Kraft des 60-proz. Aethylalkohols. 414
- Kafka, V., Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik. 247. 419. 548
- Kayser, H., Bakteriologischer Befund bei einem weiteren Fall von Paratyphus des Brion-Kayserschen Typus A. 285
- Kern, F., Bemerkung zu Dr. Leo Buerger's Abhandlung: Eine neue Methode zur Kapselfärbung der Bakterien etc. 175
- Klisskalt, K., Blutparasiten bei Fledermäusen. 213
- Konradi, D., Typhusbacillen in der Milch. 31
- Küster, E., Eine neue Saugvorrichtung für Pipetten zur genauen Abmessung kleinster Flüssigkeitsmengen. 270
- Laengner, H., Ueber Pentastomum denticulatum beim Menschen. 368
- Lambotte, U. et Stiennon, T., Alexine et Leucocytes. 224. 393. 503
- Landsteiner, K., Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung über Hämolysebildung von Bang und Forssman. 723
- und Uhlirz, R., Ueber die Adsorption von Eiweißkörpern. 265
- Loeb, L., Ein weiterer Versuch über die Blutgerinnung hemmende Substanz in Ankylostoma caninum. 740
- und Smith, A. J., Ueber eine die Blutgerinnung hemmende Substanz in Ankylostoma caninum. 738
- Löhns, F., Bacterium agreste n. sp. 177
- van Loghem, J. J., Zur Kasuistik der Streptothrixpyämie. 298
- Lubnan, Bacillus peptonificans als Erreger einer Gastroenteritisepidemie. 433
- Lüdke, H., Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie. 69. 290. 439
- Weitere Beiträge zur Hämolyse II. 576
- Madsen, Th. et Walbum, L., La tetanolysine et la peptone de Witte. 409
- Manwaring, W. H., Hemolytic curves. 400
- Qualitative changes in hemolytic amboceptor. 386
- The absorption of hemolytic amboceptor. 382
- Mereshkowsky, S. S., Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. 118
- Mucha, V. siehe Ghon, A.
- Müller, R., Diphtheriebacillenähnliche Stäbchen bei Angina mit scharlachartigem Exanthem. 613
- Neumann, W. siehe Bartel, J.
- Paccanaro, A. siehe Sartirana, S.
- Pane, N., Zur Biologie eines pathogenen Bacterium viscosum. 279
- Petersson, A., Ueber die Bedeutung der Leukocyten bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweinchens mit Typhusbacillen. 537
- Pezopoulo, N. und Cardamati, J. P., Die Malaria in Athen. Eine biologische und histologische Studie über die Malarialplasmodien. 344. 480
- Plorkowski, Zur Differenzierung des Typhusbacillus und Bacillus faecalis alcaligenes. 437
- Porges, O., Ueber die Beziehungen zwischen Bakterienagglutination und Ausflockungserscheinungen der Kolloide. 133
- Pröschner, F., Ueber die künstliche Züchtung eines unsichtbaren Mikroorganismus aus der Vaccine. 337
- Reischauer, Ueber die Pocken der Vögel, ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erreger. 356. 474. 653
- Rochaz-de-Jongh, J. s. Gall-Valerio, B.
- Rosenthal, W., Ueber Beziehungen zwischen Hühnerpest und Lyssa. 204
- de' Rossi, G., Ueber die Phänomene der Agglutination der Bakterien. 562. 698
- , Ueber die Zubereitung haltbarer Kulturen für den serodiagnostischen Versuch. 426
- Sachs, H., Ueber die Komplement ablekende Funktion des normalen Serums. 398
- Ueber Komplementoide. 125
- Sartirana, S. und Paccanaro, A., Der Streptococcus bombycis in Bezug auf die Aetiologie der Auszehrung und Schlafsucht der Seidenraupe. 207. 331
- Scheller, R., Beiträge zur Diagnose und Epidemiologie der Diphtheritis. 1
- Schöffner, W., Ueber den neuen Infektionsweg der Ankylostomalärve durch die Haut. 683
- Schüller, M., Bemerkungen zu L. Karwackis „Beitrag zur Kenntnis der Geschwulstflora“. 212
- Ueber die Entwicklungsweise der Parasiten beim Krebs und Sarkom des Menschen, sowie bei Syphilis, und über ihre verschiedene Einwirkung auf die Zellen. 463
- Schwarz, F. A., Ueber ein hitzebeständiges Bakteriengift. 273
- Shibayama, G. und Toyoda, H., Ueber den Wirkungsmechanismus des Antiserums. 566

- Simonelli, F. und Bandi, J.**, Ueber eine rasche Färbungsmethode von *Spirochaete pallida*. 159
— siehe **Bandi, J.**
- Smith, A. J.** siehe **Loeb, L.**
- Spiegel, O.**, Bakterienfärbung mit eosinsaurem Methylenblau nach May-Grünwald. 430
- Stiennon, T.** siehe **Lambotte, U.**
- Streit, H.**, Zur Frage der Agglutinerbarkeit von Kapselbacillen. 709
- Stüpfle, K.**, Ueber spirochätenähnliche Gebilde in *Vaccinilympha*. 495
- Tabusso, M. E.**, Beobachtungen über das Blut des tetanuskranken Pferdes. Hämolyse, Agglutination, Kryoskopie. 311
- Tarozzi, G.**, Ueber das Latentleben der Tetanussporen im tierischen Organismus und über die Möglichkeit, daß sie einen tetanischen Prozeß unter dem Einfluß traumatischer und nekrotisierender Ursachen hervorrufen. 305. 451
- Terburgh, J. Th.**, Die auf dem v. Drigalski-Conradischen Nähragar wachsenden Bacillen, nebst einigen Bemerkungen über den *Bacillus faecalis alcaligenes*. 258
- Thesing, C.**, *Spirochaete*, *Spironeima* oder *Spirillum*? 351
- Tiberti, N.**, Ueber die immunisierende Wirkung des aus dem Milzbrandbacillus extrahierten Nukleoproteids auf Schafarten. 742
- Tizzoni, G. und Bongiovanni, A.**, Ueber die Heilwirkung der Radiumstrahlen bei der durch Straßenvirus verursachten Wut. 745
- Toyoda, H.** siehe **Shibayama, G.**
- Uhlirz, R.** siehe **Landsteiner, K.**
- Vannod, Th.**, L'agar ordinaire, comme milieu de culture du gonocoque. 162
- Venema, T. A.**, Ueber eine Anreicherung von *Bacterium coli* in Wasser. 600
- Volpino, G.** siehe **Bertarelli, E.**
- Vourloud, Cultures du Bacterium typhi, du Bact. coli et de quelques autres bactéries rapprochées du groupe colityphique, sur milieu de Drigalski-Conradi.** 754
- Walbum, L.** siehe **Madsen, Th.**
- Weil, E.** siehe **Bail, O.**
- Wolf-Elsner, A.**, Ueber Eiweißimmunität und ihre Beziehungen zur Serumkrankheit. 378
— Ueber Ermüdungs- und Reduktionstoxine. 634

II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Actinomyceten*, systematische Stellung. 180
- Aethylalkohol* 60-proz., bakterizide Kraft. 414
- Agglutination bei Bakterien, Einfluß der Abtrennung der Geißeln. 705
- , Einwirkung der Wärme. 565. 698
- , Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden. 247. 419. 548
- Alexine*, Beziehungen zu den Leukocyten. 393. 503
- , Verhältnis zu den Leukocyten. 224
- Ambozeptoren hämolytische, Absorption. 382
- , qualitative Veränderungen. 386
- Angina mit scharlachartigem Exanthem, Vorhandensein von diphtheroiden Bakterien. 613
- Ankylostomum caninum*, Vorhandensein einer Blutgerinnung hemmenden Substanz. 738. 740
- duodenale, Eindringen der Larven durch die Haut. 683
- Antigene der roten Blutkörper, Resistenz gegen Hitze. 500
- Antilipase, Eigenschaften. 231
- Antimilzbrandserum Sclavos, Eigenschaften. 241
- Antiserum, Wirkungsweise. 566
- Antitetanolyisin in Pepton Witte. 409
- Aspergillus flavescens*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- Aspergillus fumigatus*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- glaucus, Wirkung auf die Larven von *Culex* und *Anopheles*. 631
- niger, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- , Wirkung auf die Larven von *Culex* und *Anopheles*. 630
- varians, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- Bacillus acidi lactici*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- aquatilis, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- botulinus, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- cholerae gallinarum, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- Cubonianus, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- cyanogenes, sekundäre Koloniebildung. 193
- dysenteriae, Kultur auf v. Drigalski-Conradischem Nährboden. 762
- , sekundäre Koloniebildung. 193
- enteritidis, sekundäre Koloniebildung. 193
- fluorescens liquefaciens, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
- non liquefaciens, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587

- Bacillus fluorescens*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *indicus*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *kiliensis*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *luteus*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *mallei*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *megatherium*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — —, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *mesentericus vulgaris*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *morbificans bovis*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *mycoides*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *oedematis maligni*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *ozaenae*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *peptonificans* als Erreger von Gastroenteritis. 433
 — *pneumoniae*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *prodigosus*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — —, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *proteus*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *pseudopestis*, Kultur auf v. Drigalski-Conradischem Nährboden. 763
 — *pseudotuberculosis rodentium*, Kultur auf v. Drigalski-Conradischem Nährboden. 763
 — *putidus*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *pyocyaneus*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — —, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *pyogenes foetidus*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *ramosus liquefaciens*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *rufefaciens*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *septicaemia haemorrhagicae*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *sporiferus*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — *subtilis*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — —, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *suisepticus*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *syncyaneus*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *typhi murium*, Verhalten auf v. Drigalski-Conradischem Nährboden. 761
 — — —, sekundäre Koloniebildung. 193
 — — —, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *violaceus*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
Bacterium agreste Löhnis im Ackerboden. 177
Bacterium coli commune, Anreicherung in Wasser. 600
 — — —, Kultur auf v. Drigalski-Conradischem Nährboden. 756
 — *viscosum*, Kultur und Pathogenität. 279
 — *coli commune*, sekundäre Koloniebildung. 193
 — — —, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — *vulgare*, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 Bakterienagglutination, Beziehungen zu Ausflockungserscheinungen bei Kolloiden. 133
 Bakterienextrakte, Verschiedenheit von aggressiven Exsudaten. 371
 Bakteriengift, hitzbeständiges. 273
 Bakterienkolonien, sekundäre Sprossungen. 188
Bertia laticephala, Systematik. 366
Carpoglyphus alienus Banks in der Harnblase. 693
Chlamydocephalus namaquensis Cohn, Anatomie. 362
 Cholera bacillenzwischenträger, spezifische Serumveränderungen. 405
 Cholera vibrionen, sekundäre Koloniebildung. 193
 —, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 Darmkanal, Rolle der acidophilen Bakterien. 118
 Diphtherie, bakteriologische Untersuchung von gesunden Angehörigen Diphtheriekranker. 20
 —, bakteriologische Untersuchung von Rekonvaleszenten. 12
 —, Dauer der Immunität. 26
 —, Methode der Untersuchung diphtherieverdächtiger Objekte. 3
 Diphtherie bacillen, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 588
Diplococcus iguanae Bertar. in Iguana. 458
 Diplokokken, Verhalten auf Blutnährböden. 591
Diploposthe laevis, Synonymie und Beschreibung. 217
 —, Systematik. 217
 v. Drigalski-Conradischer Nährboden, Wachstum der Bakterien darauf. 258
 Dysenterie bacilläre, Agglutination. 290.
 — —, aktive und passive Immunität. 69
 Eiweißimmunität, Beziehung zur Serumkrankheit. 378
 Eiweißkörper, Adsorptionserscheinungen. 265
 Ermüdungs- und Reduktionstoxine, Zusammenfassung unserer Kenntnisse. 634
 Fledermäuse, Blutparasiten. 213
 Geschwülste, Kultur von Schüllers Parasiten. 212
Gonococcus Neisseri, Kultur auf gewöhnlichem Agar. 162
 Hämolyse, Bedeutung der Lipide. 723
 —, Bedingungen dafür. 576
 —, Kurven der Wirkung. 400

- Hämolysebildung, Bedingungen. 151
 Halsentzündungen eitrige der Kinder, bakteriologische Befunde. 625
 Hühnerpest, Beziehungen zur Hundswut. 204
 Hundswut der Ratten und Mäuse. 197. 318
 —, Durchtritt des Virus durch intakte Schleimbäute. 644
 —, Heilung durch Radiumstrahlen. 745
 Immunisierung durch Exsudate und Bakterienextrakte. 153
 Indolreaktion, Verwendung für bakteriologische Zwecke. 129
 Kalium tellurosum als Antiseptikum. 584
 Kapselbacillen, Agglutinierbarkeit. 709
 Komplementoide, Vorkommen und Wirkung. 125. 695
 Kulturen, haltbare für den serodiagnostischen Versuch. 426
 Magnesiumphosphat als Zusatz zu Nährböden. 255
 Malaria in Athen, Epidemiologie. 344. 480
 Methylenblau, eosinsaures zur Bakterienfärbung. 430
 Micrococcus rosaceus, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 Mikroorganismus, unsichtbarer in der Vaccine. 337
 Milzbrandbacillen, Färbung nach Buerger. 175
 —, Immunisierung von Schafen durch das Nukleoprotein. 742
 —, Nachweis in Blut und Geweben. 751
 —, Verhalten im Granulationsgewebe. 238
 Morbillus, bakteriologischer Befund. 194
 Mucor mucedo, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 Nähragar, schnelle Filtration. 607
 Oxyuris vermicularis in der Darmwand. 499
 Ozon zur Trinkwasserreinigung. 155
 Parasiten bei Krebs und Syphilis, Einwirkung auf die Zellen. 463
 Paratyphus, bakteriologischer Befund. 285
 Paratyphusbacillen, sekundäre Koloniebildung. 192
 Penicillium brevicaulis, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — glaucum, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 Pentastomum denticulatum beim Menschen. 368
 Peritonitis, anaerobe Bakterien als Erreger. 37
 Pest, Verbreitung durch Insekten. 43
 Pestbacillen, Kultur auf v. Drigalski-Conradischem Nährboden. 763
 Pocken der Vögel, Beziehungen zu den echten Pocken. 356. 474. 653
 Poliomyelitis acuta, Befund von Rhizopoden. 648
 Pseudodiphtheriebacillen, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 588
 Pyämie durch Streptothrix. 298
 Pyolonephritis diphtherica bovis, Ursache. 79
 Radiumstrahlen, Heilwirkung bei Hundswut. 745
 Rind, Bakterien des Verdauungskanales. 100
 Rotzbacillen, sekundäre Koloniebildung. 193
 Sarcina aurantiaca, sekundäre Koloniebildung. 193
 — lutea, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — pulmonum, sekundäre Koloniebildung. 193
 Saugvorrichtung für Pipetten. 270
 Selterwasser künstliches, bakteriologische Befunde. 609
 Serum normales, Komplement ablenkende Funktion. 388
 Serumgewinnung, Apparate. 583
 Spirillum rubrum, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 588
 Spirochaete pallida, schnelle Färbungsmethode. 159
 — —, Vorkommen bei Syphilis. 56
 — —, Vorkommen im Blut und bei sekundären Erscheinungen Syphiliskranker. 64
 — — zu den Bakterien gehörig. 351
 Staphylococcus pyogenes albus, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — — aureus, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — — citreus, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 Staphylokokkeninfektion bei Hasen. 91
 Streptococcus bombycis bei der Seidenraupenkrankheit. 207. 331
 Streptokokken, Verhalten auf Blutnährböden. 591
 Streptothrix als Ursache von Pyämie. 298
 — lingualis, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 — odorifera, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 Tetanus beim Pferde, Blutbeobachtungen. 311
 Tetanusbacillen, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 587
 Tetanussporen, Latentbleiben im tierischen Organismus. 305. 451
 Trinkwasser, Reinigung durch Ozon. 155
 Tuberkelbacillen, Beeinflussung durch die Lymphdrüsen. 518
 —, Beziehungen zu den Leukocyten. 723
 —, Kultur auf Kartoffeln. 765
 —, Saccharifikation. 187
 —, Verhalten gegen Kalium tellurosum. 588
 Typhus mit Paratyphus, Mischinfektion. 621
 Typhusbacillen, Einwirkung der Leukocyten beim Meerschweinchen. 537
 —, Kultur auf v. Drigalski-Conradischem Nährboden. 756
 —, sekundäre Koloniebildung. 192
 —, Unterscheidung von Bacillus faecalis alcaligenes. 437
 —, Vorkommen in Milch. 31
 Typhusdiagnose aus Faeces. 747
 Vaccinelympe, Vorkommen spirochätenähnlicher Gebilde. 495

Vibrio albensis, sekundäre Koloniebildung.	193	Vibrio Metschnikowi, Verhalten gegen Kalium tellurosum.	587
— berlinensis, Verhalten gegen Kalium tellurosum.	587	— phosphorescens, Verhalten gegen Kalium tellurosum.	587
— Metschnikowi, sekundäre Koloniebildung.	193	— tyrogenes, Verhalten gegen Kalium tellurosum.	587

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Amboceptoren hämolytische, Absorptionskurven.	383—385	Oxyuris vermicularis in der Darmwand.	500
— —, Kurven der quantitativen Aenderung.	387. 388	Parasiten bei Pocken der Vögel. (Taf. I, II.)	672
Ankylostomum duodenale in der Haut.	686. 687	Paratyphusbacillen, Sekundärkolonien. (Taf. Fig. 5.)	194
Apparat für intravenöse Injektionen.	583	Pipette mit Saugvorrichtung.	271
Bacillen aus der Luft, sekundäre Kolonien. (Taf. Fig. 3.)	194	Plasmodium malariae. (Taf. II. Fig. 1'—16'.)	495
Bacillus enteritidis, Kolonien (Taf. Fig. 4.)	194	— praecox. (Taf. I.)	494
Bacterium viscosum. (Taf.)	285	— vivax. (Taf. II. Fig. 1—10.)	495
Befestigungsapparat für Ratten.	199	Pulex irritans, Speicheldrüsen.	92
Chlamydocephalus namaquensis Cohn.	363	—, Querschnitt durch Rüssel und Oberkiefer.	93
Diphtheriebacillen, junge Kolonien. (Taf. Fig. 1.)	194	— serraticeps, Speicheldrüsen.	92
Diplococcus iguanae Bert. (Taf.)	459. 463	Pyelonephritisbakterien.	80
Dysenterie bacilläre bei Kaninchen, Kurven der Agglutinationswerte.	293	Rhizopoden bei Poliomyelitis acuta. (Taf.)	649. 653
— —, Stuhlkurven.	69—73	Rotzbacillen, Kolonien. (Taf. Fig. 6.)	194
Gefäß zur Blutentnahme.	583	Spirochaete pallida im Gewebe. (Taf. II.)	64
Gonococcuszüchtung auf Agar, Wachstumskurven.	169—174	— — in syphilitischen Sekreten und im Sputum. (Taf. I. Fig. 4—12.)	64
Hämolyse, Kurven für die Wirkung.	400	Spirochäten bei Balanitis. (Taf. I. Fig. 3.)	64
Maus mit Wutgift inokuliert.	329	— der Mundhöhle. (Taf. I. Fig. 1, 2.)	64
Mikroorganismus, unsichtbarer im Pockenvirus. (Taf.)	343	Streptokokken und Diplokokken auf Blutnährböden, Uebersichtstableau.	594
Milzbrandbacillen, gefressen von Leukocyten. (Taf.)	247	Streptothrix im Eiter.	300
Morbillen, Bakterien. (Taf.)	197	Typhusbacillen, Sekundärkolonien. (Taf. Fig. 2.)	194

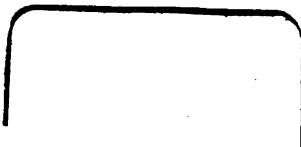
Berichtigung.

S. 466 Zeile 23 von oben muß es „Mikrogameten“ statt Mikrogametocyten heißen.

S. 473 Zeile 32 von oben ist irrtümlicherweise vom Setzer wiederholt worden „luis“; es muß heißen: bei den Carcinomen und Sarkomen Plasmodium kytoplastikon“.

41 C 159

~~41A~~
~~151+~~





3 2044 102 988 045

