



The University of Chicago  
Libraries







# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.**

---

**Erste Abteilung. XLIV. Band.**

**Originale.**



**CENTRALBLATT**  
für  
**Bakteriologie, Parasitenkunde**  
und **Infektionskrankheiten.**

---

In Verbindung mit

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

**Geh. Med.-Rat Professor Dr. R. Pfeiffer**  
in Königsberg

und

**Staatsrat Professor Dr. M. Braun**  
in Königsberg

herausgegeben von

**Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.**

---

Erste Abteilung. XLIV. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

**Originale.**

Mit 19 Tafeln und 80 Abbildungen im Texte.

---

J e n a ,  
Verlag von Gustav Fischer.  
1907.

YVANG 311  
TO VAVU  
YVAVU GOAHO

517  
22



*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage des latenten Mikrobismus.

Erster Teil.

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

Von Dr. L. Hess, Wien.

Seitdem Verneuil, Jaccoud u. A. die Theorie des latenten Mikrobismus aufstellten, hat diese bis in die jüngste Zeit Anlaß zu lebhaftem Widerstreit gegeben. Während zahlreiche deutsche und fremdländische Autoren bemüht waren, den exakten Nachweis lebensfähiger, virulenter oder in ihrer Virulenz abgeschwächter Keime im Innern menschlicher oder tierischer Organe zu erbringen (Loomis, Pizzini, Spengler, Dürck, Perez, Kälble u. A.), beharrten andere bei der Ansicht von der absoluten Keimfreiheit des Körperinnern im gesunden Zustande (Hauser, Fr. Müller, Klippstein).

Dabei möchten wir zunächst unterscheiden zwischen einer Latenz von Bakterien in abnormalem, bereits in irgend einem Sinne verändertem Gewebe (Absceß, Tuberkel, Gumma, abgesacktes Exsudat, Granulationsgewebe von nicht spezifischem Charakter) und einer Latenz in „anscheinend“ gesunden Organen. Was die erstere betrifft, so ist die Möglichkeit eines derartigen Verhaltens wohl als allgemein anerkannt zu betrachten. Speziell hat die Frage der Latenz des Tuberkelbacillus in spezifisch tuberkulösen Produkten, wie bei der Wichtigkeit dieser Infektion begreiflich ist, viele Autoren beschäftigt. Lubarsch beispielsweise spricht sich in dieser Frage in positivem Sinne aus und glaubt aus einzelnen, klinisch beobachteten Fällen schließen zu dürfen, daß gelegentlich diese Latenzperiode auch bis zu 10 Jahren dauern könne. Im Tierexperiment liefert ferner Baumgarten ein klassisches Beispiel dieser Latenz an einem Kaninchen.

Begegnet also die Frage der Latenz von Bakterien in bereits verändertem Gewebe keinem Zweifel, so finden wir bezüglich der Möglichkeit einer Latenz von Mikroorganismen in „anscheinend“ unverändertem Gewebe starke Divergenz der Anschauungen. Lubarsch z. B. meint, „dafür, daß pathogene Mikroorganismen im Tierkörper sich erhalten können, ohne sich zu vermehren und ohne nachweisbare, krankhafte Veränderungen hervorzubringen, dafür besitzen wir allerdings einige Beispiele“, die Annahme aber, daß speziell der Tuberkelbacillus sich längere Zeit in nicht tuberkulösem Gewebe erhalten könne, hält er für gänzlich unbewiesen. Demgegenüber stehen positive Angaben von Loomis, Pizzini, Spengler. Auch Rabinowitsch schließt sich in allerjüngster Zeit jenen Autoren an, die die Latenz des Tuberkelbacillus in diesem letzteren Sinne durchaus für möglich erachten. Aber auch das Problem der Latenz anderweitiger Keime im Innern gesunder Menschen und Tiere beschäftigte eine Reihe von Autoren.

So konstatierte Dürck auf der inneren Lungenoberfläche gesunder, frisch geschlachteter Haustiere häufig pathogene Keime (Staphylokokken, Streptokokken, *Diplococcus pneumoniae*, *Bac. Friedländer*, *Bact. coli*, *Sarcina*-Arten). Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten

auch Béco und Boni. Vor allem waren es aber Manfredi und dessen Schüler Perez, Frisco, Viola, die speziell das Lymphdrüsensystem zum Gegenstand ihres Studiums machten, durch zahlreiche Versuche die Lehre vom latenten Mikrobismus aufs neue zu begründen trachteten und zu weitgehenden Schlußfolgerungen benutzten.

Unter Hinweis auf Beobachtungen Volland's, der in ungemein zahlreichen Fällen bei sonst gesunden Menschen klinisch Schwellungen der Halslymphdrüsen konstatieren konnte, gehen Manfredi und Frisco so weit zu behaupten, daß, wenn die tiefgelegenen Lymphdrüsen der Beobachtung ebenso leicht zugänglich wären wie die oberflächlichen, wahrscheinlich bei beinahe allen Menschen „normalerweise“ ein latenter tuberkulöser Parasitismus in den Lymphdrüsen zu konstatieren wäre. Perez' ausgedehnte Untersuchungen betrafen die Lymphdrüsen, eventuell auch Milz und Leber frisch getöteter Tiere, 3mal wurden Organe von plötzlich verstorbenen, früher ganz gesund gewesen Personen untersucht. Eine Entwicklung von Keimen ergaben die Lymphdrüsen, in 88 Fällen 78mal, einige Male auch Milz und Leber; die übrigen Organe waren steril. Die meisten Keime waren in den Lymphdrüsen der Unterhaut zu finden, dann kamen an Häufigkeit der positiven Ergebnisse die bronchialen, zuletzt die mesenterialen Drüsen; diese letzteren lieferten den größten Bruchteil der mit negativem Erfolg untersuchten Fälle (35 negative auf 78 positive). Unter den vorgefundenen Keimen werden erwähnt *Sarcina*  $\alpha$  (83mal), *Sarcina flava* (57mal), typhusähnliche Stäbchen (52mal), *Staphylococcus albus* (41mal), *Bac. mesentericus fuscus* und *ruber* (29mal), *Bact. Zopfi* (6mal) u. s. w., *Staphylococcus pyogenes aureus* (12mal). Perez schloß hieraus, daß sich wohl auch Strepto- und Diplokokken sowie Tuberkelbacillen in virulentem Zustande — wenn auch abgeschwächt — in den Lymphdrüsen latent aufhalten — nur im intrauterinen Leben seien die Lymphdrüsen frei von Keimen — eine Ansicht, für die aber experimentelle Beweise von ihm nicht erbracht werden. Kälble ferner untersuchte im Schlachthause in München in 20 Fällen die Bronchiallymphdrüsen frisch geschlachteter Schweine. Es gelang ihm, in 15 Fällen kulturell Bakterien nachzuweisen und zwar fand er 6mal den *Staphylococcus pyogenes albus*, 4mal den *Streptococcus pyogenes*, 4mal *Sarcina lutea*, 3mal *Bac. pneumoniae* Friedländer, 3mal *Bact. coli*, je 1mal *Bac. acidilactici*, *Micrococcus candidans*, *Diplococcus pneumoniae*; der Tierversuch — Verimpfung der Lymphdrüsen an Meerschweinchen — ergab bloß 3mal ein positives Resultat; die Versuchstiere erlagen in 11, respektive 14 Tagen krupösen Pneumonien, hervorgerufen durch *Bac. Friedländer* (2mal), *Streptococcus pyogenes* (1mal). Die aus den Lymphdrüsen der Schweine rein gezüchteten Friedländer-Bacillen und Diplokokken töteten weiße Mäuse in 24 Stunden, wobei sich die Erreger reichlich im Blute nachweisen ließen. Die Strepto- und Staphylokokken erzeugten in 3 Fällen subkutane Abscesse. Des weiteren wurden in 30 Fällen menschliche Bronchiallymphdrüsen zur Verimpfung an Meerschweinchen verwendet, die makroskopisch und mikroskopisch — ebenso wie die übrigen Organe — anscheinend normal waren. In 7 Fällen gingen die Impftiere an den unmittelbaren Folgen der Injektion zu Grunde, 5 Tiere starben in der 3. Woche, ihre Sektion ergab kein bemerkenswertes Resultat; die übrigen Tiere wurden nach 5 Wochen getötet. Unter diesen 18 Meerschweinchen zeigten 2 tuberkulöse Veränderungen.

Quensel erhielt in 94 Fällen (bronchiale Lymphdrüsen von Pferden, Kälbern, Schweinen und Schafen) 28mal positive Befunde. Ein einziges Mal konnte er *Streptococcus pyogenes* nachweisen, niemals *Diplococcus pneumoniae*, in den übrigen 27 Fällen fanden sich *Bac. subtilis*, *Aspergillus*, *Sarcina lutea*, *Micrococcus candidans*, *Streptothrix*-Arten u. a. Rogozinsky fand den Chylus von Hunden stets steril. Hingegen konstatierte er in den Mesenteriallymphdrüsen von 19 Tieren 17mal kulturell Bakterien aus der Coli-Gruppe. Um den direkten Beweis zu liefern, daß die gefundenen Bakterien aus dem Darms stammen, verfütterte er 500—800 ccm Bouillonkultur von saprophytischen Mikroorganismen und fand in 40 Fällen 15mal die gleichen Bakterien in den Lymphdrüsen des Mesenteriums wieder. Leber, Milz und Blut waren steril. Durch Verimpfung kleiner Organstückchen gesunder Tiere auf Gelatine, Bouillon oder Agarplatten erhielt Wrzosek positive Befunde aus Milz (in 28 Fällen 7mal), Leber, Lunge, Bronchialdrüsen (in 10 Fällen 5mal), Blut, Niere, Knochenmark, Galle und Harn. In 24 Fällen wurde durch intraperitoneale Verimpfung von Bouillonkultur auf Meerschweinchen die Virulenz der gefundenen Keime geprüft. Es starben 7 Impftiere nach 15—50 Stunden. Bei Verfütterung nicht virulenter Keime (*Bac. prodigiosus*, *fluorescens non liquefaciens*, *Bact. Kiliense* u. ä.) an Hunde und andere Warmblüter und Tötung derselben 1—30 Tage nach der Fütterung fand er in 47 Fällen 30mal die eingeführten Keime wieder in Mesenterial- und Bronchiallymphdrüsen, Lunge, Leber, Niere, Milz, Knochenmark. Zuweilen fand er allerdings andere Keime, als er verfütterte hatte. Wurde vor der Verfütterung der Ductus thoracicus nahe der Einmündungsstelle in die Vene unterbunden, so fand er, von den Mesenteriallymphdrüsen abgesehen, in 10 Fällen bloß 1mal die verfütterten Mikroben in den Lymphdrüsen der Brusthöhle wieder; in diesem Falle war das Tier bei der Verfütterung unruhig gewesen und es bestand die Möglichkeit, daß die Mikroben während des Herausnehmens der Sonde in die Lunge gelangt waren. Auf Grund seiner Experimente gelangt Wrzosek zur Annahme einer physiologischen Infektion des Organismus vom Darms aus, die die Erklärung liefere für die Fälle von traumatischen Abscessen in inneren Organen (Gehirn, Leber, Milz, Niere), traumatischer Knochenmarksentzündung und ähnlichem. Ohne neuerliches Hinzutreten von Infektionserregern seien die in den inneren Organen latent vegetierenden, eventuellen pathogenen Keime befähigt, krankheitserregend zu wirken.

In jüngster Zeit gelangte endlich Selter zu dem Ergebnisse, daß bei normalen Tieren Leber, Milz und Niere als keimfrei anzusehen seien, daß sich jedoch gelegentlich Keime in den Lungen, in den mesenterialen, cervikalen, axillaren Lymphdrüsen nachweisen lassen. Unter den aufgefundenen Keimen werden erwähnt *Bac. acidophilus*, *butyricus*, *Bact. coli commune*, *Staphylococcus albus*.

Soweit die Untersuchungen der genannten Autoren sich auf tierisches Material bezogen, sind ihre Resultate wohl nicht ohne weiteres auch auf menschliche Verhältnisse anwendbar. Schon die Verschiedenheit der Lebensbedingungen und der Ernährung mag hier ein differentes Verhalten bedingen; es finden sich ja auch in den verschiedenen Tierklassen verschiedene Keime. Aus diesem Gesichtspunkte könnte sich auch der Befund nicht pathogener Keime im Körperinnern von Tieren erklären, die, mit der Nahrung und Atemluft einverleibt, als harmlose Saprophyten gleich anderen, korpuskulären Elementen in den inneren

1\*

Organen und Drüsen deponiert werden. Die Experimente weiter, durch welche der Tierkörper mit großen Mengen von Kulturmaterial überschwemmt wird, schaffen Verhältnisse, die eine Analogisierung mit den gewöhnlichen Lebensbedingungen des Menschen nicht ohne weiteres zulassen. Die wenigen Untersuchungen hingegen, die an menschlichen Organen vorgenommen wurden, sind zum Teil unvollständig, indem das Augenmerk ausschließlich auf den Nachweis von Tuberkelbacillen gelenkt wurde, zum Teil nur mit Vorsicht verwendbar, da vielfach mikroskopische Befunde der untersuchten Lymphdrüsen sowie detaillierte Angaben über das Verhalten der zu den betreffenden Lymphdrüsen gehörigen Organe fehlen. Von den vorgefundenen zahlreichen Keimen abgesehen, die mit großer Wahrscheinlichkeit als Saprophyten zu bezeichnen sind und für die Pathologie keine größere Bedeutung haben, fehlen bei den als pathogen bekannten des öfteren Prüfungen ihrer Virulenz.

Diese Lücken speziell bezüglich des menschlichen Lymphdrüsen systems auszufüllen, sind die vorliegenden Untersuchungen bestimmt. Sie wurden vorgenommen an Leichen, die in den Hals- und Brustorganen sowie im Bereiche des Darmtrakts womöglich keinerlei frische, krankhafte Veränderungen erkennen ließen, an Lymphdrüsen, die sich bei mikroskopischer Untersuchung, soweit es sich derzeit beurteilen läßt, normal zeigten bis auf mehr oder minder hochgradige Anthrakose und Induration, die bei Menschen mittleren und höheren Alters wohl schon als physiologisch aufzufassen ist. Unter Ausschluß der zum Nachweis des Tuberkelbacillus notwendigen Versuchsbedingungen wurde durch sie die Gegenwart anderweitiger Mikroorganismen in den tieferen Gewebsschichten der Tonsillen, in Hals-, Bronchial- und Mesenteriallymphdrüsen zu ermitteln gesucht.

Der zu diesem Zwecke eingeschlagene Vorgang bei den Untersuchungen bestand darin, daß die möglichst bald nach dem Tode entnommenen Lymphdrüsen unter sorgfältiger Vermeidung einer Läsion ihrer Kapsel von dem umgebenden Fettgewebe befreit wurden. Hierauf wurden sie durch einige Minuten einer Desinfektion ihrer Oberfläche mit 1-prom. Sublimat, Alcohol absol. und Aether sulf. unterzogen, mit sterilisierten Instrumenten geteilt, ein Teil für die histologische Untersuchung bestimmt, der andere größere Teil in sterilen Reibschalen rasch mit Bouillon verrieben. Von der Aufschwemmung wurde jedesmal auf gewöhnliche Agar-, Zuckeragar-, Blutagarplatten, eventuell mit steriler Hydrokelenflüssigkeit versetzte Agarplatten verimpft; nach 48-stündigem Aufenthalt im Brutschrank wurde das Wachstum unterbrochen und die Platten sodann makroskopisch und bei Lupenvergrößerung durchmustert. Außerdem wurde in jedem Falle durch subkutane Injektion von 1 ccm der Bouillonaufschwemmung an weißen Mäusen die eventuelle Pathogenität der vorfindlichen Keime geprüft. Die Anfertigung von Ausstrichpräparaten des Lymphdrüsen saftes und Färbung nach Gram, die anfänglich jedesmal vorgenommen wurde, unterblieb später. Aus äußerlichen Gründen konnte sich die Untersuchung nicht in allen Fällen auf sämtliche erwähnte Lymphdrüsen gruppen erstrecken. Unter 36 Fällen der ganzen Untersuchungsreihe wurden untersucht in allen Fällen die Lymphdrüsen der unteren Wege des Respirationstrakts, in 17 Fällen die tiefen Hals-, in 15 Fällen die Mesenteriallymphdrüsen aus der Gegend der Flexura duodenojejunalis, in 14 Fällen die tieferen Gewebspartien der Tonsillen.

Es erwiesen sich hierbei die Cervikal- und Mesenterial-

lymphdrüsen immer frei von Keimen: die 3mal von den Mesenterial-, 1mal von den Cervikaldrüsen notierten Befunde von *Bact. coli commune*, bezw. von *Bac. pseudodiphtheriae* dürften auf postmortale Einwanderung, bezw. zufällige Verunreinigung durch die Luft zu beziehen sein. Die Tonsillen ergaben in 14 Fällen 11mal positive Befunde (darunter 4mal ausschließlich *Streptococcus pyogenes*, 1mal ausschließlich *Sarcina lutea*, 6mal beide Keime gleichzeitig). In den tracheobronchialen und bronchopulmonalen Lymphdrüsen fanden sich 8mal der *Streptococcus pyogenes* = 22 Proz., je 2mal der *Staphylococcus pyogenes aureus* und *Bac. pseudodiphtheriae*, je 5mal *Bact. coli* und *Sarcina*-Arten, 1mal *Bac. subtilis*, 1mal *Diplococcus pneumoniae*. (In dem letzteren Falle bestanden neben Residuen einer älteren Endocarditis rezente Thromben an der Mitralklappe, deren bakteriologische Untersuchung leider unterlassen wurde. Der aus den Lymphdrüsen reingezüchtete *Diplococcus pneumoniae* war für Mäuse pathogen und konnte aus dem Herzblute eines Versuchstieres wieder in Reinkultur gezüchtet werden.) Außer in Fall 2 und 4, wo die Reinzüchtung der Streptokokken aus dem Herzblute der infolge der Infektion nach 36, resp. 48 Stunden verendeten Tiere gelang, waren die vorgefundenen Keime avirulent oder zumindest in ihrer Virulenz abgeschwächt. Die Impftiere starben nämlich erst nach Wochen oder Monaten, die Obduktion lieferte keinen bemerkenswerten Befund.

Ueberblicken wir unsere Resultate, so wäre folgendes hervorzuheben: Unter den oben genannten Versuchsbedingungen gelang es in einem Teil der Fälle durch die bakteriologische Untersuchung in den tiefen Partien der Tonsillen, in den Hals-, Bronchial- und Mesenteriallymphdrüsen die Anwesenheit von Mikroorganismen nachzuweisen. Es fanden sich nämlich in der Kultur Kolonien des *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Diplococcus pneumoniae*, *Bact. coli commune*, also Keime, von denen wir wissen, daß sie unter gewissen Umständen sich für den Menschen pathogen verhalten. Außerdem fanden sich mehrmals Kolonien von *Sarcina lutea*, *Bac. pseudodiphtheriae*, 1mal von *Bac. subtilis*, Bakterien, über deren Pathogenität für den Menschen nichts bekannt ist. Bezüglich des *Bact. coli* ist allerdings daran zu erinnern, daß es postmortal, früher oder später, in die inneren Organe gelangen und sich daselbst vermehren kann. Auffallend und der Beachtung wert scheint das verhältnismäßig häufige Vorkommen des *Streptococcus pyogenes* mit Rücksicht auf die große Bedeutung, die diesem in der Humanpathologie zukommt. Es fand ja auch ~~Otten~~, der in 200 Sektionsfällen das Blut bakteriologisch untersuchte, 69mal den *Streptococcus pyogenes*. Hiernach erscheint die Möglichkeit nahegerückt, die erwähnten Tatsachen ähnlich, wie dies Wrzosek tat, bei der Deutung mancher Fälle von kryptogenetischer Streptokokkensepsis heranzuziehen. Dieselben lymphoiden Organe, die im Sinne der Ausführungen Wassermanns antibakterielle Substanzen in reichlicherem Ausmaße als alle anderen Organe enthalten, denen die Fähigkeit zukommt, Bakterientoxine zu binden und abzuschwächen und die darum bei der Immunisierung des Körpers eine hervorragende Stellung einzunehmen scheinen, sind vielleicht unter Umständen geeignet, zur Quelle der Infektion für den Menschen zu werden, der sie in seinem Innern beherbergt. In erster Linie erwiesen sich als Fundstätte von Keimen die

Tonsillen auch in ihren tieferen Anteilen. Ihre Bedeutung als Eintrittspforte für mannigfache Mikroorganismen ist uns bereits geläufig; in letzter Zeit führt Grober dieselbe in einem umfassenden Bericht klar vor Augen. An zweiter Stelle finden wir die Bronchiallymphdrüsen; an Häufigkeit des Keimgehaltes weit hinter ihnen stehen endlich die Hals- und Mesenteriallymphdrüsen. Dabei möchten wir nicht unerwähnt lassen, daß der einzige Befund von Kolonien des *Diplococcus pneumoniae* an bronchialen Drüsen gemacht wurde (bei gleichzeitiger Anwesenheit frischer Thromben an den durch ältere Endocarditis veränderten Herzklappen). Und auch was die Pathogenität der aufgefundenen Keime anlangt, ließ sich konstatieren, daß lediglich die Verimpfung von Material dreier Bronchialdrüsen in 3 Fällen den Tod des Impftieres zur Folge hatte; alle 3 Tiere verendeten innerhalb 48 Stunden und aus ihrem Herzblut ließ sich 1mal der *Diplococcus pneumoniae*, 2mal der *Streptococcus pyogenes* in Reinkultur gewinnen, welche Keime auch aus dem Impfmateriale in Kultur aufgegangen waren. Alle übrigen Impftiere gingen erst nach Wochen und Monaten ein, so daß hier zum mindesten eine Abschwächung, wenn nicht Avirulenz der mit dem Impfmateriale inokulierten Keime anzunehmen ist. Diese Befunde an den bronchialen Lymphdrüsen stehen im guten Einklange mit den Ergebnissen zahlreicher Autoren, die ein gleiches Verhalten für den Bacillus der Tuberkulose nachwiesen und sind vielleicht geeignet, ein gewisses Licht zu werfen auf die biologische Stellung dieser Lymphdrüsenengruppe, die im Sinne der Ausführungen Bartels „als ein wahrer Locus minoris resistentiae das Haften von Infektionen von jeder Eintrittspforte her begünstigen“. Die Frage freilich, auf welchem Wege und von welcher Stelle die vorgefundenen Keime eingedrungen sein mögen, läßt sich auf Grund der vorliegenden Befunde nicht beantworten. Die sich hieraus ergebenden Erörterungen überschreiten bereits die Grenzen dieser Untersuchungsreihe.

#### Versuchsprotokolle.

Es wurden untersucht:

I. Bloß die tracheobronchialen und bronchopulmonalen, bzw. Bifurkationslymphdrüsen in

Fall 1: 65-jähr. Mann. Verdickungen der Mitral- und Aortenklappen nach älterer Endocarditis mit rezenten Thromben auf der Mitralklappe. Exzentrische Hypertrophie des linken Herzventrikels. Stauungsinduration der Lungen, Leber, Milz und Nieren. Gastrointestinale Stauung.

Befund: Aus sämtlichen untersuchten Lymphdrüsen in Reinkultur *Diplococcus pneumoniae*.

Fall 2: 35-jähr. Frau. Diffuse katarrhalische Bronchitis mit Atelektasen in beiden Lungen und geringer brauner Induration. Exzentrische Hypertrophie des Herzens, besonders des rechten Ventrikels. Stauungsleber, -niere, -milz. Partielle bindegewebige Adhäsionen der linken Lunge. Kyphoskoliose.

Befund: Bloß aus einer (Bifurkations-)Lymphdrüse spärliche Kolonien von *Streptococcus pyogenes*; derselbe in Reinkultur aus dem Herzblut des Versuchstieres.

Fall 3: 30-jähr. Mann. Geringe Stenose des Mitralostiums nach älterer Endocarditis mit rezenter verruköser Endocarditis und Insuffizienz der Klappen. Rezente Epicarditis und exzentrische Hypertrophie des Herzens. Hydronephrotische Atrophie der rechten Niere mit totaler Verödung des Ureters. Kompensatorische Hypertrophie der linken Niere. Stauungsinduration der Organe. Gastrointestinale Stauung.

Befund: Aus einer Bronchiallymphdrüse *Streptococcus pyogenes*.

Anmerkung. Die ersten 6 Versuche wurden in Gemeinschaft mit Dr. Zöppritz ausgeführt.

Fall 4: 51-jähr. Mann. Carcinoma hepatis mit Einbruch in den Ductus hepaticus und Verschluss desselben. Hochgradiger Ikterus. Degeneration des Herzfleisches und der Nieren. Exstirpation der Gallenblase, Eröffnung und Drainage des Choledochus.

Befund: Aus einer (Bifurkations-)Lymphdrüse *Streptococcus pyogenes*; derselbe in Reinkultur aus dem Herzblut des Versuchstieres.

Fall 5: 22-jähr. Frau. Hochgradige Anämie nach Uterusruptur. Vielfache Absumptionen der Nieren nach Nephritis. Etat mamellonné des Magens.

Befund: Aus einer (Bifurkations-)Lymphdrüse *Sarcina lutea*. Sonst steril.

Fall 6: 53-jähr. Frau. Endarteriitis deformans der ganzen Aorta. Insuffizienz der Aortenklappen. Stenose der Abgangsstelle der Coronargefäße. Fettige Degeneration und Atrophie der inneren Herzmuskelschichten. Stauungsinduration der Organe. Stauungskatarrh des Magens. Frische fibrinös-hämorrhagische Pericarditis.

Befund: Aus einer tracheobronchialen Lymphdrüse *Streptococcus pyogenes*.

Fall 7: 16-jähr. Mädchen. Insuffizienz der Mitral-, Tricuspidal- und Aortenklappen mit Hypertrophie des ganzen Herzens. Schwere intestinale Stauung mit hämorrhagischem Katarrh. Cyanotische Induration der Parenchyme.

Befund: Aus einer tracheobronchialen Drüse *Streptococcus pyogenes*, aus 2 bronchialen *Bac. pseudodiphtheriae* (Typus Hoffmann-Wellenhof) und *Bac. subtilis*.

Fall 8: 70-jähr. Mann. Hochgradiges Fettherz bei Adipositas universalis. Cutisblutungen im Bereiche der unteren Extremitäten. Cirrhosis hepatis granularis. Chronischer Milztumor. Geringe Stauungsinduration der Organe.

Befund: steril.

Fall 9: 23-jähr. Frau. Fettige Degeneration der Leber und Nieren sowie des Herzfleisches (Eklampsie). Allgemeine Anämie. Dilatation der Nierenbecken und der Ureteren. Hyperplasie der Darmfollikel. Uterus post partum.

Befund: *Bact. coli commune*.

Fall 10: 32-jähr. Frau. Eklampsie. Hämorrhagieen der Leber. Subchronische parenchymatöse Nephritis. Hypertrophie des linken Herzens. Uterus post partum.

Befund: steril.

Fall 11: 16-jähr. Mädchen. Lysolvergiftung (Verätzung der Schleimhaut des Rachens, der Speiseröhre, des Magens und des Duodenum). Trübe Schwellung der Leber und Nieren. Insuffizienz und geringgradige Stenose der Mitralklappe. Partielle Anwachsungen der Lungen. Narbige Einziehung des linken Oberlappens.

Befund: steril.

Fall 12: 36-jähr. Mann. Oedem der inneren Hirnhäute und geringer Hydrocephalus int. chron. Ekchymosen im linken Herzventrikel und Perikard. Parenchymatöse Degeneration des Herzmuskels und der Leber. Trübe Schwellung der Nieren. Status thymico-lymphaticus.

Befund: steril.

Fall 13: 14-jähr. Mädchen. Lysolvergiftung. Lockere bindegewebige Anwachsungen des rechten Lungenoberlappens, vereinzelt Tuberkel in den Bronchiallymphdrüsen.

Befund: steril.

Fall 14: 28-jähr. Frau. Frische Blutung in den rechten Thalamus opticus. Hepatitis haemorrh. Parenchymatöse Degeneration der Nieren. Gastritis chronica. Uterus post partum.

Befund: steril.

Fall 15: 67-jähr. Mann. Hochgradiges Atherom der basalen Hirnarterien. Fettige Degeneration des Myocard. Atherom der Aorta. Emphysema pulmonum. Bindegewebige Adhäsionen beider Lungen. Chronischer Magen- und Darmkatarrh. Erysipel des rechten Armes.

Befund: steril.

Fall 16: 45-jähr. Frau. Verdickung der freien Ränder der Mitralklappe und mäßige Verkürzung der Sehnenfäden. Atherom der Coronararterien und Hypertrophie beider Ventrikel. Zirkumskripte adhäsive Pericarditis. Pleurale Verwachsungen der rechten Lunge. Stauungsorgane.

Befund: steril.

Fall 17: 56-jähr. Frau. Atrophie des Pankreas. Acetonämie (Diabetes mellitus). Parenchymatöse Degeneration der Leber und fettige Degeneration der Nieren. Hämorrhagieen im Dünndarm. Partielle Anwachsungen beider Lungen. Chronischer Dickdarmkatarrh.

Befund: Aus einer Bifurkationsdrüse *Streptococcus pyogenes*.

II. Außer den genannten wurden jeweils die mesenterialen, cervikalen Lymphdrüsen, sowie die tieferen Gewebsschichten der Tonsillen untersucht in

Fall 18: 46-jähr. Frau. Insufficienz der Valvula mitralis, tricuspidalis und der Aortenklappen, Stenose des Ostium venosum sinistrum, dextrum und der Aorta, exzentrische Hypertrophie des rechten Ventrikels und des linken Vorhofs. Braune Induration der Lungen. Atrophische Muskatnußleber. Chronischer Stauungstumor der Milz. Stauungskatarrh des Magens.

Befund: Cervikale, tracheobronchiale, bronchopulmonale Lymphdrüsen steril, Tonsillen *Sarcina lutea*, *Streptococcus pyogenes*.

Fall 19: 18-jähr. Mädchen. Resektion des linken Oberkiefers. Blutaspilation in beide Lungen. Allgemeine Anämie. Einzelne Bronchialdrüsen links verkalkt.

Befund: Derselbe wie in Fall 18.

Fall 20: 44-jähr. Mann. Emphysem beider Lungen. Exzentrische Hypertrophie des rechten Herzens. Hochgradige allgemeine Stauung. Lungenödem. Bohnengroßer schwieliger Herd im linken Oberlappen. Lockere Pleuraadhäsionen beider Lungen.

Befund: Cervikale, tracheobronchiale, bronchopulmonale, mesenteriale Lymphdrüsen, Tonsillen steril.

Fall 21: 33-jähr. Mann. Endarteriitis luetica der basalen Hirnarterien. Thrombose des Stammes beider Artt. fossae Sylvii. Ausgedehnte weiße Erweichung der Stirn- und Schläfenlappen beiderseits. Oedem beider Lungen. Anwachsung der rechten Lunge. Chronischer Magenkatarrh.

Befund: Cervicale, tracheobronchiale, mesenteriale Lymphdrüsen steril, aus einer bronchopulmonalen *Bact. coli commune*, aus den Tonsillen *Sarcina lutea*.

Fall 22: 16-jähr. Frau. Eklampsie. Blutung und Degeneration der Leber. Trübe Schwellung der Nieren. Uterus post partum.

Befund: Tracheobronchiale, bronchopulmonale Lymphdrüsen steril; Tonsillen *Streptococcus pyogenes* und *Sarcina lutea*.

Fall 23: 59-jähr. Mann. Atherom der Aorta und der peripheren Gefäße. Arteriosklerotische Atrophie der Nieren. Chronisches Lungenemphysem und Adhäsionen der rechten Lunge. Chronischer Magen- und Darmkatarrh. Carcinom der linken Schläfe (*Ulcus rodens*).

Befund: Tracheobronchiale, bronchopulmonale Lymphdrüsen steril; cervikale Lymphdrüsen *Bac. pseudodiphtheriae* (Hoffmann-Wellenhof); Bifurkationsdrüse *Streptococcus pyogenes* und *Bact. coli commune*; mesenteriale Lymphdrüse *Bact. coli commune*.

Fall 24: 23-jähr. Frau. Chronische parenchymatöse Nephritis im Stadium der Atrophie. Hypertrophie und fettige Degeneration des linken Herzventrikels. Chronische Tuberkulose der mediastinalen und bronchialen Lymphdrüsen (in den übrigen Organen keine tuberkulösen Veränderungen).

Befund: Cervicale, tracheobronchiale Lymphdrüsen steril, aus einer bronchopulmonalen Drüse *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Fall 25: 25-jähr. Frau. Schwangerschaftsnephritis mit linksseitiger Herzhypertrophie. Kyphoskoliose und Dilatation des rechten Herzens.

Befund: Cervikale, tracheobronchiale, mesenteriale Lymphdrüsen steril; Bifurkationsdrüse *Streptococcus pyogenes aureus*, bronchopulmonale Drüsen *Sarcina lutea*, Tonsillen *Streptococcus pyogenes*.

Fall 26: 26-jähr. Frau. Hyperämie des Gehirns. Strangförmige Anwachsung der Lungenspitzen, ein verkalkter Herd in den Bronchiallymphdrüsen. Status thymico-lymphaticus.

Befund: Cervicaldrüsenplatte verunreinigt, tracheobronchiale, bronchopulmonale, mesenteriale Lymphdrüsen steril, Tonsillen *Streptococcus pyogenes* und *Sarcina lutea*.

Fall 27: 38-jähr. Frau. Poliomyelitis cervicalis chron. Atrophie der Muskeln des weichen Gaumens, Schultergürtels und beider Hände. Chronische Tuberkulose der cervikalen und einzelner retroperitonealer Lymphdrüsen. Pneumonie des rechten Unterlappens in Lösung.

Befund: Cervikale, tracheobronchiale, bronchopulmonale, mesenteriale Lymphdrüsen steril, Tonsillen *Streptococcus pyogenes*.

Fall 28: 62-jähr. Frau. Chronische Endarteriitis der Aorta abdominalis und mehrerer peripherer Gefäße. Hypertrophie des linken Ventrikels. Frische Hirnblutungen. Chronisches Lungenemphysem und Hypertrophie des rechten Ventrikels.

Befund: Cervikale, tracheobronchiale, bronchopulmonale, mesenteriale Drüsen steril.

Fall 29: 54-jähr. Mann. Ulcerierendes Carcinom des Magens. Allgemeine Anämie. Chronisches Lungenemphysem, exzentrische Hypertrophie des rechten Herzventrikels.

Befund: Cervikale, tracheobronchiale, bronchopulmonale, mesenteriale Drüsen steril,



Bifurkationsdrüse *Streptococcus pyogenes*, Tonsillen *Streptococcus pyogenes* und *Sarcina lutea*.

Fall 30: 40-jähr. Frau. Allgemeine Adipositas. Partielle Anwachsungen beider Lungen. Multiple Myofibrome des Uterus. Status lymphaticus.

Befund: Cervikale, tracheobronchiale, bronchopulmonale, mesenteriale Drüsen steril.

Fall 31: 36-jähr. Mann. Blutung im rechten Linsenkern. Chronische interstitielle Nephritis beiderseits. Hypertrophie und mäßige Dilatation des linken Herzventrikels. Status thymicolymphaticus.

Befund: wie im Fall 29.

Fall 32: 37-jähr. Frau. Hochgradige allgemeine Anämie nach Partus mit vorzeitiger Placentalösung. Spärliche lockere Adhäsionen des linken Lungenoberlappens. Chronischer Magenkatarrh.

Befund: Cervikale, tracheobronchiale, bronchopulmonale, mesenteriale Drüsen, Tonsillen steril.

Fall 33: 28-jähr. Frau. Chronische parenchymatöse Nephritis beiderseits im Stadium der Atrophie. Insufficienz der Mitralis- und der Aortenklappen. Exzentrische Hypertrophie des linken Herzventrikels. Chronischer Stauungstumor der Milz. Partielle Anwachsungen beider Lungen.

Befund: Cervikale, tracheobronchiale, bronchopulmonale Drüsen steril, mesenteriale Drüse *Bact. coli commune*, Tonsillen *Streptococcus pyogenes*.

Fall 34: 34-jähr. Frau. Hochgradige Anämie nach Partus (*Placenta praevia totalis*). Fettige Degeneration des Herzens und der Nieren. Spärliche Adhäsionen.

Befund: wie im Fall 33.

Fall 35: 56-jähr. Frau. Chronische interstitielle Nephritis und Hypertrophie des linken Herzventrikels. Alte Anwachsungen der rechten Lunge.

Befund: Tonsillen, cervikale, tracheobronchiale, bronchopulmonale Drüsen steril.

Fall 36: 30-jähr. Frau. Hochgradige Anämie nach Blutungen aus *Placenta praevia*. Frische Blutungen ins Endokard des linken Ventrikels.

Befund: Tracheobronchiale, bronchopulmonale, mesenteriale, Bifurkationslymphdrüsen steril.

#### Literatur.

- Bartel, J., Zur Tuberkulosefrage. (Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 16.)  
 Baumgarten, P., Ueber rezidivierende Tuberkulose nach Behandlung mittels Tuberkulin. (Arb. a. d. pathol.-anat. Inst. Tübingen. Bd. II. 1893.)  
 Béco, Recherches sur la flore bactérienne du poumon de l'homme et des animaux. (Arch. de méd. exp. et d'Anatomie pathologique. 1899. No. 3.)  
 Boni, J., Untersuchungen über den Keimgehalt der normalen Lungen. (Arch. f. klin. Med. Bd. LXIX. 1901.)  
 Dürck, H., Studien über die Aetiologie und Histologie der Pneumonie im Kindesalter und der Pneumonie im allgemeinen. (Arch. f. klin. Med. Bd. LVIII. 1897.)  
 — —, Neuere Untersuchungen über den Keimgehalt der gesunden unteren Luftwege und über die Pathogenese der Pneumonie. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 26.)  
 Grober, J., Die Tonsillen als Eintrittspforten für Krankheitserreger. (Klin. Jahrb. Bd. XIV. 1905.)  
 Hauser, G., Ueber das Vorkommen von Mikroorganismen im lebenden Gewebe gesunder Tiere. (Arch. f. exper. Pathol. Bd. XX. 1886.)  
 Kälble, J., Untersuchungen über den Keimgehalt normaler Bronchiallymphdrüsen. (Münch. med. Wochenschr. 1899. No. 19.)  
 Klippstein, E., Experimentelle Beiträge zur Frage der Beziehungen zwischen Bakterien und Erkrankungen der Atmungsorgane. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXIV. 1898.)  
 Klimacko, Beitrag zur Frage über die Durchgängigkeit der Darmwand für Mikroorganismen bei physiologischen Verhältnissen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVIII.)  
 Loomis, Researches of the Loomis Laboratory. Vol. I. 1890.  
 Lubarsch, O., Ueber den Infektionsmodus bei der Tuberkulose. (Fortschritte d. Med. Bd. XXII. 1904.)  
 Manfredi, L., Ueber die Bedeutung des Lymphgangliensystems für die moderne Lehre von der Infektion und Immunität. (Virchows Arch. Bd. CLV. 1894.)  
 Manfredi e Viola, Influenza dei gangli linfatici nella produzione dell'immunità. (Annali d'igiene sperim. Vol. IV. 1899. Fasc. 8.)  
 — —, Der Einfluß der Lymphdrüsen bei der Erzeugung der Immunität gegen ansteckende Krankheiten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. 1899.)  
 Manfredi e Frisco, I gangli linfatici nella difesa dell'organismo contro la tubercolosi. Roma 1902.

- Müller, Friedr., Der Keimgehalt der Luftwege bei gesunden Tieren. (Münch. med. Wochenschr. 1897. No. 49.)
- Müller, Wilh., Experimentelle und klinische Studien über die Pneumonie. (Arch. f. klin. Med. Bd. LXXI. 1901.)
- Otten, Blutuntersuchungen an der Leiche. (Virchows Arch. Bd. CLXXXIV. 1906.)
- Perez, G., Parassitismo microbico latente nei gangli linfatici normali. (Annali d'igiene sperim. Vol. VII. 1897; Lavori dell'Istituto d'igiene di Palermo. Vol. III. 1898.)
- —, Del modo di comportarsi del sistema ganglionare linfatico rispetto ai microorganismi. (Annali d'igiene sperim. Vol. VII u. VIII. 1897 u. 1898; ref. in Baumgarten, Jahresberichte. 1897. p. 894. 1898. p. 830.)
- Pizzini, L., Tuberkelbacillen in den Lymphdrüsen Nichttuberkulöser. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXI. 1892.)
- Pusateri, Sui rapporti tra le infezioni criptogenetiche di differente natura e il microbismo latente nei gangli linfatici. (Annali d'igiene sperim. Vol. X. 1900.)
- Quensel, U., Untersuchungen über das Vorkommen von Bakterien in den Lungen und Bronchiallymphdrüsen gesunder Tiere. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.)
- Rogozinsky, Ueber die physiologische Resorption von Bakterien aus dem Darm. (Bull. de l'académie des sciences de Cracovie. 1902.)
- Selter, H., Bakterien im gesunden Körpergewebe und deren Eintrittspforten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIV. 1906.)
- Spengler, C., Zur Bronchialdrüsentuberkulose der Kinder. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. 1893.)
- Stern, R., Ueber traumatische Entstehung innerer Krankheiten. Jena 1900.
- Wassermann, Mitteilungen über Seitenkettenimmunität. (Berl. klin. Wochenschr. 1898.)
- Wrzosek, A., Experimentelle Beiträge zur Lehre vom latenten Mikrobismus. (Virchows Arch. Bd. CLXXVIII. 1904.)

*Nachdruck verboten.*

## Contributions à l'étude du gonocoque.

Par le Dr. med. **Th. Vannod** à Berne.

Mit 17 Kurven und 8 Figuren.

Depuis la découverte de Neisser en 1879, les travaux sur le gonocoque se sont succédés dans les différents journaux médicaux, et pourtant à l'heure actuelle, la question du gonocoque est toujours à l'ordre du jour. C'est une question vaste, complexe et qui est loin d'être résolue.

Nous communiquons les résultats des travaux que nous avons exécutés sur ce sujet à l'Institut pour la recherche des maladies infectieuses, à Berne.

Nous avons étudié tout d'abord les milieux nutritifs des gonocoques, puis la croissance du microorganisme sur des milieux ordinaires, nous avons procédé, par différentes voies, à des essais d'immunisation d'animaux, enfin nous parlerons du sérum que nous avons obtenu et de sa valeur spécifique.

### I. Les milieux nutritifs à gonocoques.

C'est Legrain (1), le premier, qui essaie de cultiver le gonocoque sur des milieux liquides et solides. Puis, Bokai (2), Finkelstein (3), Krause (4) et Leistikow (5), Bockhardt (6) (1880—1883) arrivent avec leurs communications, plus ou moins sujettes à caution, indiquant leurs procédés pour préparer leurs milieux à gonocoques (mélanges d'eau, de phosphate de potasse, sulfate de magnésie, phosphate de chaux et ammonium, sérum de sang d'agneau; gélatine peptonifiée). Mais, c'est en 1885 et 1887 que Bumm (7) réussit enfin à cultiver et isoler d'une

façon exacte le coque de Neisser sur un mélange de sérum de bœuf et d'agneau d'abord, puis sur du sérum humain. Peu après, Bockhardt répétait et confirmait les expériences de Bumm.

Depuis lors, les bactériologues se lancent sur la piste du gonocoque et de 1890 jusqu'à nos jours, nous voyons éclore toute une série de communications de savants préconisant tel ou tel milieu de culture; si nous classons ces différents travaux, nous trouvons d'abord:

1) Les auteurs se servant d'un milieu composé d'agar et de sérum de sang humain. Citons Bumm en 1885 qui préconise un mélange de sérum de bœuf ou d'agneau avec du sérum de sang humain; puis surtout Wertheim (8) en 1891, qui prépare le premier un milieu composé de sérum de sang humain et d'agar, puis Menge et Krönig (9), Jadassohn (10), Finger, Ghon et Schlagenhauser (11) etc.; d'autres n'utilisent que le sérum de sang humain, sans agar, tels Gebhard (12), Krönig (13), Steinschneider (14) et Schäffer (15) etc.

2) Une autre catégorie de bactériologues préfèrent le sérum de sang d'animaux, sérum de sang de bœufs, de chiens, de lapins, cobayes [Wertheim (16), Finger, Ghon (17), etc.], ou de sang d'agneaux et de chiens [Steinschneider (18) et Schäffer (19)], ou le sérum de sang de porc [Wassermann (20), Scholtz (21), Thalmann (22) etc.].

3) Les liquides séreux provenant de transsudats ou d'exsudats (liquides d'hydrocèle, ascite, pleurétique) sont préconisés déjà en 1893 par Steinschneider (23) qui prépare ses milieux avec de l'agar et du liquide d'hydrocèle, de même plus tard Chadwick (24), Heimann (25), tandis que d'autres, comme Menge (26), Krönig et Hammer (27), Csillag et Rona (28), Ghon (29) etc. préfèrent les liquides kystiques.

En 1895, Kiefer (30) recommande le liquide d'ascite, mélangé à l'agar et ses expériences sont confirmées par toute une série de bactériologues [Schultz (31), Schäffer (32), Galli Valerio (33), Scholtz (34), de Christmas (35) etc.].

En 1897, Nicolaysen (36), puis Busch (37) et Scholtz (38) recommandent le liquide pleurétique mélangé à l'agar.

4) En 1891, Wertheim (39) introduisit la méthode de cultures sur boîtes de Pétri. Finger, Ghon et Schlagenhauser (40) recommandent, comme milieux nutritifs, l'agar mélangé à de l'urine humaine.

Hammer (41) (1895) préfère un mélange d'agar avec une urine fortement albumineuse, alors que Hagner (42) mélange l'urine avec du sérum de sang de bœuf et van Hest (43) avec de la gélatine.

Thalmann (44) (1900) préconise le bouillon fait avec du cerveau de cheval.

5) La viande humaine serait d'après certains auteurs, un excellent milieu pour les gonocoques! Ainsi, Csillag (45) se sert de viande provenant de cadavres frais, mélangée avec de l'agar et de la glycérine, tandis que Patellani Rosa (46) prépare ses milieux avec de la chair de fœtus ou d'enfants morts-nés.

6) Enfin, nous trouvons certains auteurs qui ajoutent à l'agar des produits artificiels: ainsi Fischer (47) (1895) prépare ses milieux en mélangeant de l'hématogène Hommel à l'agar, Wildbolz (48) (1902) qui préconise un milieu d'agar et de pseudomucine, provenant

de liquides kystiques ovariens. Lipschütz (49) (1904) indique comme milieu de culture de l'agar mélangé avec une solution à 2 % alcaline d'albumine d'œufs desséchée et pulvérisée (provenant de la fabrique Merck de Darmstadt).

Tous ces auteurs sont d'accord pour reconnaître que le gonocoque demande, pour sa croissance, un milieu nutritif renfermant de l'albumine naturelle (Nativ. Eiweiß). On admet en général, que le microorganisme ne croît pas ou d'une façon très limitée sur les milieux ordinaires: les essais qui ont été faits sur des pommes de terre ou de la gélatine ont toujours été négatifs.

Les différents terrains de culture cités ci-dessus ont été expérimentés avec plus ou moins de succès, mais de toute cette longue énumération, il n'en reste au fond que 3 qui sont employés journellement dans les laboratoires et qui offrent toutes les conditions nécessaires pour un bon milieu à gonocoques, ce sont:

- 1) le milieu de Kiefer-Wertheim (50) (liquide d'ascite et agar),
- 2) le milieu de Wassermann (51) (sérum de sang de porc et agar),
- 3) le milieu de Lipschütz (52) (solution d'albumine d'œuf et agar).

Quant à la réaction des milieux, les opinions des auteurs varient sensiblement entr'elles.

Alors que Finger, Ghon et Schlagenhauer (53) préconisent des milieux franchement acides, examinés avec le papier tourne-sol, Thalmann (54), au contraire, déclare que la croissance du gonocoque est empêchée sur un milieu à réaction acide ou neutre au papier tourne-sol, tandisqu'elle arrive à son optimum avec une réaction franchement alcaline au papier tourne-sol et acide à la phénolphtaléine et diminue de nouveau quand la réaction à la phénolphtaléine devient neutre. Wildbolz (56) lui, n'ajoute pas une grande importance à la réaction de ses terrains de culture, tandisque Lipschütz insiste sur la qualité réactive de ses milieux qu'il veut franchement alcalins, au papier tourne-sol. Un grand nombre d'auteurs, enfin, ne parlent pas même, dans leurs publications, de la réaction des terrains de culture qu'ils préconisent. Nous ajoutons une grande valeur à la réaction de nos milieux et nous nous sommes toujours bien trouvé en les alcalinisant faiblement et en employant le papier tourne-sol comme réactif.

Dans nos expériences nous nous sommes servi exclusivement des milieux de Wassermann, d'ascite-agar et de Lipschütz.

Le milieu de Wassermann est un excellent milieu de culture, nous tenons à le déclarer, mais n'est pas très facile à préparer.

Dans le „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen“ (p. 164), de Kolle et Wassermann, Scholtz écrit: „le milieu est utile et peut être employé dans certains cas, mais pour la sûreté et la précision de la croissance du gonocoque, il ne peut concourir avec le sérum-agar de Wertheim“.

Les données de Wassermann sont les suivantes: dans un ballon Erlenmeyer, on verse 15 c. c. de sérum de porc qu'on dilue avec 30—35 c. c. d'eau, on ajoute 2—3 c. c. de glycérine et enfin 0,8 g (2 %) de nutrose (caseïn natriumphosphat). Il est prouvé, par les expériences, que les gonocoques ont besoin pour leur croissance d'un mélange de phosphates neutres et bibasiques. En adjoignant la nutrose, on ajoute simplement des sels de phosphates acides et neutres.

On agite fortement le tout et chauffe sur la flamme jusqu'à la cuis-

son; le liquide devient clair et peut être stérilisé en le maintenant assez longtemps sur la flamme.

Pour être sûr de bien stériliser, un chauffage de 20—30 minutes est nécessaire, que l'on répartit le mieux en 2 jours. Ensuite on mélange, à parties égales, de l'agar à 2 % avec peptone et le sérum stérilisé et on verse le milieu ainsi terminé dans des boîtes de Pétri. Pour empêcher le dépôt d'albumine, on doit d'abord chauffer jusqu'à l'ébullition la dilution de sérum sur la flamme, en l'agitant, ensuite on peut la stériliser dans un courant de vapeur.

Pour effectuer le mélange du sérum et de l'agar, il faut que les deux substances soient à une température de 50—60°.

En procédant exactement comme Wassermann l'enseigne, nous n'avons jamais pu obtenir un milieu favorable. Chaque fois que l'on avait chauffé à la flamme ou sur une plaque d'asbeste le mélange de sérum, d'eau et de nutrose, on obtenait régulièrement une coagulation du liquide.

Nous ne savons pas si les porcs de race suisse ont un sérum contenant plus d'albumine que ceux de race germanique, mais le fait est certain, notre sérum de porc coagulait d'une façon régulière et désespérante!

Nous avons modifié le procédé de Wassermann de la façon suivante:

Après que le sang ait été recueilli aux abattoirs et le sérum syphoné 24 heures après, on le filtre au vide à travers une bougie Berkefeld pour le débarrasser de l'excès des corpuscules rouges. Avec le sérum filtré, nous avons fait notre mélange et, au lieu d'employer une dilution de 30—35 c. c. d'eau et 15 c. c. de sérum, nous avons pris la dose indiquée de sérum et 40, 45 et 50 c. c. d'eau distillée; à ce mélange que l'on a bien remué auparavant, on ajoute 3 c. c. de glycérine et 1 c. c. de nutrose. Le tout est chauffé sur la flamme en l'agitant jusqu'à l'ébullition, puis est stérilisé 3 fois de suite à la vapeur à 102°.

Nous avons même échoué, c'est à dire que notre mélange s'est souvent coagulé avec une dilution de 15 c. c. de sérum et 50 c. c. d'eau, quoique la technique fût toujours la même.

Il faut bien, dans ce cas, incriminer la qualité du sérum par trop riche en albumine.

Une fois le mélange obtenu et réussi, nous avons obtenu de très belles cultures gonococciques, dont la croissance était tout aussi typique et tout aussi rapide qu'avec le mélange d'ascite et d'agar.

Nous avons inoculé en même temps sur milieu Wassermann et sur ascite-agar le 24 novembre 1900 du gonocoque provenant d'un malade atteint d'une gonorrhée aiguë. Nous avons réinoculé nos cultures tous les jours, tous les 2, 4, 6, 8 parfois tous les 10 jours, ainsi très irrégulièrement, jusqu'au 15 février 1903 et avons obtenu ainsi 255 générations de la même souche (Stamm) alors que sur terrain de Kiefer, nous n'avons plus eu de croissance à partir de la 110<sup>e</sup> génération, soit à partir du 27 juillet 1901. Nos cultures, sur milieu Wassermann, ont toujours été très rapides; après 24 heures, la croissance était parfaite. Nous avons été aussi très surpris de la résistance, de la vitalité des cultures sur sérum de porc: une culture (190<sup>e</sup> génération) du 17 juin 1902 a été gardée à l'étuve jusqu'au 9 juillet suivant, soit pendant 22 jours et donnait de nouveau une très belle croissance en la

réinoculant. Bien plus, une culture à la 14<sup>e</sup> génération, du 19 décembre 1900 pouvait être réinoculée avec succès et montrait une croissance parfaite, le 4 février 1901, soit après 49 jours!

Le caractère des colonies gonococciques était toujours classique: petites colonies, rondes, d'un gris transparent. Nous n'avons jamais observé, comme Wildbolz sur son milieu à pseudomucine, des colonies gris-jaunâtres opalescentes. Nos cultures ont toujours été contrôlées par la décoloration au Gram et par des réinoculations sur des milieux ordinaires (pommes de terre, gélatine), qui ont toujours été négatives.

Ainsi, nous le répétons, le milieu Wassermann, grâce aux modifications que nous avons apportées à sa préparation, nous a donné d'excellents résultats.

Le milieu de Lipschütz repose sur la combinaison de deux facteurs: l'adjonction à l'agar d'un liquide riche en albumine et la détermination exacte de la réaction du milieu. Lipschütz se sert d'une préparation riche en albumine, provenant d'œufs de poule et qui porte dans le commerce le nom de: Albumine d'œufs pulvérisée et qui est fournie par la maison Merck de Darmstadt („Albumin aus Eiern pulv. subt.). Cette préparation, sous forme d'extrait sec, est très riche en albumine, est soluble dans l'eau et ne se coagule pas par la stérilisation.

Son procédé est le suivant:

Dans un ballon de verre, on prépare une solution à 2 % d'albumine d'œuf avec de l'eau ordinaire, on ajoute 20 c. c. d'une solution normale de soude caustique au  $\frac{1}{10}$ <sup>e</sup> pour 100 c. c. de la solution; pendant une demi-heure on remue fortement le mélange pour obtenir la dilution de la poudre d'albumine, puis on filtre à travers un filtre à plis. On répartit ensuite le liquide dans des ballons Erlenmeyer, à raison de 30—50 c. c. par ballon, et on stérilise, par la stérilisation fractionnée discontinue, c. à d. en chauffant 2 à 3 fois le même jour sur une plaque d'asbeste ou bien à 2 reprises, deux jours de suite, jusqu'à l'ébullition. Le liquide obtenu est jaune-clair, transparent et a une réaction franchement alcaline au papier tourne-sol. Ce liquide est mélangé enfin avec de l'agar à 1½ % liquéfié et mélangé dans la proportion de 1 partie de solution d'albumine d'œuf pour 2 ou 3 parties d'agar. Ce milieu présente de grands avantages: il est très facile à préparer, on peut obtenir en tout temps la poudre d'albumine, il est clair et transparent et permet parfaitement l'examen microscopique des colonies de gonocoques. Ce milieu est à recommander, par exemple, pour des laboratoires qui ne sont pas à proximité d'un hôpital ou d'une clinique et où l'on ne peut se procurer facilement le liquide d'ascite.

La croissance du gonocoque sur le milieu de Lipschütz est excellente; nous l'avons expérimenté et nous nous en sommes toujours très bien trouvé.

Mais le milieu classique du gonocoque, celui qui est le plus sûr et qui s'emploie un peu partout est et restera le mélange d'agar et de liquide d'ascite (Kiefer, Wertheim); l'usage s'en est généralisé et c'est celui que nous employons journellement. Cependant, ce n'est pas celui qui est le plus facile à préparer et il n'est pas toujours possible de se procurer du liquide d'ascite. Nous sommes pourtant à Berne à proximité d'un grand hôpital, nous avons dû parfois attendre 6 semaines, même 2 mois avant de pouvoir obtenir le liquide d'ascite désiré. Celui-ci doit être recueilli naturellement selon les règles strictes de l'asepsie, car il s'infecte très rapidement. On peut le conserver facile-

ment et assez longtemps dans des flacons qu'on a pris soin de boucher, au début, hermétiquement et nous conseillons de verser de suite sur les bouchons un peu de paraffine. Une difficulté, dans la préparation du milieu, est le mélange de l'agar avec le liquide d'ascite. L'agar, une fois liquéfié et stérilisé, doit être refroidi jusqu'à une certaine température pour que le liquide d'ascite, qui a été chauffé préalablement jusqu'à 50°, ne se trouble pas par précipitation de l'albumine. Avec les données de Kiefer, c'est à dire avec un agar à 2,5 %, il est assez malaisé de faire le mélange, car pour peu qu'on refroidisse suffisamment l'agar, celui-ci se durcit de suite. Nous employons de préférence un agar à 2 ou 2,2 % au maximum, très légèrement alcalinisé avec du carbonate de soude et examiné avec le papier tourne-sol. Le mélange obtenu est en général très clair et est réparti dans des éprouvettes stériles ou dans des boîtes de Pétri.

Auparavant, nous neutralisons aussi nos liquides d'ascite. Ceux-ci sont très variables comme degré d'alcalinité. Ainsi: un 1<sup>er</sup> liquide d'ascite nécessitait 22 g. de solution d'acide muriatique normal au  $\frac{1}{10}$ <sup>e</sup> pour 100 g. d'ascite,

un 2°	16 g. de solut. d'ac. muriatique norm. au $\frac{1}{10}$ <sup>e</sup> pour 100 g. d'ascite
un 3°	2,5 " " " " " " " " " " 100 " "
un 4°	15,0 " " " " " " " " " " 100 " "
un 5°	26,0 " " " " " " " " " " 100 " "
un 6°	32,8 " " " " " " " " " " 100 " "
un 7°	18,0 " " " " " " " " " " 100 " "
un 8°	24,0 " " " " " " " " " " 100 " "
un 9°	20,0 " " " " " " " " " " 100 " "

Maintenant, nous ne neutralisons plus du tout nos liquides d'ascite; nous prenons, par contre, la précaution d'alcaliniser très faiblement notre agar et nous nous en trouvons parfaitement bien. Nos milieux nous ont toujours donné d'excellents terrains pour le gonocoque.

## II. Croissance du gonocoque sur agar ordinaire.

Nous avons publié en 1905 dans le „Centralbl. f. Bakteriologie“ (56) (Bd. XL. Heft 1) le résultat de nos expériences sur „l'agar ordinaire comme milieu de culture du gonocoque“; nous en donnerons ici un simple résumé. Il était de règle jusqu'ici d'affirmer que le gonocoque ne se développait pas sur de l'agar simple, et Neisser déclarait à la Société des dermatologues allemands en 1899 en parlant des cultures gonococques sur agar ordinaire: „Alles was wächst, sind sicher keine Gonokokken“. On en faisait aussi un des points importants dans le diagnostic différentiel avec le Meningococcus intracellularis qui, lui, se développe parfaitement sur l'agar glycérolé. Il faut maintenant en rabattre. Déjà Bumm (57), en 1885, Krause et Leistikow (58), en 1882, Wertheim (59), en 1892, Busch (60), en 1898, Nicolaysen (61), en 1901 obtenaient des cultures de gonocoques sur des milieux ordinaires. En juin 1900, Thalmann cultivait le gonocoque sur de l'agar ordinaire, possédant un certain degré d'alcalinité (il employait les  $\frac{2}{3}$  de la quantité totale de soude caustique nécessaire pour la neutralisation complète de l'agar). Son agar avait l'inconvénient de ne pas se prêter aux réinoculations ultérieures.

En 1902, Wildbolz conclut aussi à la possibilité de cultiver le gonocoque sur de l'agar ordinaire. Alors que les cultures de Thalmann ne peuvent pas facilement être réinoculées, celles de Wildbolz

ne réussissent en général qu'après plusieurs générations sur agar-sérum (4, 5, dans un cas après 62 générations), ainsi le gonocoque devrait d'abord s'accoutumer à la croissance sur agar-sérum avant de pouvoir être cultivé sur agar simple. Il eut de grandes différences dans la croissance des gonocoques; il ne croit pas que cela provienne de différences dans la réaction des milieux, mais de la qualité des différentes sortes d'agar.

Alors que Thalmann déclare que le point capital pour la culture du gonocoque sur agar ordinaire repose dans l'application d'une réaction déterminée, comme Lipschütz l'a confirmé plus tard pour son milieu d'albumine d'œuf, Wildbolz ne met pas une grande importance à la réaction du terrain de culture; il veut prouver que la croissance du gonocoque est possible sur des milieux ordinaires d'agar et de bouillon, tels qu'on les emploie pour la croissance d'autres bactéries.

Wassermann (62) a essayé le procédé de Thalmann, de même que Bärmann (63), à la clinique de Neisser, ces deux auteurs déclarent que cette méthode est absolument impraticable pour le diagnostic et la réinoculation des cultures de gonocoques. Wassermann admet qu'on peut inoculer de la sécrétion gonorrhéique sur de l'agar ordinaire et en obtenir 1 génération, parfois 2, mais cela ne tient pas à une qualité de culture spéciale du gonocoque, mais au dépôt d'albumine, contenu dans le pus, qu'on inocule en même temps sur le terrain de culture et qui aide à sa croissance. Wassermann admet cependant que le gonocoque peut cultiver sur de l'agar ordinaire, mais par inoculation seulement de générations avancées de cultures sur agar-sérum.

Nous employions auparavant à l'Institut bactériologique de Berne la phénolphtaléine comme réactif de neutralisation de l'agar; nous avons remarqué, à plusieurs reprises, que nos milieux à gonocoques (ascite-agar, Wassermann ou Lipschütz), fraîchement préparés, ne cultivaient pas du tout, alors que d'autres bactéries ou coques s'y développaient parfaitement. Nous avons alors modifié 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. Nous avons alors commencé à étudier la croissance du gonocoque sur de l'agar ordinaire à 1,5 %, préparé selon la méthode habituelle, mais neutralisé avec du carbonate de soude à 10 % jusqu'à ce que le papier tourne-sol montre une très légère réaction alcaline. Ce milieu nous a donné de très belles cultures de gonocoques. Nous avons comparé notre agar avec celui fabriqué par le garçon de laboratoire de l'Institut; cet agar est neutralisé avec du carbonate de soude, mais il se sert de la phénolphtaléine comme réactif. (L'agar-agar était toujours de la même provenance pour les deux.) Alors que notre agar a donné presque toujours de fort belles cultures de gonocoques et de nombreuses générations successives, l'agar ordinaire du garçon de laboratoire, beaucoup plus alcalin que le nôtre, n'a jamais montré trace de culture. Cela ne confirme pas tout à fait les conclusions de Wildbolz qui voulait prouver que la croissance des gonocoques était possible sur des milieux ordinaires, tels ceux qu'on emploie pour d'autres microorganismes. L'agar du garçon de laboratoire, sur lequel le gonocoque n'a jamais cultivé, était employé en même temps à l'Institut pour les besoins des différents services et était un excellent milieu de culture pour les autres bacilles et coques. Nous avons procédé à une série d'expériences, en inoculant directement du pus gonorrhéique sur agar ordinaire, en réin-



oculant les cultures d'agar ordinaire sur d'autres agars semblables; en inoculant enfin sur agar ordinaire des cultures d'autres milieux.

Sur 14 cas d'écoulements gonorrhéiques inoculés sur de l'agar ordinaire, nous constatons chaque fois des cultures abondantes sur agar ordinaire. Celles-ci ont été contrôlées d'abord microscopiquement avec la décoloration au Gram, puis en les réinoculant sur d'autres milieux à gonocoques (Lipschütz ou ascite-agar). Dans deux cas où la sécrétion purulente renfermait des gonocoques avec staphylocoques et streptocoques, l'agar ordinaire et le milieu de Lipschütz ont donné une forte croissance de gonocoques et quelques colonies de staphylocoques et de streptocoques alors que l'ascite-agar ne donnait que des colonies de staphylocoques et de streptocoques.

Dans deux cas, nous n'avons pu réinoculer qu'une seule fois la culture de gonocoque obtenue directement de la sécrétion purulente sur agar ordinaire; en général nous avons obtenu des séries de générations variant entre 5, 8, 10 jusqu'à 30 générations successives, et les réinoculations étaient irrégulières, tantôt tous les 2 jours, tantôt tous les 4, 8 jours.

Nous n'avons pourtant pas pu transporter jusqu'à la 30<sup>e</sup> génération des doses minimales d'albumine non coagulée sous forme de traces de pus! La vitalité des cultures était assez intense, puisque nous avons pu les réinoculer et obtenir de belles croissances après 15, 21 et 28 jours.

Nous avons pu réinoculer, dès les premières générations, des cultures gonococciques provenant de milieu de Lipschütz ou d'ascite-agar sur de l'agar ordinaire; ainsi nous n'avons pas trouvé qu'il faille d'abord accoutumer le gonocoque sur des milieux spéciaux, contenant de l'albumine, avant d'obtenir les cultures sur agar ordinaire. Nous n'avons pas constaté de différences bien marquées entre la croissance sur agar ordinaire des cultures de 2<sup>e</sup>, de 5<sup>e</sup> et de 10<sup>e</sup> génération de Lipschütz ou d'ascite-agar.

Nous avons cependant remarqué que les cultures d'agar simple provenant de jeunes générations d'autres milieux (1<sup>e</sup>, 2<sup>e</sup> ou 5<sup>e</sup>) donnaient une série de générations moins nombreuses que celles provenant de générations plus anciennes (20<sup>e</sup>, 30<sup>e</sup> ou 50<sup>e</sup>).

Nous avons observé, 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.

Nous avons procédé aussi, pour mettre en évidence l'importance de la réaction de nos milieux d'agar simple, à une série d'expériences où nous avons ajouté à des tubes d'agar, préparés à des époques variées et légèrement alcalinisés, un certain nombre de gouttes d'une solution normale de soude caustique à 10 et 20 %, d'une solution de carbonate de soude à 2, 5 et 10 %, enfin d'une solution normale d'acide chlorhydrique à 20 % et nous avons observé, dans toutes nos expériences, que l'adjonction de quelques gouttes d'une solution acide ou alcaline diminue la croissance du gonocoque, d'une façon plus intense avec l'acide qu'avec les alcalins (voir les tableaux dressés dans notre communication de 1905, p. 160—174).

Nous terminions cette partie de notre travail en disant:

„Soit pour l'inoculation directe du pus gonorrhéique, soit pour la réinoculation du gonocoque d'autres milieux sur agar ordinaire, on

devrait prendre en considération, non pas seulement le degré de l'alcalinité de l'agar, facteur très important, mais il faut apparemment aussi faire la part des différentes variétés de gonocoques. 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 parfois 48 heures, 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."

Certains bactériologues sont encore très sceptiques sur l'identité des gonocoques cultivant sur agar ordinaire. On sait qu'il existe une quantité de diplocoques, se décolorant au Gram, qui ressemblent d'une façon frappante aux gonocoques, ayant leurs mêmes propriétés culturelles et que la plupart des auteurs considèrent comme de vrais gonocoques. Peut-on réellement ranger dans cette classe, par exemple, les diplocoques, décrits par Krukenberg et cités par Schanz (64), de Dresden, qu'il appelle pseudo-gonocoques, qui avaient toutes les propriétés du gonocoque, qu'il constate sur 3 conjonctives humaines ne présentant pas trace de réaction, d'injection ou de catarrhe? Si les pseudo-gonocoques de Krukenberg étaient réellement des gonocoques, comme Schanz le déclare catégoriquement, auraient-ils produit un résultat absolument négatif avec des inoculations oculaires et des injections conjonctivales faites par l'auteur sur lui-même?

Nous croyons fermement que les coques que nous avons cultivés sur agar ordinaire étaient bien de vrais gonocoques, mais pour en faire la preuve certaine, il aurait fallu inoculer une de ces cultures d'agar ordinaire sur un urèthre humain et constater ensuite une gonorrhée aiguë. Cela aurait été une démonstration „sine qua non“. Si nous ne l'avons pas fait, c'est simplement par principe humanitaire. Une preuve certaine aussi d'identifier les gonocoques croissant sur agar ordinaire serait d'employer ceux-ci pour la recherche des ambocepteurs dans le sérum gonococcique.

#### Cultures des gonocoques sur milieux liquides.

Le milieu liquide qui paraît le meilleur et le plus pratique est celui qui correspond au sérum-agar de Wertheim, soit un mélange de 2 à 3 parties de bouillon de viande et 1 partie de sérum humain (ascite, liquide pleurétique, etc.). Schäfer remplace le bouillon de viande par du bouillon de rate.

Au sérum de sang de porc nutrosé de Wassermann, correspond aussi un bouillon nutrosé de sang de porc qui a la même réaction que le bouillon de viande neutralisé au  $\frac{2}{3}$  de Thalmann. Wildbolz a cultivé aussi les gonocoques sur bouillon ordinaire, comme il l'a fait sur agar ordinaire. Il a trouvé aussi comme pour ce dernier, que la croissance des gonocoques sur son milieu était très variable et dépendait de la façon dont était préparé le bouillon.

Les cultures sur bouillon ordinaire avaient la même apparence que celles sur sérum-bouillon, avec cette différence que la croissance des gonocoques sur bouillon ordinaire n'était pas toujours aussi abondante que sur le bouillon additionné de sérum.

Thalmann trouve que les gonocoques se comportent de la même

façon sur du bouillon sans sérum que sur de l'agar simple; leur vitalité reste identique et aussi longtemps sur les milieux solides que sur les milieux liquides; après 4 semaines, ils étaient encore parfaitement capables de se réinoculer.

Nous avons expérimenté les milieux liquides d'ascite et de bouillon ainsi que ceux de bouillon et de sérum de sang nutrosé.

Nous avons préparé différents mélanges de bouillon de bœuf peptonisé et d'ascite, soit 2 parties de bouillon pour 1 partie d'ascite, 1 partie de bouillon pour 1 partie d'ascite, enfin 3 de bouillon et 1 d'ascite, les milieux nous ont donné tous de très bons terrains de culture; après 48 heures, le liquide était complètement trouble et donnait, par réinoculation, des cultures pures.

Avec le sérum de sang nutrosé de Wassermann nous avons expérimenté avec des milieux contenant 2 parties de bouillon de bœuf pour 1 partie de sérum Wassermann et d'autres composés de 1 partie Wassermann pour 1 partie bouillon. Alors que ces derniers nous ont procuré une très belle croissance de gonocoques, le milieu composé de 2 parties de bouillon et 1 partie de sérum nous a toujours donné un résultat négatif.

Les cultures gonococciques sur milieux liquides peuvent présenter différents caractères; ou bien le liquide est trouble dans sa totalité ou bien il montre au fond du tube un dépôt floconneux, grisâtre et le liquide qui surnage est légèrement trouble.

Un milieu que nous avons beaucoup employé et que nous recommandons vivement est le milieu liquide de de Christmas (65), soit bouillon de veau, non peptonisé, concentré en l'évaporant par l'ébullition jusqu'au  $\frac{1}{4}$  de son volume et mélangé à du liquide d'ascite dans la proportion de: 1 partie de bouillon de veau pour 3 parties d'ascite. Nous ne le recommandons pas pour ses propriétés spéciales à fournir de la bonne toxine gonococcique, comme nous le verrons plus loin, mais parce que c'est un bon milieu pour gonocoques, que ceux-ci s'y développent assez rapidement, qu'ils y gardent mieux leurs formes typiques, en grain de café, et qu'on y rencontre moins de formes d'évolution. — Le développement est très rapide; après 12 heures, le liquide ensemencé est déjà finement troublé dans toute son étendue. Pendant les premiers jours, la poussée se produit à la surface du liquide qui se couvre d'un léger voile crémeux. Peu à peu, la croissance se fait au fond du ballon ou du tube et il s'y forme une couche épaisse, visqueuse, grisâtre, adhérent fortement aux parois du verre. La croissance principale a lieu pendant les 5 premiers jours, mais les gonocoques continuent à se multiplier au fond du ballon ou tube; ils s'y forment de grandes colonies adhérentes et le liquide qui surnage s'éclaircit petit à petit entièrement.

#### Remarques sur la vitalité des gonocoques.

Nous ne voulons pas insister sur les conditions vitales du gonocoque et répéter ce que nombre d'auteurs ont déjà dit, concernant les températures minimales, optimales et maximales de développement du microorganisme; nous ne parlerons pas non plus de la résistance des cultures gonococciques aux différentes températures, mais nous voulons dire quelques mots sur l'extrême sensibilité des gonocoques à la première inoculation du pus gonorrhéique sur des milieux nutritifs. On connaît parfaitement déjà la grande sensibilité du gonocoque à la moindre

dessiccation, mais nous croyons que l'on n'a pas suffisamment insisté sur la sensibilité aux basses températures.

Il nous est très souvent arrivé, à des époques de l'année où la température atmosphérique descendait au-dessous de  $10^{\circ}$  (nous ne parlons pas naturellement des époques de gel) d'inoculer des milieux nutritifs avec du pus gonorrhéique et de les transporter de suite, bien emballés dans les poches intérieures de notre par-dessus, à l'Institut bactériologique, distant environ de 10 minutes de notre domicile. Dans la généralité des cas, ces cultures sont restées stériles, il n'y a pas eu trace de culture. Bien plus, en inoculant des milieux avec du pus gonorrhéique des malades de la division dermatologique de l'Hôpital de l'Île (Division du Prof. Dr. Jadassohn) qui est distante de 2 minutes de l'Institut, il nous est très souvent arrivé que les cultures inoculées à la division dermatologique et transportées de suite, bien emballées et protégées avec de la ouate, à l'étuve de l'Institut bactériologique n'ont pas donné de croissance quelconque de gonocoques. Faisait-on venir les malades à l'Institut et pouvions-nous les inoculer dans les laboratoires et placer les milieux de suite à l'étuve, on observait, après 24 heures, de magnifiques cultures de gonocoques. Le même fait a été constaté par Lingelsheim, Weichselbaum, Wassermann et Kolle (66) pour le *Meningococcus intracellularis*.

Nous avons fait quelques expériences pour déterminer l'influence des températures sur la croissance du gonocoque (le pus gonorrhéique étant inoculé sur des milieux de culture). Nous nous sommes servi pour cela de milieux de Wassermann dans des boîtes de Petri.

Nous avons réparti nos expériences en 3 séries:

- 1) Inoculations faites dans une chambre présentant une température de  $19^{\circ}$  C.,
- 2) dans une chambre à  $22^{\circ}$  C.,
- 3) dans une chambre à  $12^{\circ}$  C.

Les boîtes de Petri étaient inoculées avec du pus gonorrhéique et laissées aux températures de ces chambres pendant  $\frac{1}{4}$  h.,  $\frac{1}{2}$  h., 1 h. et 2 h. et placées de suite à l'étuve à  $37^{\circ}$ .

Les résultats sont les suivants:

1) Boîtes dans la chambre à $22^{\circ}$ C.					
Après	$\frac{1}{4}$ h.,	étuve à $37^{\circ}$ :	après 2 jours	=	+++
"	$\frac{1}{2}$ "	" " $37^{\circ}$ :	" 2 "	=	++
"	1 "	" " $37^{\circ}$ :	" 2 "	=	++
"	2 "	" " $37^{\circ}$ :	" 2 "	=	+
2) Boîtes dans la chambre à $19^{\circ}$ C.					
Après	$\frac{1}{4}$ h.,	étuve à $37^{\circ}$ :	après 2 jours	=	++
"	$\frac{1}{2}$ "	" " $37^{\circ}$ :	" 2 "	=	+
"	1 "	" " $37^{\circ}$ :	" 2 "	=	⊥
"	2 "	" " $37^{\circ}$ :	" 2 "	=	0
3) Boîtes dans la chambre à $12^{\circ}$ C.					
Après	$\frac{1}{4}$ h.,	étuve à $37^{\circ}$ :	après 2 jours	=	⊥
"	$\frac{1}{2}$ "	" " $37^{\circ}$ :	" 2 "	=	0
"	1 "	" " $37^{\circ}$ :	" 2 "	=	0
"	2 "	" " $37^{\circ}$ :	" 2 "	=	0

Ces résultats sont assez intéressants: 2 h. d'exposition à une température de  $19^{\circ}$  ont empêché la croissance du gonocoque sur nos milieux, et  $\frac{1}{2}$  h. d'exposition à la température de  $12^{\circ}$  C. en a fait de même.

Une autre question que nous avons examinée de près est celle-ci:

Le gonocoque est-il essentiellement aérobie ou peut-il pour sa croissance se passer de l'accès de l'air?

Dans le „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen“ de Kolle et Wassermann, A. Neisser et Scholtz écrivent à la p. 167: „Auf all den besprochenen für Gonokokkenzüchtungen brauchbaren Nährböden wachsen die Gonokokken stets am üppigsten und reichlichsten bei Luftzutritt, doch findet auch unter anaëroben Bedingungen eine geringe Entwicklung statt.“

Pour contrôler ces données, nous avons pris 7 tubes à ampoules pour sérum que nous avons remplis avec du bouillon-ascite, puis inoculés en même temps avec une culture pure d'agar-ascite. Le tube No. 1 a été placé de suite à l'étuve à 37°, les tubes Nos. 2, 3, 4, 5, 6 et 7 ont été placés dans un bassin contenant de l'eau chauffée et maintenue à 36°, pendant 6 h. de temps. Le tube No. 2 a été gardé comme contrôle alors que les tubes Nos. 3, 4, 5, 6 et 7 ont été réunis à l'appareil pour faire le vide de 11 h. du matin à 5 h. du soir, puis placés à l'étuve à 37°. Tandis que les tubes Nos. 1 et 2 ont donné, par réinoculation après 24 h., de très belles cultures gonococciques sur ascite-agar, les Nos. 3, 4, 5, 6 et 7 ont donné un résultat absolument négatif, même après 5 jours d'étuve.

Dans une seconde série, nous avons examiné combien de temps il fallait exposer nos tubes à l'appareil à faire le vide pour empêcher la croissance du microorganisme. Nous avons procédé exactement comme pour la première série, le tube No. 1 est placé de suite à l'étuve, le No. 2 est maintenu pendant tout le temps de l'expérience dans l'eau à 36°.

Tubes Nos. 1 et 2, après 24 h. d'étuve donnent, par réinoculation, de belles cultures, abondantes.

No.	après	1/2 h. d'exposition au vide:	après	48 h. d'étuve-croissance	l.
No. 3	après	1/2 h.	après	48 h.	0
„ 4	„	1	„	48	0
„ 5	„	2	„	48	0
„ 6	„	4	„	48	0
„ 7	„	4 1/2	„	48	0

Les cultures gonococciques sont donc tuées après 1 h. d'exposition au vide. Ceci ne confirme donc nullement les conclusions de Neisser et Scholtz.

### III. Essais d'immunisation sur les animaux.

Les auteurs sont en général d'accord pour admettre que le gonocoque n'est infectieux que pour l'homme, mais qu'il est toxique pour les animaux; la façon dont le produit toxique agit sur ces derniers a donné lieu à un grand nombre d'observations expérimentelles et les avis sont assez variés.

Alors que Wassermann (67), Nikolaysen (68), Scholtz (69) et d'autres admettent que le produit toxique est contenu dans le corps même des microorganismes, qu'il s'agit d'une protéine bactérielle, d'autres, comme de Christmas (70), affirment que le gonocoque produit lui-même une vraie toxine.

Les tentatives d'inoculation de gonocoques sur les animaux n'ont donné jusqu'ici que des résultats négatifs.

D'après de Christmas, il serait certain que le coque de Neisser renferme et sécrète dans le milieu nutritif où il se développe des produits toxiques qui produisent sur les animaux des phénomènes

d'intoxication et d'inflammation très notables. La toxine est dissoute dans le milieu de culture; les solutions contenant de la glycérine conservent très longtemps leurs propriétés toxiques. La gonotoxine agit particulièrement sur les séreuses et pas sur les muqueuses. L'immunisation des animaux contre de fortes doses du produit toxique serait difficile à obtenir. La chèvre est très sensible aux essais d'immunisation avec la gonotoxine, spécialement par des injections intra-veineuses.

Le sérum des chèvres immunisées possède des propriétés antitoxiques manifestes.

Wassermann considère les souris blanches comme les plus réceptibles parmi les animaux. En injectant, par voie intrapéritonéale, une dose de  $\frac{1}{2}$  à 1 c. c. d'une culture liquide de gonocoques vivants ou morts, les animaux sont tués en 36 heures et on trouve à l'autopsie un faible exsudat péritonéal avec un péritoine engorgé. S'ils ne meurent pas en 36 heures, ils ne meurent pas du tout. Les cobayes supporteraient de plus fortes doses.

Nikolaysen a obtenu, en desséchant et en broyant une culture de gonocoques, une poudre toxique concentrée dont la dose mortelle minimale est de 0,01 g. pour les souris.

En 1899, Scholtz fait une série d'essais d'immunisation sur des cobayes, des souris blanches et des lapins.

Il obtient les mêmes résultats que Wassermann avec les souris blanches. En injectant à des cobayes de 250—300 g., par voie intrapéritonéale, 4—5 c. c. d'une culture abondante de gonocoques, la mort survient en 20—36 heures, avec des élévations de température allant jusqu'à 41°. A l'autopsie, on trouvait un péritoine engorgé, humide, contenant un exsudat plus ou moins abondant et purulent, dans lequel on retrouve des gonocoques intracellulaires bien conservés. D'après Scholtz, il est indifférent d'employer des cultures de gonocoques vivantes ou mortes, parce que les animaux succombent au poison contenu dans le corps du microorganisme. Il a aussi constaté la présence des gonocoques dans le sang des animaux autopsiés. Il n'a pas réussi à obtenir une augmentation de la virulence des gonocoques, soit une augmentation de la toxicité, par le passage des toxiques à travers le corps des animaux en expérience; aussi, les exsudats péritonéaux riches en gonocoques recueillis dans la cavité abdominale des cobayes injectés, inoculés directement sur de nouveaux cobayes, ne montrent pas d'action particulièrement active. Avec les lapins, des injections intraveineuses de 5 c. c. de cultures de gonocoques occasionnent des élévations de température et des diminutions de poids du corps de l'animal pendant plusieurs jours. Avec de fortes doses, les injections sous-cutanées produisent des infiltrations locales légères et quelques nécroses.

Les injections faites sur la muqueuse conjonctivale et vaginale ont donné des résultats absolument négatifs, par contre une injection d'une faible dose de gonocoques vivants ou morts dans la chambre antérieure de l'œil du lapin occasionne en quelques heures une suppuration plus ou moins abondante de la chambre antérieure et un trouble de l'iris. Cette suppuration était stérile, ne contenait pas de gonocoques; c'était donc une suppuration chimique, toxique et non infectieuse.

De Christmas écrit en mai 1900 dans son article „Contribution à l'étude du gonocoque et de sa toxine“: „Le gonocoque élabore en milieu approprié des produits toxiques qui, injectés à des animaux de laboratoire, produisent des phénomènes d'intoxication locaux et généraux,

en provoquant de la congestion et de la suppuration dans les tissus, ainsi que des phénomènes de fièvre et de cachexie, si on les injecte dans le système sanguin.“ D'après le même auteur, la substance toxique se trouverait en partie dans le corps même des gonocoques, en partie dissoute dans le liquide de culture. De nature albuminoïde, elle est soluble dans la glycérine et se détruit par un chauffage prolongé.

De Christmas, dans ses expériences, a constaté que la production de toxine fournie par les cultures dans les milieux nutritifs ordinaires ( $\frac{1}{3}$  de liquide d'ascite et  $\frac{2}{3}$  de bouillon peptonisé) n'est pas considérable, de même avec les cultures avec sérum de bœuf ou de porc. Il se sert d'un bouillon fait avec de la viande de veau, et concentré, par évaporation, jusqu'au  $\frac{1}{4}$  de son volume. (Nous ne comprenons pas pourquoi de Christmas complique sa méthode en évaporant ainsi son milieu nutritif pour le concentrer. Il semblerait bien plus pratique de concentrer le bouillon en prenant simplement pour 500 g. de viande de veau 250 g. d'eau au lieu de 1000 g.) Il n'emploie pas de peptone, car la production de toxine est moins bonne dans les milieux peptonisés. La survie du gonocoque dans ceux-ci est de 8—10 jours, alors qu'il reste vivant 40—50 jours dans les milieux non peptonisés. (Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Verhalten des Wutvirus den ein- oder mehrschichtigen schwedischen Papierfiltern gegenüber, im Vergleiche zum Verhalten der Schizomyceten, Blastomyceten, Hyphomyceten (Sporen) und der Amöben.

Von **Claudio Fermi**, Sassari.

### A. Ueber das Durchdringen des Wutvirus durch das ein- oder mehrschichtige schwedische Filterpapier.

Vor ungefähr 8 Jahren unternahm ich neben anderen Versuchen über Tollwut auch einige über das Durchdringen des Wutvirus durch das ein- oder mehrschichtige Filterpapier.

Zweck derselben war, zu sehen, ob das Wutvirus die in Rede stehenden Filter durchdringt, was dazu gedient haben würde, noch besser die Natur desselben studieren und die häufig sehr ausgeprägte Verlängerung der Inkubationszeit, die man infolge von Infektion durch filtrierte Virus wahrnimmt, erklären zu können.

Der Gang der Untersuchungen war folgender:

a) Filtration von fixer Virusemulsion 1:500 in einem Papierfilter mit 1, 2, 3, 4 und 6 Schichten.

b) Virulenz des bei 30° verdampften Filtratrestes.

c) Filtration durch den Chamberlandschen Filter, der mittels Papierfilter erhaltenen Filtrate und Probe der Virulenz des gesammelten Restes über der Porzellankerze.

d) Probe der Virulenz des alkoholischen Niederschlages der mit Papierfilter erhaltenen Filtrate.

Besagte Versuche wurden mit 57 Tieren (43 Kaninchen, 3 Hunden und 11 Ratten) vollzogen.

Bei den Kaninchen und den Hunden wurde die Virulenz des Filtrates auf subduralem Wege, bei den Ratten auf subkutanem probiert.

Die angestellten Versuche ergaben folgende Resultate:

1) Das mittels einschichtigen Papierfilters erhaltene Filtrat gab unter 11 Kaninchen 3mal eine Verlängerung der Inkubationsperiode, und zwar von 3—4—8 Tagen.

2) Das mittels zweischichtigen Papierfilters erhaltene Filtrat gab bei 7 Kaninchen 2mal eine Verlängerung der Inkubationsperiode von resp. 5—6 Tagen, 3 überlebten.

3) Das mittels dreischichtigen Papierfilters erhaltene Filtrat gab unter 2 Kaninchen bei einem eine Verspätung von 5 Tagen, dasselbe ergab sich bei einer Ratte.

4) Das mittels vierschichtigen Papierfilters erhaltene Filtrat gab unter 2 Ratten bei einer eine Verlängerung der Inkubationsperiode von 6 Tagen, während die andere überlebte.

5) Der alkoholische Niederschlag von den obengenannten Filtraten blieb unwirksam.

6) 7 Kontrollkaninchen starben alle in 5—6 Tagen.

B. Durchgang der Mikroorganismen und der Amöben durch schwedische Papierfilter von einem oder mehreren Blättern.

Die Versuche wurden im Jahre 1898 angestellt und hatten den Zweck, das Wutvirus mit verschiedenen bekannten Mikroorganismen betreffs der Filtration zu vergleichen.

Resultate: 1) In Bezug auf die Schizomyceten, daß nicht nur der zarte *Bac. pyocyaneus* und der *Bac. prodigiosus*, sondern auch der grobe, faserige *Heubacillus* durch das schwedische Papierfilter dringen, selbst wenn dieser aus 8 Blättern besteht. In diesem Falle ist natürlich die Anzahl der durchdringenden bei weitem geringer, als bei einem Filter aus einem Blatte.

2) Daß die Blastomyceten noch ein 5-blättriges Filter durchdringen, aber fast vollständig durch ein solches aus 8 Blättern zurückgehalten werden.

3) Die Sporen der Hyphomyceten (*Aspergillus niger*) sowohl im einfachen Wasser als auch in den Flüssigkeiten, von denen sie vollständig umgeben sind (Wasser mit Ammoniak, Aether und Glycerin), dringen in geringer Anzahl noch durch ein Filter aus einem Bogen, werden aber fast vollständig durch Filter von 3—5 Blättern zurückgehalten.

4) Die Amöben verhalten sich ungefähr in derselben Weise wie die Blastomyceten, insofern, als sie in geringer Anzahl ein aus 5 Blättern bestehendes Filter durchdringen, von einem aus 8 Blättern bestehenden aber zurückgehalten werden.



*Nachdruck verboten.*

## Die Cerebrospinalflüssigkeit wutkranker Tiere ist nicht virulent.

Von **Claudio Fermi**, Sassari<sup>1)</sup>.

Pasteur<sup>2)</sup> behauptete die Virulenz der Cerebrospinalflüssigkeit wutkranker Tiere. Da nun einmal das Wutvirus fast ausschließlich im Nervensystem lebt, und in einem filtrierbaren Faktor besteht, würde, wenigstens im ersten Augenblick seine Abwesenheit in der Cerebrospinalflüssigkeit mehr überraschen, als seine Gegenwart in derselben.

Nichtsdestoweniger wurde durch Wyssokovicz<sup>3)</sup> und Lesieur<sup>4)</sup> die Cerebrospinalflüssigkeit von 6 Menschen und 2 Hunden nicht virulent gefunden.

Es war daher nicht ohne Interesse, diese Frage zu entscheiden.

**Untersuchungsmethode:** Es ist unumgänglich notwendig, eine strenge Methode bei der Entnahme der Cerebrospinalflüssigkeit zu befolgen, um bei der Extraktion derselben mittels einer Spritze zu vermeiden, daß die Nadelspitze derselben das Mark berührt.

1) Man beginne mit der vollständigen Bloßlegung einer genügenden Fläche des Rückenmarkes.

2) Man befreie an besagter Stelle die Hirnhäute vollständig von aller Adhärenz, so daß man durch dieselben das unter ihnen liegende Mark wahrnehmen kann.

3) Man führe die Nadel so viel als möglich tangent hinein; kaum ist ein Teil der Spritze eingedrungen, so hebe man die Hirnhäute, um sie vom Mark zu entfernen, so daß sich eine Art Beutel bildet, wo sich die Cerebrospinalflüssigkeit reichlich ansammeln wird.

4) Man führe den kürzesten Teil der Spritze ein, und dies nur einmal und begnüge sich mit der ersten Entnahme der Flüssigkeit. Wenn möglich, soll man die Aufsaugung der Flüssigkeit vermeiden.

5) Man arbeite nur mit sehr klarer Flüssigkeit und bloß zum Ver gleiche mit trüber oder blutiger.

Man arbeite außerdem mit der cerebrospinalen Flüssigkeit einer großen Anzahl von Tieren, die durch fixes und Straßenvirus gestorben sind, um irgend einen positiven Fall auszuschließen, der nur einen technischen Irrtum darstellen könnte.

Aus den von mir angestellten Versuchen an 43 Tieren (21 Kaninchen, 13 Hunden, 13 Ratten und 4 Mäusen) geht hervor, daß die Cerebrospinalflüssigkeit von Tieren, die durch fixes oder Straßenvirus gestorben sind, nicht wie Pasteur meint, infektiös ist, wenn sie mit aller Vorsicht entnommen wird, und nicht Nervensubstanz mit sich weg führt.

Es ist nicht ganz unwahrscheinlich, daß die Cerebrospinalflüssigkeit

1) Die erste vorläufige Mitteilung ist in der *Riforma medica* 1905 erschienen.

2) Pasteur, *Bull. de l'Acad. de méd.* du 31 mai 1881. p. 718.

3) Wyssokovicz, *Centralbl. f. Bakt. etc.* Bd. X. 1891.

4) Lesieur, *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1904. No. 33.

irgendwelche lyssicide Wirkung besitzt: Mäuse, welche mit einer Virusfixe-Emulsion von 1:10 000—20 000, die mit der gleichen Menge Cerebrospinalflüssigkeit gemischt und einige Stunden stehen geblieben war, geimpft wurden, blieben gesund; während die Kontrolltiere, die mit Virusfixe von 1:40 000—50 000 geimpft wurden, zu Grunde gingen.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Virulenz des Speichels und der Speicheldrüsen wutkranker Tiere<sup>1)</sup>.

Von **Claudio Fermi**.

Angesichts der geringeren Schwierigkeit, welche die Untersuchung und das Studium des spezifischen Lyssaerregers in einer von morphologischen Elementen freien Flüssigkeit, wie der Speichel es ist, bietet, sowie angesichts der Beobachtung, welche die Kenntnis dieser eigentümlichen Tatsache des Ueberganges des Wutvirus aus dem Nervensystem in den Speichel hat, versuchte ich das Studium dieser stets so wichtigen Fragen. Die bisherigen Kenntnisse in dieser Beziehung sind sehr unsicher. Während Zinke, Berndt (bei allen Tieren), Magendie (bei Fleischfressern und bei den Menschen), Hertwig (bei 28 Proz. der Fälle), Renault (bei 25 Proz. der Fälle) positive Resultate hatten, erzielten Huzard, Dupuy (bei Grasfressern), Galtier (bei der Submaxillarisdrüse), P. Bert (bei der Parotis und der Submaxillaris des Hundes), Zagari (in 32 Fällen beim Menschen), Berard und Gautier, Bertarelli und Volpino und Remlinger (ebenfalls bei den Menschen) dagegen nur negative Ergebnisse.

Bevor ich die große Empfindlichkeit der Muriden dem Wutvirus gegenüber auf subkutanem Wege kannte, war dieses Studium noch nicht möglich, oder wenigstens sehr schwer, da die subkutan inokulierten Tiere fast nie an Lyssa sterben, hingegen erliegen sie nicht selten der Infektion, wenn sie subdural mit Speichel inokuliert werden.

Für solche Studien war es also unumgänglich notwendig, ein Tier zu finden, welches dem Wutvirus gegenüber auf subkutanem Wege äußerst rezeptiv und der mikrobischen Infektion gegenüber sehr widerstandsfähig ist, wie das der Fall bei den weißen Ratten ist.

Von den zahlreichen angestellten Versuchen will ich hier bloß die erhaltenen Resultate angeben:

1) Der Speichel von 15, an der stillen Wut durch fixes Virus und von anderen 7 an der stillen Wut durch Straßenvirus gestorbenen Hunden, der auf subduralem und subkutanem Wege 11 Hunden, 4 Ratten und 35 Mäusen eingeimpft wurde, ergab stets negative Resultate.

2) Der Speichel von 7 an der stillen Wut durch fixes Virus und von 7 anderen an der stillen Wut durch Straßenvirus gestorbenen Kaninchen, der auf subduralem und subkutanem Wege 3 Hunden, 3 Kaninchen und 26 Ratten eingeimpft wurde, erwies sich nie virulent.

3) Der Speichel eines an stiller Wut durch Straßenvirus gestorbenen Lammes erwies sich, 6 Ratten inokuliert, ebenfalls negativ.

1) Siehe die erste vorläufige Mitteilung. (*Riforma medica*. 1905.)

4) Der Speichel von 10 an der stillen Wut durch Straßenvirus gestorbenen Ratten, der 21 Mäusen (13 weißen und 8 schwarzen) eingepflicht wurde, tötete niemals durch Tollwut.

5) Die Unterkieferdrüsen von 6 an der stillen Wut durch Straßenvirus gestorbenen Ratten, die 18 Mäusen (9 weißen und 9 schwarzen) eingepflicht wurden, erwiesen sich nie infektiös.

6) Zwei weiße Ratten und eine Maus, durch eine tollwütige (Straßenvirus) Ratte stark gebissen, blieben gesund.

Schlußfolgerung: Der Speichel, die Speicheldrüsen von Hunden, Kaninchen, Ratten, Mäusen und von einem Lamme, die an der Wut durch Straßenvirus und fixes Virus gestorben waren, wurden nie virulent gefunden.

Während man folglich die Infektivität des Speichels von Tieren, die von furiöser Wut befallen sind, seien es Hunde, Katzen, Wölfe, nicht leugnen kann, kann man nur ausnahmsweise, oder wenigstens in unbeständiger Weise die Infektivität des Speichels solcher Tiere, die von durch fixes oder Straßenvirus verursachter, stummer Wut befallen waren, nachweisen.

Mit der Wahrnehmung dieser Tatsache fällt die Hoffnung, die man in den Speichel wutkranker Tiere gesetzt hat, um den spezifischen Faktor der Tollwut außerhalb des Nervensystems zu studieren.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber einige Bedingungen, welche zur Zersetzung des Wutvirus mittels Radiums in vitro erforderlich sind.

### 6. Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. **Guido Tizzoni** und Dr. **Alessandro Bongiovanni**.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

In einer unserer vorhergehenden Mitteilungen<sup>1)</sup> haben wir festgestellt, daß die zersetzende Wirkung, welche das Radium auf das Wutvirus in vitro ausübt, durch die Emanationen bedingt ist, und daß die Strahlungen keinen Anteil daran nehmen. In der Tat haben wir bewiesen, daß jegliche Zersetzung des fixen Wutvirus fehlt und es infolgedessen seine Wirksamkeit unverändert bewahrt, wenn man die Emanationen vollkommen ausschließt und die Emulsion der Organe des Zentralnervensystems nur den Strahlungen aussetzt. Dies haben wir in möglichst sicherer Weise dadurch zu erreichen gesucht, daß wir den Apparat mit Radium in eine Bleischachtel mit einer runden Oeffnung einschlossen, auf welche in der Wärme mit Mastix ein ganz feines Deckgläschen gekittet wurde, um den Strahlungen freien Durchtritt zu gewähren.

Auch haben wir jüngst in einer kritischen Bemerkung<sup>2)</sup> hervorgehoben, daß die Zersetzung des Wutgiftes mittels Radiums nur unter ganz bestimmten Bedingungen vor sich geht. In dieser Hinsicht haben wir uns auf die allgemeine Bemerkung beschränkt, daß der Apparat so

1) Ueber den Mechanismus der Wirkung des Radiums auf das Wutvirus. (5. vorl. Mitt. der kgl. Akad. d. Wiss. zu Bologna in der Sitz. vom 1. April 1906 vorgelegt.)

2) Ueber die Wirkung des Radiums auf das Wutvirus. Eine kurze Antwort an unsere Gegner. (Gaz. degli Ospedali etc. 1906. No. 63.)

aufgestellt sein muß, daß nur eine ganz geringe Dispersion der Emanationen möglich ist, daß ferner bei dem nur schwachen Penetrationsvermögen der Emanationen die Emulsion des Zentralnervensystems möglichst dünn — am besten vorher filtriert — sein muß, und daß schließlich die Flüssigkeitssäule, welche das Virus enthält, eine möglichst kleine Höhe und möglichst große Oberfläche haben muß. Dies alles soll eine möglichst innige Berührung der Emanationen mit dem Organbrei bezwecken, damit keiner seiner Teile sich ihrer Wirkung entziehen kann.

Dies ist aber noch nicht alles; es sind auch noch manche andere Bedingungen zu erfüllen, die für das gute Gelingen des Versuches sehr wichtig sind. Auf diese Bedingungen wollen wir heute in besonderer Weise die Aufmerksamkeit der Forscher hinlenken, und zwar auch aus dem Grunde, damit diese bei der Wiederholung unserer Versuche nicht Dinge vernachlässigen, die zur Erzielung sicherer Resultate durchaus unerlässlich sind.

Zunächst wollen wir daran erinnern, daß die Oeffnung des Röhrchens, welches das dem Radium ausgesetzte Virus enthält, frei sein muß oder nur einfach mit einem Wattepfropfen verschlossen sein darf.

In der Tat haben wir, unabhängig von der anderen Bedingung, von der in kurzem die Rede sein wird, gezeigt, daß es genügt, die Oeffnung des Röhrchens, in welchem die dem Radium ausgesetzte Emulsion von fixem Virus enthalten ist, hermetisch zu verschließen, um derselben ihre ganze Virulenz unverändert zu erhalten, auch wenn man sonst in jeder Beziehung die günstigsten Versuchsbedingungen wählt und die Versuchszeit länger als sonst erforderlich ist, ausdehnt.

Dies dient zum Beweise der oben erwähnten grundlegenden Tatsachen, daß nämlich die Zersetzung des Wutvirus in vitro ausschließlich durch die Emanation stattfindet; ferner zeigt es uns, daß diese die Emulsion der Organe des Zentralnervensystems erreichen, dadurch daß sie die Oeffnung des Röhrchens passieren, in welchem dieselbe enthalten ist.

In der Tat haben wir denselben Erfolg dadurch, wenn wir das Austreten der Emanationen aus dem Radiumapparat verhindern, wie in vorstehenden Versuchen getan wurde, als auch wenn mit dem Verschluss des Röhrchens das Berühren zwischen Emanationen und Hirnbrei verhindert wird; das Resultat muß dann immer dasselbe sein, d. h. infolge der Ausschaltung der Emanationen muß das Virus in beiden Fällen seine Wirksamkeit unverändert behalten.

Und da in dem zweiten Falle die Natur des Röhrchens und die Dünne seiner Wände immer derartig waren, daß sie den Strahlungen, wenigstens den wichtigeren ( $\beta$  und  $\gamma$ ), Durchtritt gewährten, und da ferner ihre geringere Intensität, die sie infolge der Ueberwindung des größeren Hindernisses erlangt hatten, auf der anderen Seite durch eine längere Dauer der Radiumexposition im Uebermaße kompensiert worden war, so kam man auf Grund dieser neuen Ergebnisse zu der Behauptung, daß die Strahlungen keinen Anteil an der Zersetzung des Wutvirus nehmen, welches in dem toten Material enthalten ist. Eine zweite Bedingung, die für das gute Gelingen des Experimentes ebenso wichtig ist, betrifft die Natur des Röhrchens, in dem das dem Radium auszusetzende Virus enthalten ist.

Wir wollen an dieser Stelle sogleich sagen, daß wir bei allen unseren Versuchen, die mit Radiumbromid in festem Zustande angestellt sind,

immer Röhrrchen aus Aluminium mit ebener Grundfläche von 112 mm Höhe und 0,3 mm Wandstärke verwendet haben.

Ersetzte man nun das Aluminiumröhrrchen durch ein Glasröhrrchen mit dünnen Wänden, welches dem Aluminiumröhrrchen in Form und Größe vollkommen gleich, so war das Resultat doch vollkommen verschieden; während man nämlich mit dem Aluminiumröhrrchen in 6 Stunden stets die völlige Zersetzung des dem Radium ausgesetzten Wutvirus erhielt, so daß dieses für ein Kaninchen bei subduraler Injektion vollkommen unschädlich war, so behielt doch dasselbe Virus trotz Anwendung derselben Versuchsanordnung und derselben oder auch manchmal sogar sehr viel längeren Expositionsdauer seine ganze Wirksamkeit in unveränderter Weise bei, wenn das Aluminiumröhrrchen in dem Apparate durch ein Glasröhrrchen ersetzt worden war. Dadurch lassen sich sehr gut viele von den Mißerfolgen, die andere gehabt haben, begreifen; denn diese haben zwar wie wir mit Radiumbromid in festem Zustande, das in den gewöhnlichen Metall- oder Ebonitkapseln enthalten war, experimentiert, haben dann aber zur Exposition des Virus Glasanstatt Aluminiumröhrrchen benutzt.

Endlich wollen wir noch hinzufügen, daß diese Tatsachen den Behauptungen Rehn's viel von ihrem Werte nehmen. Sie behalten zwar noch ihre Gültigkeit, wenn der Versuch, welcher die zerlegende Wirkung der Emanationen feststellen soll, positiv ausfällt, sie sind aber nicht mehr richtig, wenn das über die Strahlungen angestellte Experiment negativ ausfällt; denn das in dieser Hinsicht erhaltene Resultat kann sowohl von der Entfernung abhängen, in der das Röhrrchen mit dem Virus von der strahlenden Oberfläche gehalten wurde, als auch von dem Umstande, daß das Virus selbst in einem Röhrrchen aus Glas enthalten war. Die Folgerungen also, die man aus diesem Versuche ziehen will, sind durchaus nicht berechtigt.

Hiernach könnte man nun auf den Gedanken kommen, daß die Natur des Röhrrchens einen direkten Einfluß auf die Zersetzung des Virus hätte, oder daß die Emanationen durch das dazwischen liegende Metall, aus dem das Aluminiumröhrrchen besteht, eine wenn auch geringere Wirkung ausübten. Um in dieser Hinsicht jeden Zweifel zu beseitigen, genügt es, nur daran zu erinnern, daß das Wutvirus, wenn es nicht der Radiumwirkung unterworfen ist, 6 Stunden und auch länger in Aluminiumröhrrchen gehalten werden kann, ohne irgend eine Veränderung zu erleiden. Ferner kann dasselbe Virus leicht auch in Glasröhrrchen zersetzt werden, wenn wir dahin direkt die Emanationen gelangen lassen, welche aus Lösungen von Radiumsalzen ausströmen; letztere befinden sich dann in einem Röhrrchen, welches mit dem vorhergehenden durch ein U-Rohr in Verbindung steht. Dasselbe kann man erreichen, wenn man in das in einem Glasrohr enthaltene Virus die Emanationen strömen läßt, welche von dem Apparate mit festem Radium ausgehen und durch Aspiration eines schwachen Luftstromes dorthin geleitet sind. In diesem Falle ist aber entweder infolge der Vermischung der Emanationen mit Luft oder infolge ihres geringeren Kontaktes mit dem nervösen Organbrei eine größere Zeit erforderlich, um die vollkommene Zerlegung des Wutvirus zu erreichen. Welchen Einfluß kann nun die Natur der Wand des Röhrrchens, welches das Virus enthält, auf die in Rede stehende Erscheinung ausüben? Bekanntlich verhalten sich die aus dem Radiumapparate austretenden Emanationen wie ein schweres Gas; sie erheben sich also nur wenige Centimeter hoch von der

strahlenden Oberfläche und breiten sich hauptsächlich oberflächlich aus. Auf Grund dieser Tatsache kann man leicht begreifen, daß die Emanationen selbst nicht bis zur Oeffnung des Röhrchens, welche immer 11—12 cm von der strahlenden Oberfläche entfernt ist, gelangen und von selbst in sein Inneres eintreten können, indem sie die Luft im Innern allmählich verdrängen, wie dies bei Verwendung von Glasröhrchen geschieht. Wenn also in dem Falle, in dem man Röhrchen aus Aluminium verwendet, die in Rede stehenden Emanationen bis zu ihrem Boden vordringen und das darin enthaltene Wutvirus zerlegen, so bedeutet dies, daß dieses Metall in gewisser Weise zu ihrem Transporte dient.

Deshalb ist man gezwungen, Röhrchen aus Aluminium anstatt aus Glas zu gebrauchen, wenn man zur Zerlegung des Wutvirus feste Radiumsalze in der gewöhnlichen Kapsel verwendet.

Eine Bestätigung der oben erwähnten Resultate haben wir auch in einer anderen Reihe von Versuchen erhalten, bei welchen die obere Hälfte des Aluminiumröhrchens durch ein feines Glasrohr ersetzt war; letzteres war mit Mastix in der Wärme an der Berührungsfläche aufgekittet und zwar derartig, daß zwischen Metall und Glas sowohl an der äußeren wie an der inneren Oberfläche eine vollkommene Kontinuität bestand. In der Tat erlitt auch in diesen Fällen das am Grunde des Röhrchens befindliche Virus nicht die geringste Veränderung, wenn man es auch dem Radium in der gewöhnlichen Weise aussetzte und die Expositionsdauer genügend groß war, um eine vollkommene Zersetzung zu erhalten. Dies ist gleichbedeutend mit dem Satze, daß infolge der Wirkung des Glasröhrchens, welches die obere Hälfte des Aluminiumröhrchens ersetzt, die Emanationen nicht mehr bis zu dem Virus gelangen, das so seine ganze pathogene Wirkung bewahrt.

Uebrigens genügte es, daß man in der Aluminiumwand ganz in der Nähe ihrer Verbindung mit dem Glasröhrchen zwei Fenster von genügender Breite anbrachte, um die Emanationen wieder bis zu der Emulsion der nervösen Organe gelangen zu lassen und so in einer Zeit von 6 Stunden die völlige Zersetzung zu bewirken.

Vielleicht erklärt sich hierdurch die Tatsache, die wir schon beobachten und uns damals in keiner Weise erklären konnten, daß nämlich durch den Ersatz des gewöhnlichen Glimmerschirmes des Apparates durch einen Aluminiumschirm die Probe der Radioaktivität des Gehirns negativ ausfiel, welche letztere, wie wir zeigten, durch die Emanationen bedingt ist, die durch Vermittelung des Auges zu den nervösen Zentren gelangen. In diesem Falle würden die Emanationen durch den Aluminiumschirm zurückgehalten und könnten schwerer oder nur in geringerer Menge zu dem Auge gelangen; hierauf beruht das negative Resultat, das man hinsichtlich der Radioaktivität des Gehirns erhalten hat.

Da wir ferner aus allen diesen Untersuchungen gesehen haben, daß die Zerlegung des Wutvirus als ein Zeichen für das Vorhandensein der Emanationen angesehen werden kann, und da wir ferner gesehen haben, daß das Aluminium im stande ist, die Emanationen bis zu einer gewissen Entfernung und einer verhältnismäßig großen Höhe zu transportieren, so haben wir untersuchen wollen, ob man durch Vermittelung des Aluminiums die Emanationen auch in das Innere eines Glasröhrchens leiten könne. In folgender Weise haben wir nun den Versuch angestellt. Man führte ein Glasröhrchen in eins der ge-

wöhnlichen Aluminiumröhrchen ein und brachte an seiner Oeffnung in exakter Weise ein konisches auch aus Aluminium bestehendes Röhrchen an, welches wieder in das Glasröhrchen bis zu einem Abstände von 10 mm von seinem Boden hineinging; an dem inneren Aluminiumröhrchen waren dann die Ränder seiner unteren Oeffnung so in die Höhe gebogen, daß sie eine Rinne bildeten, welche eine gewisse Menge des Breies der nervösen Organe fassen konnte. So konnten wir in vergleichender Weise die Wirkungen des Radiums auf das Virus studieren, welches in Kontakt mit dem Aluminium, und auf dasjenige, welches in Kontakt mit dem Glase in kurzer Entfernung von dem vorhergehenden war.

Bei diesen Versuchen konnten wir nun wiederholt beobachten, daß sich an dem Virus, welches am Grunde des Glasröhrchens lag, der Einfluß des Radiums in keiner Weise bemerkbar machte, während dasjenige, welches sich in der Rinne des inneren Aluminiumröhrchens befand, nach der gewöhnlichen Expositionszeit von 6 Stunden vollkommen zersetzt war.

Dies bedeutet, daß man mittels des Aluminiums die Emanationen in das Innere des Glasröhrchens bis in kurze Entfernung von seinem Boden leiten konnte, daß aber diese Emanationen auch auf ihrem absteigenden Wege von dem Glase aufgehalten wurden und nicht einmal leicht in die umgebende Luft übergetreten waren, so daß das Virus, welches am Grunde des Röhrchens selbst in kurzer Entfernung von dem Aluminium (ungefähr 10 mm) lag, nicht die geringste Veränderung erlitt.

Auf Grund dieser Tatsachen kam man zu der Behauptung, daß das Aluminium tatsächlich im stande ist, die Emanationen in verhältnismäßig große Entfernungen zu transportieren, und daß ferner diese Emanationen von diesem Metall aufgehalten und angehäuft werden; sie scheinen zu ihm eine größere Affinität zu haben, als zum Glase und der Luft, in die sie nur schwer übertreten.

Wir wollen es späteren Untersuchungen überlassen, zu bestimmen, wie sich in dieser Hinsicht andere Metalle verhalten, und die Natur der in Rede stehenden Erscheinung festzustellen, d. h. ob sie zur Klasse der Leitungserscheinungen gehört oder eine einfache Adhäsionserscheinung ist, wie sie zwischen einigen Gasen und gewissen Oberflächen vorkommt.

Schließlich haben wir untersuchen wollen, wie sich das Straßenvirus gegenüber dem Radium *in vitro* verhält, und welche Beziehungen in diesem Punkte zwischen diesem und dem fixen Virus bestehen.

Die zu diesem Zwecke angestellten Untersuchungen haben in deutlicher Weise gezeigt, daß das Straßenvirus der direkten Wirkung des Radiums gegenüber sehr viel widerstandsfähiger als das fixe Virus ist. Während sonst bei einem Radiumpräparate von 2 cg mit 100000 R.-E. eine Expositionszeit von 6 Stunden genügt, um konstant und vollkommen das fixe Virus zu zersetzen, reichen 6—12—18 Stunden Exposition nicht aus, um mit demselben Radiumpräparate und unter denselben Versuchsbedingungen das Straßenvirus endgültig unwirksam zu machen; dazu gehören wenigstens 24 Stunden.

Um also beim Straßenvirus dieselben Wirkungen wie beim fixen Virus zu erreichen, muß die Expositionszeit 4mal so groß sein. Dies bedeutet, daß die Widerstandsfähigkeit des Straßenvirus gegenüber dem

Radium 4mal so groß als die des fixen Virus sein muß. Diese höchst interessante und jeder logischen Vermutung widersprechende Tatsache kann nur von zwei Gründen abhängen: entweder von einer größeren Widerstandsfähigkeit der Keime, welche sich in den letzten Entwicklungsstadien des Straßenvirus finden, gegenüber denen des fixen Virus, oder, was wahrscheinlicher ist, von dem Umstande, daß im ersten endocelluläre Formen vorkommen, welche im zweiten fehlen und bei dem geringen Penetrationsvermögen der Emanationen schwerer von diesen angegriffen werden.

Im letzteren Falle würde die biologische Untersuchung die Resultate der mikroskopischen Beobachtung bestätigen, insoweit sie sich auf das Vorkommen von besonderen endocellulären Formen Negrischer Körper im Straßenvirus und auf die spezifische Bedeutung beziehen, die man diesen Gebilden beigelegt hat.

Auf jeden Fall kann die verschiedene Widerstandsfähigkeit der beiden Arten des Wutvirus gegenüber dem Radium nur von der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der betreffenden Keime je nach ihrer Entwicklung oder ihrem Sitze abhängen.

*Nachdruck verboten.*

## Die Bedeutung der Bakterizidie für die Immunität gegenüber Typhus und Cholera.

### Kritik der Ballschen Anschauungen.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Königsberg i. P.  
(Direktor: Prof. R. Pfeiffer.)]

Von **E. Friedberger.**

Im Laufe der letzten beiden Jahre hat Bail eine neue Theorie zur Erklärung der Immunitätsverhältnisse bei gewissen Infektionskrankheiten aufgestellt und mit einer Reihe von Mitarbeitern in zahlreichen Arbeiten zu stützen gesucht. Diese Theorie, die Aggressintheorie, erstrebte es, die Lehre von der bakteriziden Immunität zu verdrängen und an deren Stelle zu treten. Zu dem Zwecke wurden zunächst eine Reihe von Versuchen angestellt, die die Unzulänglichkeit der von Pfeiffer begründeten und von ihm und seiner Schule im wesentlichen aufgebauten Lehre darzutun suchten. Diese Experimente und ihre Diskussion bilden im wesentlichen den Inhalt der ersten ausführlichen, hierher gehörigen Publikationen des Prager hygienischen Institutes<sup>1)</sup>.

Inzwischen ist die in den folgenden Arbeiten Bails und seiner Mitarbeiter weiter ausgebaute eigentliche Aggressintheorie durch die Arbeiten von Wassermann und Citron<sup>2)</sup>, Pfeiffer und Scheller<sup>3)</sup>, Dörr<sup>4)</sup> u. A. mit Erfolg bekämpft worden, und wir können heute sagen, daß sie der Kritik in keiner Weise stand zu halten vermocht hat.

Das ist eine Auffassung, die auch gelegentlich der Tagung der Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin einmütig zu Tage trat.

1) Arch. f. Hyg. Bd. LII.

2) Wassermann u. Citron, Dtsche med. Wochenschr. 1905.

3) Pfeiffer u. Scheller, Verhandl. d. Ges. f. Mikrobiologie.

4) Dörr, Dieses Centralbl. Bd. XLI.



Scheint somit die Aggressintheorie als solche endgültig erledigt, so bedürfen doch noch die Argumente, die Bail gegen die Lehre von der Bakterizidie vorgebracht hat, einer ausführlichen Besprechung und Diskussion, da auf diese Seite der Frage in den bisherigen Veröffentlichungen kaum eingegangen worden ist.

Die betreffende Arbeit Bails befaßt sich im wesentlichen mit der Immunität bei Typhus und Cholera, zwei Krankheiten, bei denen mehr, als bei irgend welchen anderen, bereits auf umfassende Studien begründete Anschauungen über die Immunitätsvorgänge vorliegen.

Hier läßt sich also besonders leicht beurteilen, was die Bailschen Ausführungen sachlich Neues bringen, inwieweit sie geeignet sind, unsere bisherigen theoretischen Anschauungen zu modifizieren.

Ich will nun die Argumente, auf welche Bail sein absprechendes Urteil über die bakteriolytische Immunität stützt, an der Hand seiner Arbeit Schritt für Schritt verfolgen und kritisch beleuchten.

Bail beginnt damit, den Beweis zu erstreben, daß bei der Typhusinfektion beim natürlichen Hergang des Geschehens in vivo ein bakterizides Immunserum gänzlich versagt.

Er fand nämlich (Tab. III, p. 285) bei Einspritzung von Typhuskeimen in die Blutbahn von Kaninchen, wenn die Tiere nach 16 bis 24 Stunden getötet wurden, keinerlei Unterschied im Keimgehalt der Organe, einerlei, ob den Tieren außerdem intravenös Typhusimmunserum beigebracht war oder nicht.

Da die Immunserummengen ziemlich beträchtliche waren, so folgert Bail daraus die Unzulänglichkeit der bakteriziden Immunsera gegenüber Typhus. Diese Schlußfolgerung ist jedoch in keine Weise gerechtfertigt. Das Resultat dieser Versuche hätte Bail bei genügender Berücksichtigung des Tatsachenmaterials, welches ihm in den Arbeiten Pfeiffers und seiner Schüler zu Gebote stand, voraussehen können.

Seine Immuntiere konnten sich gar nicht anders verhalten als die Kontrollen, auch wenn Bail noch größere Dosen von Immunserum verwendet und dieses selbst gleichzeitig mit dem Virus injiziert hätte.

Selbst bei Verwendung aktiv immunisierter Kaninchen habe ich keine anderen Resultate erhalten als wie Bail. Bail hat hier gar nicht berücksichtigt, daß jedes Normalkaninchen an sich schon sehr erhebliche Mengen von bakteriolytischen Typhusambozeptoren in seinen Körpersäften enthält. Der Titer des normalen Kaninchenserum gegen Typhus liegt nach meinen Versuchen bei etwa 0,3 ccm. Wenn wir, was wenig gerechnet ist, im Kubikcentimeter des Normalkaninchenserums auch nur eine lösende Einheit für Typhusbacillen annehmen, so enthält das Gesamtblut dieses Tieres mindestens 40, wahrscheinlich aber noch viel mehr I.E., also überschüssig genug Ambozeptor und sicher auch genug Komplement, für die Bakteriolyse von  $\frac{1}{2}$ —2 Oesen, ja selbst von einer ganzen Agarkultur „wenig virulenten Typhus“. Es muß deshalb von vornherein zwecklos erscheinen, durch Einführung noch weiterer überschüssiger Mengen von Immunambozeptoren einen Unterschied zwischen den derartig behandelten Tieren und den Kontrollen demonstrieren zu wollen.

Dennoch sind diese Versuche auch nicht im geringsten geeignet, die Bedeutung der Bakteriolyse an sich herabzusetzen.

Das Einzige, was sie wieder von neuem lehren, ist die schon längst bekannte Tatsache, daß, in die Blutbahn eingeführt, die Bakterien zum Teil der Bakteriolyse zu entgehen vermögen. Zur Erklärung dieser

Tatsache dürften wir wohl unter anderem rein mechanische Momente heranziehen. So wissen wir, daß Bakterien in einem Wattebäuschchen vor der intensiven Berührung durch das Serum geschützt, der Auflösung auch in vitro nicht anheimfallen.

Auch in dem engen Kapillargebiet müssen sich zahlreiche ähnliche Schlupfwinkel für die Bakterien finden, wo sie gegen die bakteriolytischen Einflüsse mehr oder weniger geschützt sind.

Ferner sind die Befunde der bekannten Arbeit von Wyssokowitsch<sup>1)</sup> hier zur Erklärung heranzuziehen; er sah die in das Blut eingespritzten Bakterien alsbald verschwinden und konnte nur in den Leukocyten und in den Endothelien der Gefäße diejenigen Exemplare wiederfinden, die der Bakteriolyse im strömenden Blute zu entgehen vermochten. Aber selbst im Peritoneum, wo auch Bail die leicht zu beobachtende bakterizide Wirkung gelten läßt, liegen die Verhältnisse nur quantitativ nicht qualitativ anders, und die Differenzen sind nur durch die besonderen anatomischen Verhältnisse bedingt.

Schon Gruber hat gezeigt, daß in den Buchten des Peritonealsackes und besonders innerhalb von Leukocytenhaufen die Bakterien von der deletären Wirkung der bakteriziden Flüssigkeit geschützt, sich noch lange nach dem scheinbaren Ablauf des Infektionsprozesses in wohl erhaltenen Exemplaren nachweisen lassen und Böhm<sup>2)</sup> ist die Züchtung derartiger Bakterien bei Versuchen mit Vertretern der Paratyphusgruppe aus dem Peritoneum des Meerschweinchens noch nach Wochen gelungen.

Nach alledem sind diese Bailschen Versuche nicht geeignet, als Beweismaterial in der Frage über die Bedeutung der Bakterizidie überhaupt eine Rolle zu spielen.

Das gilt noch mehr von den weiteren Versuchen, in denen Serum intravenös gegeben wurde und Kultur intrapleural oder zugleich auch intravenös (l. c. p. 288).

Dabei waren in den meisten Fällen von der Typhuskultur Mengen genommen worden, die so groß waren, daß man schlechterdings keinen Unterschied in der Keimzahl zwischen Versuchstier und Kontrolltier erwarten durfte.

Welchen Zweck verfolgt Bail wohl mit Versuchen, in denen er (Kaninchen No. 25) injizierte „1 ccm Edgarserum nach 1 Stunde  $\frac{1}{4}$  Agarkultur Typhus i. v.  $\frac{1}{2}$  Agarkultur ipl.“ (l. c. p. 289 unten) von einem „zu allen Versuchen benutzten Typhusstamm ‚Dobschan‘“ (p. 283). „Er tötete Meerschweinchen von 200 g bei intraperitonealer Injektion mit  $\frac{1}{5}$  Oese. Später stieg die Virulenz durch zahlreiche Impfungen sehr beträchtlich, so daß mit  $\frac{1}{15}$  Oese die kleinste tödliche Zahl noch nicht erreicht war.“

„Fortlaufende genaue Bestimmungen der Virulenz“ — so führt Bail weiter aus — „erschieden für den Zweck dieser Untersuchungen ebensowenig notwendig, als die damit verbundenen, auf kleine Bruchteile eines Kubikcentimeters sich erstreckende Auswertung des bakteriziden Immunserums. Nur darauf war Rücksicht zu nehmen, daß die angewandten Mengen desselben in Beziehung zur steigenden Virulenz der Bacillen gehalten wurden (Pfeiffer und Kolle)<sup>3)</sup>“.

Wenn Pfeiffer und Kolle in diesem Sinne wohl darauf hinge-

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. I.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. L.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXI.

wiesen haben, daß für virulentere Keime größere Mengen von Immuns serum benötigt werden, so hat doch auch R. Pfeiffer<sup>1)</sup> schon in seinen ersten grundlegenden Arbeiten über Bakterizidie immer wieder betont, daß für bakterizide Sera im Gegensatz zu antitoxischen das Gesetz der Multipla nicht gilt, eine Tatsache, die längst in alle Lehrbücher übergegangen ist und es schwer verständlich erscheinen läßt, wie man ausreichende Bakterizidie erwarten kann, selbst bei Injektionen von 1 ccm Immuns serum, wenn intrapleurale  $\frac{1}{3}$  Agarkultur des vorerwähnten Typhusstammes gegeben wird.

Es ist zudem noch daran zu erinnern, daß diese an und für sich enorme Immuns erumdosis nicht etwa mit den Bakterien zugleich zum Teil intrapleurale, sondern endovenös gegeben wurde, also

1) eine nicht unbeträchtliche Verdünnung erfuhr und

2) an den Ort der wesentlichen Infektion (in die Pleura) nur in minimalen Bruchteilen gelangt sein dürfte.

Man wird einwenden, daß keineswegs alle Versuche mit diesen enormen Dosen angestellt sind und vielleicht sind die anderen Versuche beweisender. Obwohl auch in diesem Teil der Bailschen Arbeit jegliche Vorversuche über die Dosis letalis des Typhus bei intrapleuraler Injektion an Kaninchen über die Grenzen der Wirkung des benutzten Serums unter den vorliegenden Bedingungen fehlen, so sei doch davon abgesehen und auch diese Versuche seien nach den vorliegenden Protokollen einer eingehenden Kritik unterzogen.

Wenn wir bezüglich der Versuche 13 und 14 ( $\frac{1}{4}$  Agarkultur iv.,  $\frac{1}{4}$  Agarkultur ipl.), 19 und 20 ( $\frac{1}{4}$  Agarkultur ipl.), 25, 26 ( $\frac{1}{4}$  Agarkultur iv.,  $\frac{1}{3}$  Agarkultur ipl.), 27, 28, 29 ( $\frac{1}{2}$  Agarkultur ipl.), 32, 33, 38, 39 ( $\frac{1}{4}$  Agarkultur ipl.) auf die vorhergehenden Ausführungen verweisen, so bleiben noch 4 Versuchsreihen mit kleineren Bakterien Dosen übrig.

In Versuch 15 wurde das Serum mit Kultur endovenös und  $\frac{1}{4}$  Stunde später noch Kultur intrapleurale gegeben; Kontrolltier ebenso ohne Serum. Da aber die Tiere bereits nach 3 Stunden getötet wurden, so kann der Prozeß bei dem Immuntier unmöglich schon abgelaufen sein; wir sehen zwar im Blut bedeutende Differenzen in der Keimzahl zu Gunsten des immunisierten Tieres, können uns aber nicht wundern, daß in den Organen und im Exsudat derartige Unterschiede innerhalb der kurzen Zeit, die bis zur Tötung der Tiere verflossen ist, nicht hervortreten.

Wenn nach vorheriger passiver Immunisierung die Tiere mit Dosen von  $\frac{1}{2}$ —1 Oese intrapleurale geimpft wurden und die Tiere lange genug am Leben blieben, um den bei der lokal und zeitlich getrennten Injektion von Serum und Bakterien naturgemäß sehr in die Länge gezogenen Auflösungsprozeß zur Vollendung kommen zu lassen, so sehen wir ausnahmslos eine ganz bedeutend stärkere Bakterizidie im Versuchstier als bei der Kontrolle.

In den hierhergehörigen Versuchsreihen mit den Tieren No. 17 und 18 sowie 67 und 66 tritt das in ganz eklatanter Weise zu Tage, trotzdem doch Serum und Bakterien örtlich und zeitlich getrennt gegeben wurde und natürlich nur geringe Mengen der im Blut kreisenden Immunkörper in die Pleura gelangten; immer noch genug, um  $\frac{1}{2}$ —2 Oesen Bakterien hier zu vernichten, natürlich aber nicht genug für  $\frac{1}{2}$  Kultur und mehr.

Bei dem Tier No. 17 sind z. B. bei der 16 Stunden nach der Bacillen-

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII.

einspritzung erfolgten Tötung im Peritonealexsudat noch 4 Keime, bei dem Kontrolltier (No. 18) 2392, d. h. 600mal mehr Keime. Bei der anderen Versuchsreihe ist das Verhältnis 21 200 : 408 (in 0,3 Exsudat).

Diese Versuche demonstrieren also die hohe Bedeutung der Serum-bakterizidie, und wenn sie in den übrigen Versuchen dieser Bailschen Tabelle nicht zu Tage tritt, so liegt es einzig und allein in den ganz und gar ungünstigen Bedingungen, unter denen diese Versuche an- gestellt wurden. Aus diesem Grunde entbehren aber die Experimente auch jeglicher beweisenden Kraft.

In den nun folgenden Versuchen will Bail den Beweis er- bringen, daß die Immunsera im Organismus passiv im- munisierter Tiere nicht wirken, sondern nur im Reagenz- glasversuch, daß im Körper die Organzellen selbst die bakterizide Wirkung hemmen.

Dafür sprechen ihm zwei Tatsachen:

1) Wenn ein Kaninchen, das eine größere Menge Immunserum mit Typhusbakterien endovenös erhalten hat, nach 3 Stunden getötet wird, so finden sich in den Organen noch massenhaft Bakterien.

Tötet man aber ein derartig behandeltes Tier sofort nach der Bak- terieninjektion und bringt eine Emulsion der Organe in Blutserum in den Thermostaten, so soll eine deutliche Bakterizidie innerhalb von 3 Stunden statthaben.

Es soll aber nicht nur zu einer stärkeren Bakterizidie in vitro kommen, sondern in vitro sollen auch die Differenzen in der Bakterizidie hervortreten zwischen immunisierten Tieren und Kontrollen, die Bail in vivo vermißte.

Das Serum dieser Tiere an sich erwies sich in vitro außerordentlich bakterizid, verlor jedoch diese Eigenschaft bis zu einem gewissen Grade nach Zusatz von Organbrei der Versuchstiere.

Dieser Verlust war nun ein höherer bei dem Serum der Kontroll- tiere, und auf diese Weise zeigten also in vitro die Organ-Serumemul- sionen der immunisierten Tiere stärkere Bakterizidie.

Da, wie mehrfach erwähnt, im Organismus überhaupt keine Diffe- renzen im Keimgehalt zwischen den immunisierten Tieren und den Kon- trollen vorhanden waren, so schließt Bail aus seinen Versuchen — die übrigens keineswegs konstant und in keiner Weise eklatant, das erwähnte Resultat zeitigten — „daß die Bacillentötung im Tierkörper nicht in der Weise erfolgen kann wie im Glasversuch“.

Es sind bereits oben die Gründe auseinandergesetzt worden, aus denen in corpore kein erheblicher Unterschied in der Bakterizidie hervor- trat. Daß andererseits in vitro auch bei Gegenwart von Organzell- emulsionen eine stärkere Keimtötung erfolgt als in vivo, ist aus den gleichen Gründen verständlich. Auch in einer Zellemlusion werden natürlich die Bakterien in weit höherem Grade der Wirkung eines Immunserums ausgesetzt sein als im engen Lumen der Körperkapillaren, zumal ständig eine Serummenge mit den Bakterien in Kontakt ist (1 ccm), die kaum geringer ist als die, welche im engen Kapillargebiet in der gleichen Zeit an das Bakterium herantritt. Dazu kommt die längst bekannte keimtötende Wirkung gewisser Organzellen an sich, die eine Analyse der Versuche fast unmöglich macht und die Resultate Bails jedenfalls nicht eindeutig erscheinen läßt.

Die starke Bakterizidie in den Versuchen, in denen Knochenmark mit Serum vereint gegeben wurde, ist wohl auf die primäre keim-

vernichtende Eigenschaft des nukleinsäurereichen Organs zurückzuführen und nicht, wie Bail meint, darauf, daß gerade das Knochenmark „die keimtötende Serumwirkung in den meisten Fällen ungeschädigt läßt“. Die Tatsache also, daß *in vitro* in Organemulsionen die Bakterien leichter vernichtet werden, als es dieselben Organe *in vivo* vermögen, ist auf die einfachste Weise zu erklären.

Aber auch die Tatsache, daß *in vitro* zwischen den Organen der immunisierten Tiere und der Kontrollen jener Unterschied zu Tage tritt, der bei den Versuchen *in vivo* vermißt wurde, findet eine einfache Erklärung. Die sicher vorhandene bakterizide Wirkung der Organserumemulsionen (von der, wie gesagt, eine nicht näher bestimmte Quote auf die vorerwähnte primäre Organwirkung fällt) ist natürlich durch die aus den Untersuchungen von Wilde<sup>1)</sup>, Bail, Dungern<sup>2)</sup> u. A. bekannte komplementbindende Funktion der Körperzellen stark eingeschränkt.

Wenn die Einwirkung der Organzellen die Serumwirkung im Kontrolltier mehr schädigt als im passiv immunisierten, so dürfte das damit zusammenhängen, daß bei letzterem der Ueberschuß von Ambozeptoren schon eine Bakterizidie mit kleinsten Komplementmengen ermöglicht, die der Bindung an die Zellen entgangen sind. Wissen wir doch aus den Untersuchungen von Morgenroth, daß bei Ambozeptorüberschuß schon minimale Komplementmengen zur Aktivierung genügen.

Als weiteren „Widerspruch zwischen Reagenzglas- und Tierversuch“ führt Bail Experimente an, in denen leukocytenfreies Exsudat ausgesprochene bakterizide Wirkung entfalteteten im Gegensatz zu leukocytenhaltigen.

Dem Leser wird diese Tatsache zunächst sehr unerwartet kommen. Ist es doch im Anschluß an die grundlegenden Versuche von Denys und Kaisin<sup>3)</sup> von zahlreichen Autoren immer wieder behauptet worden, daß gerade proportional dem Leukocytengehalt das bakterizide Vermögen eines Exsudates zunimmt, eine Ansicht, die allerdings keineswegs unbestritten feststeht.

Es bedarf eigentlich eine Versuchsreihe, bei der gerade „von 5 Versuchen 3 dieses Ergebnis hatten“, keiner Besprechung; wenigstens läßt ein so ungleiches Resultat keinerlei bestimmte Deutung zu. Aber immerhin seien auch diese Versuche besprochen, weil sie besonders eklatant zeigen, wie bedenklich es ist, aus derartigen vereinzelt Versuchen Schlüsse zu ziehen, wie Bail es tut.

Er fand die Exsudate einiger seiner passiv immunisierten und dann intrapleurale geimpften Kaninchen, die reich an Leukocyten waren, *in vitro* ebensowenig bakterizid, als es die Exsudate von Kontrolltieren waren. Nach sorgfältigem Zentrifugieren erwiesen sich aber die Exsudate — die also von den Leukocyten zum größten Teil befreit waren — bakterizid in hohem Grade und nunmehr nicht nur die Exsudate der passiv immunisierten Tiere, sondern in gleicher Weise die der Kontrolle. An die Möglichkeit, daß dieses „widersinnige“ Verhalten vielleicht auf die durch das scharfe Zentrifugieren bedingte Schädigung der Keime zurückzuführen sein könnte, scheint Bail nicht gedacht zu haben, wenigstens vermissen wir Kontrollversuche, die geeignet wären, diesen Einwand *ad absurdum* zu führen. Ich selbst habe in zahlreichen Versuchen stets die Be-

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. p. 476.

2) Münch. med. Wochenschr. 1900. p. 677.

3) La Cellule. 1893.

obachtung gemacht, daß scharfes Zentrifugieren die Bakterien ungemein schädigt und sie der Serumwirkung gegenüber empfänglicher macht.

Eigentlich läßt schon die Beobachtung, daß die Bakterizidie in den Immunexsudaten wie den Kontrollexsudaten in gleicher Weise erfolgte, vermuten, daß die Schädigung hier voraussichtlich außerhalb des Exsudates selbst ihren Sitz hat.

Versuche mit intravenöser Bacilleninjektion an passiv immunisierten Meerschweinchen führten wie die Kaninchenversuche zu dem Ergebnis, daß in der Mehrzahl der Fälle das Immunserum im Organismus versagt habe.

Auch hier finden sich bei den Immuntieren meist nicht weniger Bakterien in den Organen als bei den Kontrollen; zur Erklärung verweisen wir auf die entsprechenden Ausführungen bei den Kaninchenversuchen.

Abgesehen davon, wurden die Tiere viel zu früh, nach 3 resp. 7 und 8 Stunden, getötet, zu einer Zeit, wo man noch nicht eine so vollständige Keimvernichtung im Organismus erwarten durfte, daß nicht bei der Aussaat immerhin beträchtlicher Mengen von Organemulsion noch eine relativ große Zahl von Bakterien zur Entwicklung kam.

In dem einen Versuch, in dem die Tötung der Tiere erst nach 18 Stunden erfolgte, waren die Organe fast keimfrei, allerdings auch beim Kontrolltier, was nach unseren Auseinandersetzungen bei den Kaninchenversuchen nicht verwunderlich ist.

Aus allen seinen Typhusversuchen zieht also Bail den Schluß: Die Bakterizidie ist ein Reagenzglasphänomen; da sie aber im Tierkörper wenigstens in der Bauchhöhle unzweideutig auftritt, so sieht er sich zu dem weiteren Schluß genötigt, daß die Bauchhöhle der Meerschweinchen dem Reagenzglas als gleichwertig zu betrachten ist.

Durch eine möglichst ungünstige Versuchsanordnung, passive Immunisierung mit heterologem Serum mehr oder weniger lange vor der Infektion, Anwendung kolossaler Virusdosen, übermäßig frühe Tötung der Tiere, gelangt er in der Tat zu dem Resultat, daß ein bakterizides Immunserum unter gewissen Bedingungen versagt; das ist aber nichts Neues, sondern es handelt sich um Dinge, die schon der Entdecker der bakteriziden Sera gefunden hatte und die ihn eben zu einer weisen und vorsichtigen Begrenzung ihrer Wirkungsmöglichkeiten speziell ihres Heilwertes veranlaßt hatten.

Die Versuche mit passiv gegen Cholera immunisierten Kaninchen und entsprechenden Kontrollen unter endovenöser Applikation des Virus haben zu keinem für Bail befriedigenden Resultate geführt, da, wie er selbst betont, im allgemeinen das Kaninchen gegenüber der Cholerainfektion vom Blute aus wenig empfänglich ist, so daß auch das Kontrolltier vermöge der ihm eigenen normalen bakteriziden Kräfte die Vibrionen im Blute zu vernichten vermag.

In den Fällen, in denen jedoch die Virusmengen und die übrigen Bedingungen des Versuches richtig gewählt waren, sehen wir eine unzweifelhafte Wirkung des Immunserums. Es ist zu bedauern, daß der Autor einerseits derartig gewählte Versuchsbedingungen nicht durch entsprechende Dosierungen bei seinen Typhustieren ausfindig gemacht hat, andererseits die Choleraersuche nach diesem einen positiven Versuche sogleich abbricht, indem ihm nun allerlei Bedenken gegen die Versuchsanordnung aufstoßen, die viel eher bei den Typhusversuchen angebracht waren. Immerhin liefern die nun folgenden zahlreichen Versuche an

Meerschweinchen eine weitere Stütze für die bakterizide Wirkung der Sera im Tierversuch.

Daß die Cholera-vibrionen im allgemeinen leichter als die Typhusbakterien der Bakteriolyse unterliegen, ist ja bekannt. Deshalb gelten aber *ceteris paribus* die Gesetze der Bakteriolyse nicht minder für den Typhusbacillus.

Wenn man für den Cholera-vibrio die extrem ungünstigsten Bedingungen wählen würde, unter denen gerade noch Lyse erfolgt, so würde sie unter diesen Verhältnissen bei Typhus wohl ausbleiben. Will man also den Beweis erbringen, daß auch gegenüber der Typhusinfektion ein bakteriolytisches Serum unwirksam ist, so muß man notwendigerweise die durch die größere Resistenz des Typhuserregers gebotenen günstigeren Bedingungen für die Bakterizidie wählen und darf nicht Unmögliches vom Serum verlangen. Das erscheint so selbstverständlich, daß man es nicht für nötig halten sollte, daraufhin noch einmal besonders die Protokolle von Bail anzusehen.

Da findet man denn zum höchsten Befremden, daß der Autor gerade umgekehrt verfahren ist, daß er in den Cholera-meerschweinchenversuchen Virus und Serum gemischt, in den Typhuskaninchenversuchen das Serum fast immer und zum Teil geraume Zeit vorher einspritzte, hier mit relativ kleinen, dort mit meist kolossalen Bakteriendosen gearbeitet hat.

Die Typhusmeerschweinchenversuche, die den Cholera-versuchen mit dieser Tierart entsprechen, weisen den schon gerügten prinzipiellen Fehler auf, daß die Tötung der Tiere für Typhus relativ zu früh erfolgte. Das ist der Grund, weshalb Bakterien in den Organen noch in relativ großen Mengen gefunden wurden.

Wenn das bei Cholera-versuchen nach der gleichen Zeit nicht der Fall ist, so liegt das eben darin, daß sie schon im strömenden Blute der gänzlichen Vernichtung anheimgefallen sind; Bakterizidie besteht hier wie dort, und man kann auch bei Typhus das Vordringen der Keime in die Organe hindern, wenn man nur der höheren Serumresistenz entsprechend kleinere Mengen von Virus einspritzt, ebenso wie man die Cholera-vibrioneninvasion in die Organe ganz in der Hand hat und durch Injektion entsprechend größerer Virusmassen leicht erreichen kann.

Hätte Bail zunächst genau die Dosis *minimalis* bei Cholera und Typhus festgestellt, die innerhalb einer gewissen Zeit bei gleich schweren Versuchstieren eine bestimmte Bakterienvermehrung resp. Erhaltung der eingebrachten Keime ergeben hätte und hätte er in seinen Versuchen immer nur Tiere, die ein bestimmtes, aber nicht zu hohes Multiplum dieser Bakteriendosis erhalten hätten, teils mit, teils ohne Immunisierung (als Kontrollen) benutzt, so hätte er ohne Zweifel eine deutliche Einwirkung der Bakterizidie nicht nur bei den Cholera-versuchen, sondern innerhalb engerer Grenzen auch bei den Typhusversuchen beobachten müssen.

Zwischen der Cholera- und Typhusimmunität in Beziehung zur Bakterizidie besteht also kein qualitativer, nur ein quantitativer Unterschied. Hier wie dort ist es kein Kunststück, unter entsprechend gewählten Bedingungen experimentell die Grenze der Wirksamkeit des Immunserums zu erreichen; daß sie bei der Typhusinfektion leichter und eher erreicht ist als bei Cholera, kann aber logischerweise nicht als Beweis einer absoluten Verschiedenheit angesehen werden.

Erkennt, nach dem, was vorher gesagt ist, also Bail eine bakterizide Wirkung des Immunserums für die Cholera innerhalb der Blutbahn

wenigstens an, so leugnet er sie doch für die Bakterien, die einmal in das Gewebe eingedrungen sind. Um diese Behauptung zu beweisen, verfällt Bail auf eine Versuchsanordnung, die ganz unberechenbar ist.

Er spritzt die Mischung des artfremden Immunserums (das dazu noch phenolisiert ist!) in Mengen von 0,05—0,1 ccm zusammen mit den Bakterien ( $\frac{1}{25}$ — $\frac{1}{75}$  Oese) in das Nierenparenchym des Versuchskaninchens.

Da der Autor dann noch nach einer Zeit, die zwischen 3, 5, 10 und 12 Stunden in den einzelnen Versuchen schwankt, in der Niere der getöteten Tiere in vielen Versuchen noch allerdings höchstens bis zu 30 000 Keimen im ganzen Organ findet, so glaubt er sich zu dem Schlusse berechtigt: „Es hört somit auch für die so empfindlichen Choleravibrionen die Bakteriolyse im Gewebe auf.“

Dieser Schluß erscheint uns um so weniger angebracht, wenn Bail weiter sagt: „Allerdings gelang die Einspritzung nur in einem Bruchteil der Fälle so gut, daß dabei mit freiem Auge sichtbare Zertrümmerungen des Nierengewebes vermieden werden.“

Vielleicht handelt es sich in diesem „Bruchteil der Fälle“ von im ganzen 8 protokollierten Versuchstieren um die 4 Tiere, bei denen von  $\frac{1}{50}$  eingespritzter Oese nach  $3\frac{1}{2}$  resp. 10 Stunden in der ganzen Niere nur noch 38 resp. 19 Keime gefunden wurden, oder um die Fälle, in denen nach 3 resp. 5 Stunden noch 900 resp. 7000 Keime da waren.

Aber auch in den anderen Fällen, in denen größere Mengen von Keimen aus der Niere gezüchtet wurden, betrug die Menge nie mehr als 31 000 3 Stunden nach der Injektion von  $\frac{1}{30}$  Oese Cholera. Trotz der mit bloßem Auge sichtbaren Zertrümmerung des Nierenparenchyms hat also offenbar noch eine beträchtliche Zerstörung der Cholerakeime in kurzer Zeit stattgehabt, und wenn derartige Versuche, bei denen wiederum die notwendigsten Kontrollen, vor allem Kontrollversuche mit normalen Tieren, fehlen, überhaupt für etwas sprechen, so keineswegs für eine Aufhebung der Cholerabakterizidie durch die Gewebe.

Durch diese Versuche war keineswegs „die Grenze der Wirkungsmöglichkeit der bakteriziden Bluteigenschaften festgestellt“, wenigstens nicht die untere Grenze, wie Bail das annimmt. Die Experimente zeigen vielmehr, wieviel die Bakterizidie auch unter ungünstigsten Bedingungen noch zu leisten im stande ist.

Im vorausgegangenen ist wohl klar erwiesen, daß die Bailschen Beweisführungen nicht im stande sind, die Bedeutung der Wirkung bakterizider Sera zu widerlegen. Er selbst muß ja eine solche Wirkung für die Cholera unter gewissen Bedingungen anerkennen.

Doch sucht er nunmehr den Beweis zu erbringen, „daß gesteigerte Bakteriolyse nicht die Ursache einer wahren Immunität sein könne.“

Zunächst wendet er sich gegen die Deutung des Pfeifferschen Versuches. Das Peritoneum des lebenden Tieres ist ihm dabei ein völliges Analogon des Reagenzglases, wenn er sagt (p. 317/18): „Ein geschlossener, auf  $37^{\circ}$  erwärmter Raum mit einer dem Serum entsprechenden Flüssigkeit, die sehr zellarm ist, erfüllt . . . viel anders könnte man auch das zu bakteriziden Versuchen dienende Reagenzglas nicht beschreiben.“

Das ist denn doch ein etwas hinkender Vergleich.

Im Reagenzglas haben wir einen Status, eine bestimmte, nicht vermehrungsfähige Menge der auf die Bakterien einwirkenden Stoffe dazu aus dem Verband des Organismus gelöst.

Das Peritoneum aber ist und bleibt ein lebendes Organ, wenn es



auch mit dem Reagenzglas das eine gemein hat, daß es einen Hohlraum umschließt. Die Wände sind hier lebend, sie sezernieren fortwährend bakterienfeindliche Stoffe und resorbieren andere. Kurz, wir haben hier an Stelle eines gegebenen Zustandes einen fortlaufenden Prozeß.

Wenn Bail auch die Bakterizidie im Unterhautzellgewebe dadurch erklärt, daß durch die „gewaltsame Einspritzung“ ein Hohlraum gebildet werde, der wie die Meerschweinchenbauchhöhle zur Entfaltung der Bakteriolyse erst die Bedingungen biete, so hat er offenbar denn doch eine ganz falsche Vorstellung über die Wirkung der Injektion von 0,5—1,0 ccm Flüssigkeit unter die Haut.

Gegen die Bedeutung des Pfeifferschen Phänomens für die Deutung der bakteriziden Immunität führt Bail 3 Argumente ins Feld.

Der erste Beweis ist der von ihm sogenannte Metschnikoffsche Versuch, welcher kurz besagt, daß bei einem passiv immunisierten Tiere die Granulabildung im freien Peritoneum unterbleibt, sobald Leukocyten zahlreich vorhanden sind, welche dann ihrerseits aktiv das Zerstörungswerk vollziehen.

Die völlige Richtigkeit und Eindeutigkeit dieser Tatsache zunächst einmal zugegeben, spricht sie denn wirklich dafür, daß wir bei der Immunität im Metschnikoffschen Phänomen den natürlichen Hergang des Geschehens vor uns haben, und daß das Pfeiffersche Phänomen sozusagen das abnorme Verhalten — einen Spezialfall, wie Metschnikoff selbst einmal sagt — vorstellt?

Um das Metschnikoffsche Phänomen darzustellen, d. h. um es zu erreichen, daß die Typhus- oder Cholerabakterien beim passiv immunisierten Tiere nicht im freien Raume der Bauchhöhle, sondern in den Zellen der Vernichtung anheimfallen, ist es erforderlich, bei dem Tiere künstlich durch Aleuronateinspritzung eine Eiteransammlung in der Bauchhöhle herbeizuführen.

Dann kann man, wie es auch die Bailschen Versuche dartun, erreichen, daß nur wenige Vibrionen in der freien Bauchhöhlenflüssigkeit der Bakteriolyse unterliegen, daß die Mehrzahl der Granula sich innerhalb von Leukocyten vorfindet. Es sei ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die Immunserummenge, die Bail in diesen Versuchen gab, relativ sehr gering war, 0,01 ccm Serum Edith resp. 0,005 ccm Serum Pfeiffer subkutan, von dem, wie es p. 305 heißt, 0,001 ccm vor einer Oese virulenter Kultur ohne weiteres schützte. Genauere Angaben über den Titer dieses Serums fehlen. Unter der Annahme, daß er dem des Serums Pfeiffer entsprochen habe (offenbar war er geringer, sonst hätte nicht Bail hier die doppelte Dosis gegeben), hätte die subkutan injizierte Dosis nur 60—120 I.E. betragen. Davon trat genug in die Bauchhöhle, um beim Kontrolltier die Infektion in 30 Minuten zum Ablauf zu bringen, während das Aleuronattier noch nach 50 Minuten Vibrionen enthielt. Ich will ganz die Frage übergehen, ob die von den Leukocyten aufgenommenen Bakterien intakte Individuen darstellen, die noch nicht dem Einfluß der bakteriziden Körperflüssigkeit unterlegen sind, ich beachte auch weiter gar nicht die höchst bemerkenswerte Tatsache, daß bei Abwesenheit von Leukocyten im passiv immunisierten Tiere die Granulabildung und das völlige Verschwinden der Bakterien viel schneller eintritt, daß also die Leukocytose eine direkt den Ablauf verzögernde Wirkung hat, ich frage nur, entspricht es denn den natürlichen Verhältnissen bei der Infektion eines passiv immunisierten Tieres, daß man vorher künstlich eine Aleuronatleukocytose im Peritoneum erzeugt?

Oder nehmen wir die noch natürlicheren Verhältnisse eines durch Ueberstehen einer Krankheit oder durch Vaccinierung aktiv immunisierten Tieres.

Was geschieht hier, wenn auf natürlichem oder künstlichem Wege die Keime in das Peritoneum gelangen?

Jederzeit kann man da sehen, wie die Bakterienauflösung ohne jede Beihilfe der Leukocyten erfolgt und wie diese erst, nachdem auch kein einziges intaktes Vibrio mehr vorhanden ist, der Bauchhöhle zuströmen.

Derartige Versuche sind doch wohl die unter natürlichen Verhältnissen angestellten, und danach können wir sagen, daß beim immunisierten Tiere die Bakterienauflösung normaliter nur durch die bakteriolytischen Stoffe im freien Raume der Bauchhöhle statthat.

Daß freilich, wenn man vorher künstlich die Bauchhöhle mit Leukocyten vollgestopft hat, der normale Ablauf der Reaktion gestört ist, kann niemand wunder nehmen.

Daß Injektion von entzündungserregenden Stoffen irgend welcher Art in die Bauchhöhle die Tiere resistent macht, ist bereits von Pfeiffer und Isaeff<sup>1)</sup> vor mehr als 10 Jahren aufgedeckt worden.

Daß ein derartig resistent gemachtes Tier auch bei Darreichung einer ungenügenden Dosis von Immunserum die Infektion eher übersteht als ein Kontrolltier, welches die gleiche Menge von Immunserum bei gleicher Infektion ohne vorherige Aleuronateinspritzung erhalten hat, ist so selbstverständlich, daß es der wiederholten Hinweise Bails auf die Versuche No. 86/87 (p. 278) nicht bedurft hätte. Irgend welche Schlußfolgerungen über den normalen Verlauf der Infektion beim genügend immunisierten Tiere lassen diese Versuche nicht zu.

Die schon oben erwähnte Verzögerung des Prozesses bei reichlicher Gegenwart von Leukocyten und Immunserum führt Bail zu der Vorstellung, daß dadurch die Bauchhöhle zu einem Organ geworden sei, in dem die Bakteriolyse so gut ausbleibe, wie etwa in der Niere.

Durch Injektion von 0,75 g Leberzellsbrei in das Peritoneum eines passiv immunisierten Meerschweinchens glaubt Bail künstlich das Peritoneum zum Organ machen zu können.

In einer einzigen derartigen Versuchsreihe mit Typhus fand trotz der Anwesenheit des Leberbreies eine ausgedehnte Granulabildung statt. Das Tier starb schließlich mit nur spärlichem Bacillenbefund. Das Kontrolltier kam davon. Entsprechende Versuche mit Cholera gelangen nicht.

Tatsächlich hat also hier die Leberzellenemulsion ungünstig gewirkt, wahrscheinlich, wie das Bail selbst annimmt, durch Komplementbindung an die Organrümpfer. Ein Organ ist aber trotz Bail eine so malträtierete Bauchhöhle doch nicht geworden und seine Schlußfolgerungen entbehren jeder Beweiskraft. Er selbst scheint das zu fühlen, wenn er zum Schlusse sagt, „daß es gar nicht so sehr darauf ankommt, wie die Bakteriolyse, sondern, daß sie behindert wird.“

Fassen wir die Resultate dieser Bailschen Versuche zusammen, die als erster Beweis gegen den Pfeifferschen Versuch beigebracht sind, so ergibt sich: Beim immunisierten Tiere findet die Bakteriolyse im Peritoneum ohne Beteiligung der Leukocyten statt, die erst nach erfolgter Bakterienauflösung auftreten.

Sind vorher künstlich Leukocyten im Peritoneum angesammelt worden, so modifizieren und verzögern sie sogar unter Umständen den natürlichen Ablauf der Bakteriolyse.

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI.

Einen weiteren Beweis gegen die Bedeutung des Pfeifferschen Phänomens sieht Bail in der von ihm beobachteten Tatsache der Serumfestigkeit von Exsudatbakterien im Vergleich zu Kulturbakterien, wenigstens bei Typhus. Wir wissen schon aus den Untersuchungen von Trommsdorf<sup>1)</sup> sowie E. Cohn<sup>2)</sup>, wie leicht gerade der Typhusbacillus eine gewisse Serumresistenz auch schon durch die einfache Züchtung im Immunserum in vitro annimmt

Durch die Untersuchungen von Friedberger und Moreschi<sup>3)</sup> ist das spontane Vorkommen derartiger Rassen auch ohne Züchtung in Körperflüssigkeiten zum ersten Male bewiesen worden.

Die entsprechenden Versuche von Bail tun weiter nichts dar, als daß ein und dieselbe Typhuskultur durch das Wachstum im Peritoneum des Meerschweinchens nicht mehr so leicht der Wirkung einer Immunserumdosis unterliegt, die für eine gleiche und selbst größere Menge von Kulturbakterien vollständig ausreichend ist.

Das ist also nur eine relative Widerstandserhöhung der Exsudatbakterien, nichts mehr.

Den Hauptbeweis gegen das Pfeiffersche Phänomen erblickt er in den bekannten Aggressinen. Nach der eingangs erwähnten eingehenden Kritik, die die Aggressinlehre erfahren hat, kann ich mich hierüber kurz fassen.

Diese Aggressine im Bailschen Sinne finden sich bekanntlich in Körperflüssigkeiten infizierter Tiere, aber es handelt sich dabei keineswegs um Stoffe, die während des Infektionsprozesses erzeugt sind, sondern höchstwahrscheinlich um zerfallene giftige Leibessubstanzen der Bakterien. Haben doch Wassermann und Citron (l. c.) genau dieselben Aggressinwirkungen durch Ausschütteln von Bakterien mit destilliertem Wasser erhalten. Die Dosen von Bauchhöhlenexsudat, die Bail nun nötig hat, um diese angebliche aggressive Wirkung zu erzeugen, sind für Cholera und Typhus so enorme (meist 2,5 ccm), daß sie, wenn sie auch nicht an sich schon immer tödlich wirken, doch durch ihren hohen Gehalt an Endotoxinen solche Giftwirkung hervorrufen, daß nunmehr auch untertödliche Dosen von Bakterien genügen, um die tödliche Infektion des durch die gleichzeitige Giftzufuhr geschwächten Tieres herbeizuführen.

Auf diese Weise erklärt sich auch das scheinbare Versagen des Typhusimmunserums bei derartig präparierten Tieren; das Versagen ist nie ein vollständiges, sondern die Bakteriolyse findet, nach Bails eigenen Worten. „mehr weniger deutlich und stark immer statt“.

Daß es nicht den schließlichen Endeffekt einer völligen Bakteriolyse bewirkt, liegt eben daran, daß das Immunserum ja zu seiner Wirkung der fortwährenden Beihilfe des tierischen Organismus bedarf (Komplementlieferung), der eben durch die schwere Vergiftung geschädigt ist; auf diese Weise wird die Wirkungsbreite des Bakteriolytins eingeschränkt, und dadurch kommt die scheinbare antagonistische Wirkung des Exsudats gegen die Lysine resp. die Fernhaltung der Leukocyten zu stande, die in Wahrheit nur eine ganz indirekte ist und sich ebensogut durch alle möglichen anderen Gifte erzeugen läßt. Der Organismus, der im Begriff ist, eine Bakteriendosis aufzulösen, die nahe an der tödlichen

1) Arch. f. Hyg. Bd. XXXIX.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV.

3) Berl. klin. Wochenschr. 1905.

Endotoxinmenge liegt, ist derart schon an und für sich geschädigt, daß die geringste Menge eines Giftes — welcher Art es auch sein mag (z. B. Diphtherietoxin Dörr) —, besonders aber des artgleichen, genügen muß, um seinen Organismus endgültig unterliegen zu lassen. Unter diesen Umständen aber noch eine volle und ungestörte Wirksamkeit der Wechselbeziehungen zwischen Organismus und Immuserum erwarten zu wollen, ist wirklich eine zu weitgehende Forderung. Auf diese Verhältnisse hat zuerst Dörr (l. c.) in seiner schönen Arbeit hingewiesen, deren Bedeutung durch die Kritik, die Bail daran knüpft, keineswegs herabgesetzt ist<sup>1)</sup>.

Die Tatsache aber, daß übrigens Bakteriolyse trotzdem auch bei der schwersten Vergiftung immer noch in erheblichem, wenn auch beschränktem Grade zutage tritt, spricht im Gegenteil für die hohe Bedeutung der Bakteriolyse, die auch unter ungünstigsten Bedingungen im Kampf gegen die Mikroorganismen nicht versagen.

Die Richtigkeit dieser Tatsache wird durch die Choleraersuche von Bail auf das eklatanteste illustriert.

Hier, wo die Anforderungen, die für die Bakteriolyse an den Organismus gestellt werden, viel geringere sind, sehen wir, wie die Aggressine, welche ja nach Bail in ihrer Wirkung gegen die Bakteriolyse gerichtet sind, die Auflösung der Vibrionen auch nicht im mindesten beeinflussen und doch den Exitus des Tieres herbeiführen. Die Wirkung dieser „Aggressine“ ist so minimal, daß 2,0 selbst gegen die Lyse durch 1 mg Choleraimmunserum gänzlich versagen, sie sind also nicht Antagonisten des Immunserums, sondern Stoffe, die auf den Organismus des Versuchstieres selbst wirken und zwar vergiftend und damit zugleich Leukocyten abhaltend.

(In einem Falle fand sich beim toten Tier eine große Menge von Vibrionen im Peritoneum. Hier war eine relativ geringe Menge Immuserum gegeben worden, und zudem war doch im Anfang ausgesprochene Lyse erfolgt.)

In weiteren Versuchen suchte dann Bail zu beweisen, daß mit „Aggressin“ vorbehandelte Tiere eine ganz besondere von der bakteriziden Immunität verschiedene „antiaggressive Immunität“ erwerben. Dieser Beweis ist, für Cholera und Typhus wenigstens, nicht gelungen; er vergleicht die derart immunisierten Tiere in Infektionsversuchen unter gleichzeitiger Darreichung von Aggressin nicht etwa mit aktiv (durch Vorbehandlung mit Bakterien) immunisierten Tieren, wie das doch selbstverständlich erscheinen sollte, sondern mit passiv immunisierten Kontrollen.

Es ergibt sich, daß die mit Aggressin vorbehandelten Tiere durchgehend die Infektion mit Typhuskultur und Aggressin überstehen, während die Kontrollen der Infektion unterliegen.

Wenn Bail seine Tiere mit zentrifugiertem Peritonealexsudat behandelt, so bekommt er vermöge des Gehaltes dieser Flüssigkeit an Bakterienleibern und Leibessubstanzen eine außerordentlich hohe aktive bakterizide Immunität, wie das Pfeiffer<sup>2)</sup> selbst mit den Filtraten derartiger Exsudate vermöge ihres Gehaltes von Antigengruppen vor Jahren bereits gelungen ist.

1) Anmerkung bei der Korrektur. Auch Sauerbeck (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVI) weist in einer jüngst erschienenen Arbeit auf die Giftigkeit der Exsudate hin, die von Bail anfangs geleugnet, aber wie es scheint, in jüngster Zeit doch zugestanden wird. (Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 11. Vergl. auch Kraus und Stenitzer, Wien. klin. Wochenschr. 1907. No 12.)

2) Dtsche med. Wochenschr. 1902.

Die auf diese Weise erzielte bakteriolytische Immunität ist sogar eine ganz ungewöhnlich hohe, und Wassermann und Citron haben deshalb direkt das Verfahren als eine wesentliche Verbesserung der Methode zur immunisatorischen Erzeugung bakteriolytischer Antikörper empfohlen, ausgehend von der Erwägung, daß die Ueberschwemmung des Körpers mit bereits aufgelösten Antigenen einen besonderen Reiz auf die antikörperbildenden Organe einen „Ictus immunisatorius“ ausübe. Um etwas anderes handelt es sich bei den Bailschen Versuchen gleichfalls nicht; er hätte doch einmal den bakteriolytischen Titer bei seinen aktiv aggressiv immunisierten Tieren im Vergleich zu passiv immunisierten feststellen sollen. Die großen Differenzen, die er da gewiß gefunden hätte, hätten ihn vielleicht zu anderen Schlußfolgerungen gebracht; hätte er dann zu seinen Versuchen nach der alten Methode mit Bakterien sorgfältig immunisierte Meerschweinchen als Kontrollen benutzt, die den gleichen bakteriziden Titer als die Aggressintiere aufwiesen, so hätte er wohl im Verlauf der Infektion bei beiden Gruppen keinen Unterschied beobachtet, und die Annahme einer besonderen Aggressinimmunität wäre von selbst gefallen. Statt dessen vergleicht Bail auf die vortrefflichste Weise hochgradig aktiv immunisierte Tiere, wie bereits erwähnt, mit solchen, die passiv heterologes Immunserum erhalten haben, dazu noch unter sehr schweren Infektionsbedingungen, und schließt aus dem Ausgange, die bakterizide Immunität ist von der Aggressinimmunität verschieden, während der Schluß bloß hätte lauten dürfen: „die aktive Immunisierung ist der passiven überlegen“.

Auch das Verhalten der Leukocyten ist in dieser Differenz der Immunisierung begründet. Da der Prozeß beim aktiv immunisierten, nach Bail antiaggressinhaltigen Tier sehr schnell abläuft, so erscheinen die Leukocyten relativ früh und reichlich.

Auch bei der „Antiaggressivität“ haben sie aber mit der Auflösung selbst nichts zu tun; denn bei hochgradig antiaggressiven Tieren, wie z. B. in Tab. XLVIII, ist die Bakterienauflösung bereits  $\frac{1}{2}$  Stunde eher erfolgt als die Leukocyten auftreten.

Es erübrigt noch, die Beziehungen zwischen Aggressin und den von Pfeiffer und Friedberger<sup>1)</sup> zuerst nachgewiesenen antagonistischen Substanzen zu besprechen. Ursprünglich neigte Bail in einer mit Kikuchi<sup>2)</sup> verfaßten Arbeit der Ansicht zu, daß gelöste Bakterien-substanzen die Ursache der von Pfeiffer und Friedberger beobachteten eigentümlichen Erscheinung seien. Die Versuche, auf die sich Bail und Kikuchi hier stützen, sind Reagenzglasversuche, die denn trotz allem, was Bail über das Peritoneum des Meerschweinchens vorbringt, nicht mit unseren Tierversuchen zu vergleichen sind.

Zudem haben Pfeiffer und ich<sup>3)</sup> durch inzwischen publizierte Versuche unsere schon früher gegen diese Auffassung vorgebrachten Argumente noch wesentlich gestützt. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß filtrierte antagonistische Sera — die also von allen nicht völlig gelösten Bakterien-substanzen befreit sind — unter Umständen besser hemmen als bloß zentrifugierte. Somit ist der Bailsche Erklärungsversuch für die antagonistische Wirkung als gescheitert zu betrachten.

In seinen späteren Publikationen scheint Bail einen gewissen Zusammenhang zwischen Aggressin und antagonistischer Substanz anzu-

1) Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 1 u. 29.

2) Arch. f. Hyg. Bd. LIII.

3) Dieses Centralbl. Bd. XLI. Heft 2.

nehmen, eine Auffassung, der wir aber keineswegs beipflichten können, und dies aus folgenden Gründen:

1) Die Aggressine faßt ja Bail gerade, wie er dies auch schon im Namen zum Ausdruck bringt, als Produkte einer aktiven Bakterientätigkeit auf; die antagonistischen Substanzen treten aber bei der Vorbehandlung von Normalserum mit toten Bakterien (sogar wenn 100<sup>0</sup>-Bakterien zur Ausfällung benutzt wurden) genau so wie bei Verwendung lebender Keime zutage.

2) Die Unabhängigkeit der Höhe des antagonistischen Wertes von der Bakterienmenge innerhalb gewisser Grenzen, die Unabhängigkeit von der Zeit und Temperatur der Einwirkung sprechen gleichfalls gegen eine aktive Bakterientätigkeit.

3) Es existieren ganz bedeutende quantitative Differenzen in der Wirksamkeit zwischen Aggressin und antagonistischer Substanz. Von letzterer genügen meist sehr geringe Mengen von 0,3, 0,1 und zuweilen sogar 0,05 des betreffenden Serums, um die Bakteriolyse bei Anwendung von 3 I.-E. aufzuheben, während die hierzu erforderlichen Aggressinmengen in den Bailschen Versuchen meist mehr als das 10—20fache betragen.

4) Das Wesentlichste ist ein qualitativer Unterschied, derart, daß das antagonistische Serum die Bakteriolyse der Cholera durch das Immunserum verhindert, also antagonistisch im strengen Sinne ist, während das Aggressin, ohne im entferntesten in gleichem Grade die Bakteriolyse zu beeinflussen, nur den lebenerhaltenden Endeffekt der Bakteriolyse in Frage stellt (durch toxische Einflüsse!).

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über „Opsonine“ und Phagocytose.

[Aus dem Institut Pasteur, Paris.]

Von Dr. med. et phil. **R. O. Neumann**,  
a. o. Prof. an der Universität Heidelberg.

Die Untersuchungen, welche ich im Pasteurschen Institute auf Veranlassung von Herrn Prof. Metschnikoff über den Zusammenhang der Phagocytose mit den „Opsoninen“ angestellt habe, schließen sich an die Beobachtung anderer Autoren an, welche eine opsonische Wirkung bei den Phagocyten des Menschen und verschiedener Tiere unter Zusatz von normalem Serum und Immunserum gesehen haben.

Ich unterlasse es, bei der Zusammenstellung meiner Beobachtungen die Resultate der bisherigen Untersuchungen einleitend wiederzugeben, weil ich sie bei den Lesern dieser Zeilen als bekannt voraussetzen darf. Man findet alles Dahingehörige bei Metschnikoff (1), Dean (2), in den Verhandlungen der Mikrobiologenkonferenz 1906 in Berlin (3), bei Pettersson (4), Lambotte et Stiennon (5), Neufeld und Rimpau (6), Neufeld und Töpfer (7), Gruber und Futaki (8, 19), Löhlein (9), Bordet (10), Denys und Leclef (11), Wright und Douglas (12), Bulloch und Atkin (13), Hektoen und Rüdiger (14), Wright, Douglas, Stewart (15), Levaditi (16), Savtschenko und Melkich (17), Weinstein (18), Ascher (20).

Meine Versuche beziehen sich größtenteils auf Meerschweinchenleukocyten, mit welchen außerhalb des Tierkörpers experi-

mentiert wurde. Von Bakterien kamen in Frage: Milzbrand, Typhus, Cholera, *Pyocyaneus*, Streptokokken, Staphylokokken und Gonorrhöe. Die opsonische Wirkung sollte sowohl ohne Serumzusatz als auch unter Verwendung von normalem Serum, Immuns Serum, inaktiviertem Serum verschiedener Tiere und des Menschen geprüft und es sollten andererseits Ausscheidungsstoffe der Leukocyten resp. Extrakte aus denselben zur Klärung der Frage einer eintretenden Phagocytose herangezogen werden.

Die Resultate, die man bisher beim Experimentieren mit Leukocyten außerhalb des Tierkörpers und *in vitro* erhielt, wollen von einigen Autoren nicht als gleich beweisend anerkannt werden und unterliegen einer verschiedenen Beurteilung. Das eine kann jedenfalls nicht bestritten werden, daß manche uns noch unklare Vorgänge im Tierkörper anders ablaufen als *in vitro* und daß auf diese Tatsachen manche Differenz zurückgeführt werden muß. Ich erinnere nur z. B. an die von Metschnikoff ausgesprochene und von Grüber (19) experimentell bestätigte Tatsache, daß das lebende Blut des normalen Kaninchens vollkommen frei von bakteriziden Stoffen ist, während das tote Blut milzbrandfeindliche Stoffe enthält. Außerdem kommt noch dazu, daß sich wahrscheinlich die an den Leukocyten verschiedener Tiere gewonnenen Resultate in vielen Fällen, wie ich mich selbst überzeugen konnte, nicht ohne weiteres auf die mit menschlichen Leukocyten erzielten vergleichen lassen. Demnach würde den Experimenten *in vitro* nicht unter allen Umständen derselbe Wert beizumessen sein wie den am lebenden Körper ausgeführten, und doch kann man auf jene nicht verzichten, da sie uns bequem und leicht ausführbare Versuchsbedingungen bieten, die jeden Augenblick eine Nachkontrolle ermöglichen.

Die Beschaffung der Meerschweinchenleukocyten geschah in einfachster Weise durch Injektion eines Gemisches von 10 ccm steriler Kochsalzlösung und 10 ccm Bouillon in die Bauchhöhle. Nach 4—5 Stunden wurde mittels Kapillaren die leukocytenhaltige Flüssigkeit entnommen, zentrifugiert und die Leukocyten je nach Bedürfnis 3—5mal gewaschen.

Zur Anstellung des Versuches brachte ich eine kleine Menge der gewaschenen Leukocyten mit ebensoviel einer 24-stündigen Bouillonkultur einer der genannten Organismen zusammen und fügte die gleiche Menge eines Serums hinzu. Nach einer Aufbewahrung von 5 Minuten bis zu 1 Stunde im Brutschrank bei 37° C oder auch bei normaler Temperatur wurden dann von der Mischung Präparate angefertigt und nach Giemsa oder nach Leishman gefärbt oder im hängenden Tropfen ungefärbt betrachtet. Jeder Versuch wurde mehrfach wiederholt. Von einer Zählung der von den Leukocyten aufgenommenen Mikroorganismen, wie es Wright tut, haben wir abgesehen, weil es uns hier nicht auf die absoluten Zahlen der phagocytierten Bakterien ankam.

Ich beschränke mich bei der Wiedergabe meiner Befunde auf die Hauptergebnisse, da eine Darstellung sämtlicher 460 Einzelversuche viele Wiederholungen bringen müßte und die Arbeit unnötig verlängern würde.

#### Beobachtungen über Phagocytose ohne Serumzusatz.

Es sei zunächst hervorgehoben, daß alle benutzten Stämme von Milzbrand, Streptokokken, Staphylokokken, Cholera, *Pyocyaneus* und Typhus aus dem Institut Pasteur stammten und eine hohe Virulenz aufwiesen. Der Gonorrhöestamm war frisch isoliert. Für die Untersuchungen mit Milzbrand diente 1) ein viru-

lenter Stamm aus der Sammlung (A), 2) derselbe Stamm, aber 3mal durch Meerschweinchen geschickt (B) und 3) milzbrandbacillenhaltiges Blut, welches von dem zuletzt mit Milzbrand behandelten Meerschweinchen stammte.

In ganz ähnlicher Weise, wie auch von anderer Seite (Metschnikoff, Levaditi, Gruber, Löhlein) beobachtet wurde, ließ sich in Betreff der Phagocytose zwischen dem Milzbrand und den übrigen untersuchten Bakterien ein bemerkenswerter Unterschied konstatieren und zwar insofern, als die Milzbrandbacillen auch ohne Serum schnell und reichlich der Phagocytose anheimfielen, während bei den anderen Organismen dies nur in ganz bescheidenem Maße der Fall war.

Diese letztere Tatsache scheint allerdings von anderen Untersuchern teilweise abweichend gefunden worden zu sein und zwar je nachdem virulente oder avirulente Organismen benutzt wurden. So konstatierten Neufeld und Hüne, daß avirulente Kulturen von Cholera und Hogcholera ohne jeden Zusatz von Serum phagocytiert, während z. B. virulente Streptokokken von polynukleären Leukocyten nicht aufgenommen wurden. Levaditi sah dagegen, daß Leukocyten virulente Cholera aufnahmen, und Löhlein beobachtete eine Phagocytose von virulenten und avirulenten resp. weniger virulenten Pestbacillen ohne Serumzusatz.

Die Resultate, die ich bei Benutzung von Cholera, Typhus, Streptokokken, Staphylokokken, Pyocyaneus und Gonorrhoe erhielt, fielen mehr im negativen Sinne einer Phagocytose aus. Eine Freistätigkeit fand noch einigermaßen bei Staphylokokken und Pyocyaneus statt, am wenigsten war sie nachweisbar bei Streptokokken. Es machte keinen Unterschied, ob ich die Leukocyten nach 1maliger oder 5maliger Waschung benutzte, ob ich die Phagocytose nach  $\frac{1}{4}$  Stunde oder nach 2 Stunden untersuchte und ob ich die Leukocyten bei Brut- oder Zimmertemperatur auf die Bakterien einwirken ließ. Wiederholte ich aber die Versuche mit den Leukocyten verschiedener Meerschweinchen, so konnte ich beobachten, daß die Stärke der Phagocytose variierte, und so nimmt es auch nicht wunder, daß bei Anwendung von menschlichen Leukocyten, welche wahrscheinlich anders als die Meerschweinchenleukocyten beschaffen sind, gelegentlich auch ohne Serumzusatz eine gute Phagocytose auftritt, wie wir dies z. B. mit Staphylokokken beobachten konnten.

Mit Levaditi übereinstimmend, fand ich mit normalen Meerschweinchenleukocyten und virulenten Choleravibrionen eine relativ gute Phagocytose, indem viele zu Kugeln umgewandelte Vibrionen in den Leukocyten eingeschlossen waren, benutzte ich dagegen Leukocyten von Meerschweinchen, die gegen Cholera immunisiert waren, so trat die Phagocytose in vermindertem Maße ein. Wurde dasselbe Experiment mit normalen Leukocyten und mit Leukocyten von Meerschweinchen, welche gegen Typhus immunisiert waren, ausgeführt, so sah ich keinen Unterschied. In beiden Fällen war die Phagocytose eine minimale.

Die bisher aufgeführten Versuche wurden auch mit Leukocyten aus dem Pleuraexsudat vom Kaninchen vorgenommen, ohne daß wesentliche Abweichungen zu verzeichnen gewesen wären.

Eine auffallende Ausnahme macht, wie oben erwähnt wurde, nur der Milzbrand und zwar insofern, als die Bacillen auch ohne Serumzusatz schnell und reichlich phagocytiert werden. Es war ganz gleich-



gültig, ob ich den Milzbrandstamm A oder den virulenteren Stamm B benutzte, ob ich den Versuch bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank vornahm. Die Phagocytose setzte unter der Hand ein und man konnte im hängenden Tropfen bereits nach wenigen Minuten sehen, wie die Milzbrandbacillen von den Leukocyten aufgenommen wurden. Im Laufe der Zeit erreicht sie ein gewisses Maximum, welches sich aber bei noch längerem Stehen, selbst bei Bruttemperatur nicht mehr verändert. Bei Wiederholung dieses Versuches mit Leukocyten, die aus der Bauchhöhle eines mit Milzbrand infizierten Meerschweinchens stammten, zeigten sich ganz dieselben Ergebnisse.

Gruber beschreibt, daß die vollvirulenten Bacillen von den Leukocyten des Meerschweinchens nur umklammert, aber doch abgetötet wurden. Andererseits wurden die umklammerten nach 2—3 Stunden wieder frei gegeben. Dieses Wiederfreigeben vermochte ich in meinen Präparaten nicht zu sehen, es nahmen vielmehr die Leukocyten, nachdem sie die Bacillen umklammert hatten resp. an ihnen längsgekrochen waren, sie in den meisten Fällen vollständig auf, worauf eine Degeneration des Fadens stattfand, welche sich in der stark verminderten Färbbarkeit ausdrückte. Nach Gruber erfolgt die Tötung der Bacillen durch eine chemische Absonderung der Leukocyten (Kontakttötung).

Andererseits konnte ich aber mit Gruber konstatieren, daß Milzbrandbacillen mit Kapseln der Phagocytose viel weniger zugänglich waren als solche ohne Kapseln. Nach Gruber werden die Kapselbacillen „völlig unbehelligt“ gelassen und nach Löhlein entgehen sie auch in vitro während der ersten 2 Stunden der Aufnahme durch gewaschene Leukocyten. Auch Metschnikoff und Danysz sahen früher bereits jene Eigentümlichkeit.

In der Wirkung der Phagocytose auf die bekapselten Bacillen oder in der Widerstandsfähigkeit der Kapseln scheinen aber auch graduelle Unterschiede vorzukommen, da bei meinen Versuchen mit milzbrandhaltigem Blute, in welchem massenhaft Kapselbacillen vorhanden waren, die Phagocytose stärker oder schwächer auftrat. Ein völliges Ausbleiben der Phagocytose mit den Bacillen aus dem Blute konnte ich nicht beobachten, einzelne Kapselbacillen oder -fäden wurden immer aufgenommen. Man konnte das sehr schön daran konstatieren, daß, wenn Kapselbacillen in die Leukocyten aufgenommen waren, die Kapsel unsichtbar wurde und die Bacillen selbst sich nicht mehr gut färben ließen, während die außerhalb der Leukocyten liegenden Stäbchen die Farbe intensiv aufnahmen.

Ob ich bei diesem Versuche Leukocyten aus normalem Meerschweinchen benutzte oder die Leukocyten eines mit Milzbrand stark infizierten Tieres nahm, brachte keine Aenderung im Resultate hervor. Es gab auch keinen Unterschied, ob ich die Leukocyten von der sie umgebenden Flüssigkeit einfach abzentrifugierte oder ob ich sie 5mal mit Kochsalzlösung auswusch. Dort, wo Phagocytose eintrat, machte sie sich bereits nach spätestens 15 Minuten bemerkbar. Auch bei längerer Beobachtung, etwa bis zu 3 Stunden, nahm sie nicht mehr besonders zu.

#### Beobachtungen über Phagocytose bei Serumzusatz (Normalserum).

Den bisher in der Literatur gemachten Mitteilungen ist zu entnehmen, daß sich in den meisten Fällen bei Zusatz von normalem

Serum zu frischen Leukocyten eine opsonische Wirkung nachweisen läßt. Die Ergebnisse sind jedoch nicht einheitlich. Abgesehen davon, daß sich Unterschiede bemerkbar machten, sobald frisches Serum oder inaktiviertes benutzt wurde, so ist doch auch die Wirkung auf verschiedene Stämme ganz verschieden. Ebenso ist es nicht gleichgültig, was für ein Serum benutzt wurde. Und endlich kommen auch, was ich bei meinen Versuchen nicht selten beobachten konnte, sogar Unterschiede vor, wenn man das Serum zwar von der gleichen Tierart, aber von verschiedenen Tieren nimmt. Wright und Douglas fanden eine opsonische Wirkung bei Zusatz von Menschenserum auf Pest, Maltafieber, Coli, Dysenterie, nicht aber auf Diphtherie und Xerose. Löhlein bestätigt dies mit Meerschweinchenleukocyten für Streptokokken, Coli und Cholera. Auf Pestbakterien wirkte das Serum entschieden günstiger, während bei Coli voneinander abweichende, wenn auch positive Ergebnisse erzielt wurden. Im übrigen ist er aber auch der Meinung, daß die Intensität des Serums sehr variiert. Es gab auch unter verschiedenen Stämmen derselben pathogenen Mikroorganismen solche, welche selbst unter dem Einfluß von Normalserum nicht von Leukocyten aufgenommen und andere, die ohne Serum sofort phagocytiert wurden.

Alle Untersucher, die mit Milzbrand arbeiteten, stimmen darin überein, daß unbekapselte Stäbchen stets phagocytiert werden ebenso wie es ohne Serum geschieht. Meine Versuche sind ausgeführt mit frischem Meerschweinchenserum, Kaninchenserum, Pferdeserum, Hühnerserum und Menschenserum und zwar im aktiven und inaktivierten Zustande (30 Minuten auf 60° C erhitzt). Außerdem wurde in einer Reihe von Versuchen das Serum in verschiedenen Verdünnungen angewandt. Die Meerschweinchenleukocyten waren zu jedem Versuche frisch entnommen. Zu einigen Prüfungen dienten auch Leukocyten aus dem Pleuraexsudat des Kaninchens.

Im allgemeinen ließ sich nach Zusatz irgend welchen Serums eine geringe Verbesserung nachweisen und zwar bei den Organismen, die auch ohne Serum der Phagocytose mehr oder weniger leicht zum Opfer gefallen waren. Hierher gehören Staphylokokken, *Pyocyaneus* und Cholera. Allerdings sei hier erwähnt, daß die Phagocytierung der Staphylokokken mit menschlichen Leukocyten weit schöner verlief wie mit Meerschweinchenleukocyten, eine Beobachtung, die sich auch ohne Serumzusatz ohne weiteres machen ließ. Bei Streptokokken wurde keine Phagocytose erzielt und bei Typhusbacillen war sie wechselnd. Unter 5 Parallelversuchen mit Leukocyten verschiedener Meerschweinchen trat sie einmal besonders lebhaft auf, die anderen Male war sie kaum zu beobachten. Hühnerserum, Meerschweinchenserum und Kaninchenserum brachten überall denselben Erfolg oder Mißerfolg. Eine bemerkenswerte Ausnahme bildete nur das Pferdeserum und Menschenserum. Setzte ich letzteres, welches ich aus meinem Blute dargestellt hatte, dem Gemisch von Meerschweinchenleukocyten + Cholera oder *Pyocyaneus* zu, so wurden die Organismen binnen wenigen Minuten, ehe es zur Phagocytose kam, vollständig aufgelöst. Dasselbe trat auch bei Typhusbacillen ein, wenn auch nicht in dieser ausgesprochenen Weise. Bei Staphylokokken, Streptokokken und Gonorrhöe trat keine Auflösung ein. Ueber diese lysogene Wirkung meines Serums, welche übrigens auch mit verdünntem Serum zu erzielen war, mußte ich eigentlich erstaunt sein, da ich weder Cholera noch

Typhus, noch irgend welche Eiterkrankheit überstanden habe. Daß übrigens neben den Lysinen auch Opsonine in meinem Serum vorhanden waren, geht aus der, wenn auch geringen, Phagocytose bei dem Staphylokokkenversuche hervor.

Das Pferdeserum löste ebenfalls Choleravibrionen, die anderen Organismen dagegen nicht. Die Phagocytose wurde durch das Pferdeserum im übrigen nicht weiter erhöht. Infolge der Immunisierung von Meerschweinchen gegen Cholera und Typhus standen mir für die Versuche mit Normalserum auch die Leukocyten der immunisierten Tiere zur Verfügung. Es war möglicherweise zu erwarten, daß diese sich bei Zusatz von Normalserum anders verhalten würden; allein zwischen den normalen und den Immunleukocyten war kein Unterschied zu beobachten.

Für alle Untersucher hat es ein besonderes Interesse gehabt, ob und in welcher Weise inaktiviertes Serum die Phagocytose beeinflusste. Man mußte ja annehmen, über die Natur der Opsonine etwas Genaueres erfahren zu können, je nachdem nach dem Erhitzen die opsonische Wirkung ausblieb oder nicht. So berichtet Gruber und Futaki, daß eine Reihe von Bakterien, Staphylokokken, Streptokokken, Coli, Prodigiosus, Subtilis, Proteus u. a., mit normalem Serum der Phagocytose nach 30 Minuten anheimfielen, mit inaktiviertem dagegen nicht, bei *Pyocyaneus*, *Suipestifer* und *Suisepiticum* war sie im aktiven stärker, bei Cholera<sup>1)</sup> und Cholera gallinarum konnte überhaupt keine nachgewiesen werden. Sobald aber die Bakterien mit aktivem Serum vorbehandelt wurden, trat auch mit inaktivem Serum Phagocytose ein.

Aus diesen Versuchen ging hervor, daß die einzelnen Bakterienarten recht verschieden vom Meerschweinchenserum beeinflusst wurden und auch Neufeld und Hüne sahen ähnliche Verschiedenheiten. Sie fanden z. B., daß virulente Typhusbacillen durch Zusatz von aktivem, aber nicht durch inaktivem Serum phagocytirt wurden. Mäusetyphus dagegen fiel mit inaktivem Serum der Phagocytose anheim, bei Staphylokokken wechselte der Vorgang.

Sehe ich meine Resultate durch, so zeigen sich ebenfalls keine einheitlichen Befunde. Das Auffallende war, daß unter Benutzung von inaktivem Meerschweinchenserum bei *Pyocyaneus* eine starke Phagocytose eintrat, während sie bei Cholera im Gegensatz zum aktiven Serum stark vermindert war. Bei Gonorrhöe, Streptokokken und Staphylokokken bemerkte ich keine Unterschiede. Die Phagocytose bei Typhus fiel verschieden aus. Sie war bei einfacher Wiederholung mit den Leukocyten und dem Serum verschiedener Meerschweinchen jedesmal wechselnd, bald war sie geringer, bald konnte man keinen Unterschied gegenüber dem aktiven Serum beobachten. Dieselben Experimente, mit Kaninchenleukocyten ausgeführt, brachten keine Veränderung. Auch die inaktivierten anderen Sera, die ich benutzte, verhielten sich in analoger Weise. Fragt man nach einer Erklärung dieser widersprechenden Beobachtungen, so dürfte eine solche nicht ganz leicht zu geben sein.

Würde bei jeglichem Zusatz eines aktiven Meerschweinchensersums oder auch eines anderen Serums gegenüber dem Experiment ohne Serum

1) Als bemerkenswerte Tatsache möchte ich hier anfügen, daß in Grubers Versuchen Cholera mit normalem Meerschweinchenserum keine Phagocytose ergab, bei mir trat sie ein. Andererseits konstatierte ich in meinen Versuchen bei Streptokokken keine Phagocytose, bei Gruber trat sie stark auf.

jedesmal eine in die Augen fallende Verbesserung der Phagocytose auftreten, so wäre damit der Gehalt des Serums an bakteriotropen Substanzen wohl ohne weiteres erwiesen. Die phagocytierende Wirkung wechselt aber stark. Diese Tatsache wäre noch leicht erklärbar, wenn man annimmt, daß in dem opsonischen Gehalt der einzelnen Sera oder auch in der Aufnahmefähigkeit der Bakterien für Opsonine graduelle Unterschiede bestehen. Wie kommt es aber, daß bei Zusatz von inaktiviertem Serum, dem wir nach unserer Annahme beim Erhitzen die opsonischen Kräfte genommen haben, was sich ja bei den meisten Bakterien in einer stark verminderten Phagocytose ausspricht, in einzelnen Fällen im Gegenteil eine Steigerung der Phagocytose erzielt wird, wie z. B. bei meinem Versuche mit *Pyocyaneus* und bei *Mäuse typhus* (Neufeld und Hüne). Auch beim inaktivierten Immunserum treten, wie wir später sehen werden, derartige Erscheinungen auf. Und wie ist überhaupt eine so stark ausgesprochene Phagocytose ohne jeden Serumzusatz zu erklären, wie wir sie beim Milzbrand sehen, wo von einer opsonischen Wirkung des Serums keine Rede sein kann und die auch nach Zusatz von aktivem und inaktivem Serum und Immunserum in keiner Weise verändert wird?

Eine Erklärung hierfür nur in der alleinigen Wirkung der „Opsonine“ sehen zu wollen, scheint mir nicht gerechtfertigt, denn es macht durchaus den Eindruck, als ob die Tätigkeit der Leukocyten allein hier ausschlaggebend sei. Erschwert oder ganz vereitelt wird ja die Aufnahme von Milzbrandbacillen nur, wenn dieselben bekapselt sind, und so sahen wir bei derartigen Versuchen auch trotz Serumzusatz keine Verbesserung der Phagocytose eintreten. Es war auch hier gleichgültig, ob wir Leukocyten benutzen vom normalen Meerschweinchen oder von einem, welches mit Milzbrand stark infiziert war.

Hatten wir es mit frischem aus dem Tier gezüchteten Milzbrandmaterial zu tun, welches ohne Serumzusatz bereits von den Leukocyten aufgenommen wurde, so brachte weder die Beifügung irgend eines normalen Kaninchen-, Hühner-, Pferde-, Menschen- oder Meerschweinchen-serums eine Verbesserung hervor, noch trat nach dem Inaktivieren der Sera eine Verschlechterung der Phagocytose ein.

#### Beobachtungen über Phagocytose bei Serumzusatz (Immunserum).

Es unterliegt keinem Zweifel, daß, wenn überhaupt eine opsonische Wirkung zu konstatieren ist, dieselbe bei Zusatz von Immunserum am schönsten und leichtesten beobachtet werden kann. Nachdem Metschnikoff bereits seit langer Zeit darauf aufmerksam gemacht hatte, haben eigentlich alle, welche sich mit dieser Frage befaßten, das Phänomen einer verstärkten Phagocytose wiederholt beobachten können, und es gelingt auch eine gute Phagocytose da zu erzielen, wo weder ohne Serumzusatz noch mit Zusatz von Normalserum die Bacillen aufgenommen wurden.

Bei den Versuchen mit Immunserum scheint der Erfolg der Phagocytose mehr als bei den Normalserumversuchen davon abzuhängen, ob virulente oder avirulente Bakterien benutzt werden. Wenigstens würde der Versuch von Markl<sup>1)</sup> dafür sprechen, welcher ergab, daß die virulenten Pestbakterien von den Leukocyten auf-

1) Ref. von Neufeld. Siehe 3.

genommen, die avirulenten dagegen extracellulär aufgelöst wurden. Im übrigen haben Levaditi mit Choleraimmunserum, Neufeld und Hüne mit verdünntem Immunserum von Cholera, Typhus, Paratyphus und Mäusetyphus, Denys und Leclef mit Streptokokkenserum, Wright und Douglas mit Staphylokokkenserum, ebenso Pettersson gute und lebhaftere Phagocytose erzielt im Gegensatz zu der mehr oder weniger geringen Aufnahmefähigkeit bei normalem Serum. Es liegen allerdings auch Erfahrungen vor, so z. B. von Bordet, welcher angibt, daß zwischen normalem und Immunserum kein Unterschied bestehe.

Meine Beobachtungen erstreckten sich auf ein Typhusimmunserum vom Kaninchen, ein solches vom Meerschweinchen und ein solches vom Pferd, auf ein Choleraimmunserum vom Meerschweinchen und ein Streptokokkenimmunserum vom Pferd, welche selbstverständlich mit den zugehörigen virulenten Bakterien geprüft wurden. Andererseits versuchte ich auch, ob ein Einfluß zu erkennen wäre, wenn man die verschiedenen Immunsera mit den nicht zugehörigen Bakterien zusammenbrachte. Bei letzterem Verfahren zeigte sich, daß gewisse Unregelmäßigkeiten zu Tage traten. Man mußte von vornherein erwarten, daß möglicherweise wohl eine lebhaftere Phagocytose eintreten mußte, wenn man Immunserum mit den zugehörigen Bakterien benutzte, aber nicht, wenn Immunsera auf heterogene Bakterien einwirken sollten. Diese Annahme war im allgemeinen richtig. Brachte ich z. B. Typhusbakterien mit Typhusimmunserum, Cholera vibrionen mit Choleraimmunserum und Streptokokken mit Streptokokkenserum und frisch gewaschene Meerschweinchenleukocyten zusammen, so fand ich in vielen Fällen die Phagocytose entschieden verbessert, im Cholera versuch außerordentlich lebhaft, bei 3 verschiedenen Streptokokkenversuchen vorzüglich, mit dem Pferdetyphusserum einmal gut, ein anderes Mal besser, mit dem Kaninchen- und Meerschweinchen typhusserum weniger gut, aber es waren doch überall günstigere Verhältnisse als bei Zusatz von Normalserum. Andererseits konnte ich aber auch konstatieren, daß in einem anderen Cholera versuch gegenüber dem Normalserum keine vermehrte Phagocytose auftrat. Am variabelsten verhielten sich die verschiedenen Typhussera, die alle 3 hoch agglutinierten. Bald wurden die Typhusbacillen leicht, bald langsam, bald fast gar nicht aufgenommen, eine Erscheinung, die mit der Höhe der agglutinierenden Kraft offenbar nicht parallel ging, wenn vielleicht auch hier die Möglichkeit bestand, daß eine schnell eintretende Agglutination eine nachfolgende Phagocytose ungünstig beeinflussen konnte.

Um jene Beeinflussung auszuschalten, wandte ich bei allen diesen Immunsera auch Verdünnungen bis 1 : 100, 1 : 200 an mit dem Erfolg, daß zwar die Agglutination nicht mehr störend auftreten konnte, aber auch die opsonische Wirkung verringert wurde.

Wandte ich bei den eben genannten Versuchen an Stelle von normalen Meerschweinchenleukocyten solche von immunisierten Tieren an, so machte es den Eindruck, als ob die Immunleukocyten sich unter dem Einfluß des Immunserums reichlicher beteiligten als die gewöhnlichen Leukocyten. Denys und Leclef fanden in dieser Richtung bei Streptokokken keinen Unterschied.

Fanden wir hier bei Verwendung von Immunseris und den zugehörigen Bakterien im großen und ganzen eine Verbesserung der Phagocytose, so blieb die Erscheinung weit zurück, wenn andere Bakterien verwendet wurden. So sah ich z. B. bei Gonorrhöe und Staphylokokken,

mit Typhus- und Choleraimmunserum behandelt, keine Verbesserung eintreten, bei *Pyocyaneus* wirkten die Sera günstiger als Normalserum, Staphylokokken mit Streptokokkenserum schienen ebenfalls einer vermehrten Phagocytose Vorschub zu leisten, doch traten bei Wiederholungen auch wieder Unterschiede auf, so daß ein wirklicher Einfluß kaum sicher zu konstatieren war.

Wie beim Normalserum, so beanspruchten auch beim Immunserum die Versuche im inaktivierten Zustande ein erhöhtes Interesse, handelt es sich doch immer noch um die prinzipiell wichtige Frage, ob der Immunkörper mit der Veränderung der Bakterien resp. mit der Aufnahmefähigkeit für die Leukocyten in direktem Zusammenhange steht, wie Neufeld und Rimpau bei ihren Versuchen zeigen konnten und wie Savtschenko und Melkich sich aussprechen. Bis jetzt ist aber leider noch keine Klarheit erzielt, ob die bakteriotropen Substanzen, wie sie Neufeld nennt, bei der Inaktivierung leiden oder nicht. Neufeld und Hüne sind der Meinung, daß die Wirkung bei 62—63° C nicht beeinträchtigt wird, andere Autoren sind anderer Meinung.

Auch ich fand in meinen Versuchen unter anderem auch direkte Extreme. Es wurden benutzt Leukocyten von normalen Meerschweinchen und solche von immunisierten Tieren. Die Erhitzung der Immunsera dauerte 30 Minuten bei 60° C. Dabei wurden in einer großen Reihe von Versuchen Phagocytose befördernde und vermindernde Einflüsse konstatiert. Ich greife nur einige Beispiele heraus. So beobachtete ich zunächst mit Meerschweinchentyphusimmunserum, mit dem ich vorher im aktiven Zustande eine nicht sehr erhebliche Phagocytose erreicht hatte, nach dem Erhitzen eine höchst auffallende Verbesserung, so daß ich anfangs glaubte, es sei irgend eine Verwechslung vorgekommen. Nach weiterer Wiederholung gelang das Phänomen aber wiederum und auch ganz in derselben Weise bei dem Pferdetyphusserum, bei welchem allerdings vor der Inaktivierung ebenfalls bereits eine gute Phagocytose zu konstatieren gewesen war. Beim Kaninchentyphusserum trat die Einschließung der Typhusbakterien nicht so schön auf. Manche Leukocyten waren aber auch hier mit kugelförmig umgebildeten Typhusbakterien dicht vollgepfropft. Bei Verwendung von *Immunleukocyten* war einmal das Bild ein ganz anderes. Hier trat, während im aktiven Immunserum eine gute Phagocytose stattgefunden hatte, eine ganz erhebliche Verschlechterung ein, die sich bei Wiederholung dieses Versuches von neuem zeigte. Bei Anwendung des Pferdetyphusimmunserums war einmal kein Unterschied zwischen aktivem und inaktivem Immunserum zu beobachten, ein anderes Mal dagegen ebenfalls eine Verschlechterung im Sinne des inaktivierten Serums.

Aehnlich verhielt es sich beim Choleraimmunserum. Ein Parallelversuch zudem, der bereits mit aktivem Immunserum eine gute Phagocytose ergab, zeigte nach dem Erhitzen keine Veränderung. Und in einem anderen Falle, in welchem bei Verwendung von *Immunleukocyten* anfangs mit aktivem Immunserum eine schwächere Phagocytose erzielt worden war, erreichte sie nach dem Erhitzen ihren Höhepunkt. Man sah fast nur noch Leukocyten, welche über und über mit kugelförmig umgeformten Vibrionen vollgepfropft waren und zwar nach weniger als  $\frac{1}{2}$  Stunde.

Wir sehen aus diesen Versuchen, daß einmal nach dem Erhitzen der Immunsera die Phagocytose ebenso erhalten bleibt wie vor dem Erhitzen, ein anderes Mal, daß sie noch verbessert wird,

und drittens, daß sie eine Abschwächung erfahren kann. Der Schluß dürfte richtig sein, wenn man hiernach mindestens 2 verschiedene Substanzen im Immunserum annimmt, welche bei der Phagocytose eine Rolle spielen. Die eine, welche bei 60° C vernichtet wird, wodurch die nachherige Verminderung der Phagocytose zu stande kommt, und eine andere, welche bei 60° C erhalten bleibt. Diese thermolabile Substanz würde die Aufnahme der Bakterien in die Leukocyten alsdann nicht nur nicht hindern, sondern sogar im stande sein, die Phagocytose zu fördern. Einer derartigen Auffassung, daß die „Opsonine“ im Immunserum aus 2 derartigen Gruppen beständen, neigen auch Löhlein und Hektoen und Rüdiger zu. Jedenfalls scheint die Annahme richtig zu sein, daß diese Körper mit Agglutininen, Präzipitinen und Lysin nichts zu tun haben.

#### Beobachtungen über Phagocytose bei Zusatz von Leukocytenextrakten und Leukocytenflüssigkeit.

Bei den in vieler Hinsicht kontrastierenden Ergebnissen der Versuche, die unter Zusatz von normalem oder Immunserum, bei der Inaktivierung oder auch ohne Serumzusatz erzielt worden sind, lag es nahe, Leukocytenextrakte und „Leukocytenflüssigkeit“ (die beim Abzentrifugieren gewonnene Flüssigkeit) daraufhin zu prüfen, ob sie als Lieferanten der bakteriotropen Substanzen in Betracht kämen. Derartige Versuche sind bereits eine große Reihe gemacht worden, ohne daß man zu übereinstimmenden Resultaten gekommen wäre; doch ersehe ich aus der Literatur, daß im allgemeinen ein mehr negatives Resultat erzielt worden ist (vergl. auch Ascher, Levaditi, Gruber, Pettersson).

Zu meinen Versuchen stellte ich mir 5 verschiedene Leukocytenextrakte her.

1) Durch Ausziehen mit destilliertem Wasser der 5mal gewaschenen Leukocyten.

2) Durch Extraktion gewaschener und im Vakuum getrockneter Leukocyten mit destilliertem Wasser.

3) Nach der Buchnerschen Methode durch Gefrieren und Auftauenlassen.

4) Durch Zerstören der Leukocyten durch Staphylotoxin.

5) Durch Zerstören der Leukocyten mit Serum vom Kaninchen, welches mit gewaschenen Meerschweinchenleukocyten immunisiert worden war.

Außerdem benutzte ich als Zusatzmittel die von frisch entnommenen Leukocyten abzentrifugierte Flüssigkeit (Leukocytenflüssigkeit) und endlich das Serum eines Kaninchens, welches mit Leukocytenflüssigkeit immunisiert worden war, um mit dem dabei erzielten Antileukocytenflüssigkeitsserum eine eventuelle Antiopsoninwirkung nachweisen zu können.

Die Extrakte wurden sowohl aus normalen Meerschweinchenleukocyten als auch aus Leukocyten von gegen Typhus und Cholera immunisierten Meerschweinchen gewonnen. Andererseits verwendete ich normale Leukocyten und solche aus gegen Cholera und Typhus immunisierten Meerschweinchen. Dabei ergaben sich folgende Kombinationen z. B. für Typhus:

1) Normale Leukocyten	+	Typhus	+	Normalleukocytenextrakt	} Mit jedem der übrigen Extrakte wurden außerdem die gleichen Serien hergestellt
2) „ „	+	„	+	Immunleukocytenextrakt	
3) Immunleukocyten	+	„	+	Normalleukocytenextrakt	
4) „	+	„	+	Immunleukocytenextrakt	

- |                        |   |        |   |                                     |
|------------------------|---|--------|---|-------------------------------------|
| 5) Normale Leukocyten  | + | Typhus | + | Normalleukocytenflüssigkeit         |
| 6) " "                 | + | "      | + | Immunleukocytenflüssigkeit          |
| 7) Immunleukocyten     | + | "      | + | Normalleukocytenflüssigkeit         |
| 8) " "                 | + | "      | + | Immunleukocytenflüssigkeit          |
| 9) Normale "Leukocyten | + | "      | + | Antiserum der Leukocytenflüssigkeit |
| 10) Immunleukocyten    | + | "      | + | Antiserum der Leukocytenflüssigkeit |

Da es zu weit führen würde, die Resultate aller Versuchskombinationen mit ihren Wiederholungen und den Kontrollen für Typhus und Cholera anzugeben, so greife ich nur das Gesamtergebnis heraus. Es läßt sich dahin zusammenfassen, daß die auf verschiedene Weise gewonnenen Extrakte nur einen sehr kleinen Einfluß auf die Beförderung der Phagocytose auszuüben vermögen. Die Erfolge sind bei den Extrakten aus Immunleukocyten unter Verwendung von Leukocyten gegen Cholera und Typhus immunisierter Meer-schweinchen bessere als wenn normales Leukocytenextrakt verwendet wurde. Die Verhältnisse schwanken allerdings. Die Resultate bei Cholera waren wiederum besser als bei Typhus. In 2 Fällen trat bei Cholera eine vorzügliche Phagocytose ein, in 6 anderen Fällen war dagegen gar keine Beeinflussung zu konstatieren. Aehnlich schwach war der Einfluß des Extraktes von normalen Leukocyten auf Staphylokokken, Streptokokken, *Pyocyanus* und Gonorrhöe. Auch die Milzbrandphagocytose wurde nicht verändert. Ob ich Immunleukocyten oder normale verwendete, brachte keinen Unterschied.

Hieraus ist zu entnehmen, daß sowohl exakt gewaschene normale Leukocyten wie auch Immunleukocyten in ihrem Innern jedenfalls keine wesentlichen Mengen bakteriotroper Substanzen enthalten. Es konnte aber nun noch mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß im künstlich erzeugten Bauchhöhlenexsudat die Leukocyten umgebende Flüssigkeit Stoffe enthielt, die von den Leukocyten ausgeschieden sein konnten, und zwar war in erster Linie an die gegen Cholera und Typhus immunisierten Tiere zu denken. Ueberraschenderweise fanden wir bei dahin zielenden Versuchen, daß zwar keine so vollkommene Phagocytose zur Beobachtung kam wie bei Zusatz von Immunserum, jedoch war die Förderung der Phagocytose immerhin bemerkenswert und in mehreren Versuchen wenigstens günstiger als mit Leukocytenextrakt. Am besten gelang eine Aufnahme in die Leukocyten bei Typhus und zwar wenn die Leukocyten von dem gegen Typhus immunisierten Tiere und Typhusimmunleukocytenflüssigkeit verwendet wurde. In einem Falle war die Phagocytose ganz vollendet, die meisten anderen Male weniger gut. Choleraimmunleukocyten und Choleraimmunleukocytenflüssigkeit gaben ebenfalls eine die Kontrollprobe übertreffende Phagocytose. Auf Staphylokokken, Streptokokken, Milzbrand, *Pyocyanus*, Gonorrhöe dagegen wirkte sie kaum verbessernd ein.

Aus diesen Beobachtungen darf geschlossen werden, daß in der Leukocytenflüssigkeit eines gegen Typhus und Cholera immunisierten Tieres bakteriotrope Stoffe vorhanden sind, wenn auch in sehr wechselnder und geringer Menge. Ob sie allerdings den Leukocyten entstammen, ist damit freilich noch nicht bewiesen. Die Extraktversuche sprachen ja nicht gerade dafür. Und da auch die angestellten Antiposoninversuche keine eindeutigen Resultate ergaben, so wird man vorsichtig in dieser Annahme sein müssen.



## Zusammenfassung.

Das Gesamtergebnis der Untersuchung läßt sich dahin zusammenfassen, daß bakteriotrope Körper, welche Phagocytose befördern helfen, sicher nachzuweisen waren. Am reichlichsten fanden sie sich im Immunserum, in unserem Falle im Immunserum von mit Cholera und Typhus behandelten Tieren. Weiterhin waren sie im Normalserum verschiedener Tiere und des Menschen, aber nur in geringer Menge anzutreffen und ebenso — aber auch nur in sehr geringer Menge — in der von den normalen Leukocyten abzentrifugierten Flüssigkeit. Dagegen fanden sich nur Spuren in den auf verschiedene Weise hergestellten Leukocytenextrakten. Die „opsonische Wirkung“ trat aber auch in einzelnen Fällen ohne jeden Zusatz zu den Leukocyten kräftig auf.

Auffallend waren die großen Schwankungen, die sich unter absolut gleichen Versuchsbedingungen bei Wiederholung der Experimente in der Phagocytose bemerkbar machten, besonders in Parallelversuchen mit aktivem und inaktiviertem Immunserum und bei normalen Leukocyten und solchen von Immuntieren. Die „opsonische Wirkung“ trat also hier nicht als konstanter Faktor auf.

Ob die „Opsonine“ ein einheitlicher Stoff und welcher Art sie sind, ließ sich nicht entscheiden, wohl aber muß aus den Untersuchungen geschlossen werden, daß sie weder mit dem Ambozeptor noch mit dem Komplement identifiziert werden dürfen.

Ihre Abstammung ist noch fraglich. Daß sie aus den Leukocyten hervorgehen, dafür konnten keine zwingenden Beweise beigebracht werden.

## Literatur.

- 1) Metschnikoff, Immunität der Infektionskrankheiten. 1902.
- 2) Dean, Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXVII. p. 349 u. 449.
- 3) Bericht der Mikrobiologenkongress in Berlin. 1906. Beilage zu Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII.
- 4) Pettersson, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. p. 537.
- 5) Lambotte et Stiennon, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. p. 224, 393, 503.
- 6) Neufeld u. Rimpau, Dtsche med. Wochenschr. Bd. XL. 1904. p. 1458.
- 7) Neufeld u. Töpfer, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII.
- 8) Gruber u. Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 5. p. 249.
- 9) Löhlein, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XX. 1906. p. 939.
- 10) Bordet, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895. p. 462; T. XI. 1897. p. 177.
- 11) Denys et Leclef, La cellule. 1895.
- 12) Wright and Douglas, Proceed. Royal Society. Vol. LXXIII. 1904. p. 128.
- 13) Bulloch and Atkin, Proceed. Royal Society. Vol. LXXIV. 1905. p. 379.
- 14) Hektoen and Rüdiger, Journ. of Infect. Diseases. 1905. Vol. II. p. 128.
- 15) Wright, Douglas, Stewart, Proceed. Royal Society. Vol. LXXII. 1903. p. 357.
- 16) Levaditi, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XV. 1901. p. 894.
- 17) Savtschenko et Melkich, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XV. 1901. p. 498; T. XVI. 1902. p. 106.
- 18) Weinstein, Berl. klin. Wochenschr. 1906. p. 1007.
- 19) Gruber u. Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 248.
- 20) Ascher, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. p. 449.

*Nachdruck verboten.*

## **A report of immunization curves derived from goats treated with certain haemolytic bacterial toxins (Vibriolysin and Staphylolysin).**

(Research from the Statens Serum Institut, Copenhagen 1904—1905.)

By **L. W. Famulener**, Assist. Prof. of Pathology, Indiana University.

With 12 curves.

### **Introduction.**

During a series of experiments upon certain haemolytic toxins, it became necessary to prepare their antitoxic sera by immunizing animals. Opportunity was taken at the same time to follow these immunizations, which were produced by varied methods of dosage.

As these results may be of some interest to future workers in this field, they will be submitted as curves together with the methods by which they were obtained. No attempt will be made in this report to discuss the various questions arising in connection with the subject of active and passive immunity. It will be confined strictly to data, methods, and explanatory notes.

### **Preparation of the Haemolysins.**

In this work two haemolytic toxins were used, which will be designated: 1) "Vibriolysin", and 2) "Staphylolysin". The Vibriolysin was derived from filtered beef-bouillon cultures of the *Vibrio Naskin*, while the Staphylolysin was produced in like manner from *Staphylococ. pyogen. aur.* cultures. The filtered cultures were preserved by placing them in sterile flasks, covering with toluol, and keeping in the refrigerator at a low temperature. The haemolytic power of each remained practically unchanged during the course of the experiments.

### **Immunization of the animals.**

Goats were used for immunizing purposes. Subcutaneous injections of the beef-bouillon-lysins were used in all cases. The amounts and number of injections were varied in accordance with experimental conditions. Blood samples were taken from the jugular vein under aseptic precautions, and at the same hour of the day. After taking the blood, the serum was allowed to separate by clotting at room temperature, then removed and placed in refrigerating room. It was kept under these conditions until each series was completed then all were tested collectively, in order to insure uniform conditions for final tests.

### **Testing the antihaemolytic serum.**

The "test tube method" is applicable in estimating the value of this particular class of antibodies. It possesses certain advantages over animal experimentation, such as simple technic, rapidity of end reaction, a high degree of accuracy, etc. Erythrocytes must be employed; for the Vibriolysin those of the horse, while for Staphylolysin, rabbit corpuscles are required. In each case the blood was prepared in the same manner, that is, drawn from normal animals, defibrinated,

then centrifugated, the serum removed and corpuscles freed from serum by repeated washings with physiological salt solution. From these a 1% suspension was made in physiological salt solution just before use.

In order to test the antihæmolytic power of the serum against the homologous lysin, a slight modification of the Institute method was employed. In the first place, a preliminary test was made in each series to determine the boundary limits, ranging from a definite hæmolytic action to complete neutralization. The test proper was as follows: A constant amount (1 c. c.) of lysin was measured into each of a series of test tubes, then from each of the serum samples varying amounts in proper dilution added. To the mixture of lysin-antilysin, sufficient salt solution (0.9%) was added to bring the total up to 2 c. c., then thoroughly mixed by shaking and placed in the water-bath at 37° C for one hour. At the end of this time the tubes were removed from the bath and to each was quickly added 8 c. c. of the 1% blood suspension. Again they were well shaken and returned to the bath for two hours. The time periods in each case were ample to allow complete interaction to take place. After final removal from the bath, the tubes were placed in the refrigerator (temperature approximately 5° C) for 18—20 hours. This practically stopped any further changes. In the meanwhile the cellular elements settled to the bottom of the tube, leaving a transparent fluid above, in color varying from clear white to deep red. A control series was run in each experiment with homologous lysin and the blood suspension. The lysins were of constant value, and therefore gave index to any variation which the blood might show at different times.

After the cellular elements had subsided, an examination showed varied degrees of coloration in the fluid indicating the degree of hæmolysis. Therefore it was not only possible to run the neutralization curve (graphically) through the whole series, but also by colorimetric means, one or more parallel color curves, each of a constant degree of hæmolysis, could be derived, the latter affording means of checking results and securing a higher degree of accuracy. These color curves stood in close relation to the neutralization curve. The hæmolytic valuation of the tubes used in running the color curves was found by comparing with a standard colorimetric scale. This scale was made as follows: 1 c. c. of washed red blood corpuscles were added to 125 c. c. of distilled water, complete hæmolysis resulting and producing an bright crimson fluid. To this is given a value of 100. The color scale is made by diluting with distilled water in definite proportions so that the scale may read 90, 85, 80, 75 etc., downward.

After the neutralization and one or more color curves are derived in the series, each curve is expressed by the numerical values found from amount of antilytic serum used in each incident. For the purpose of plotting the curve, the inversed values of the numbers found are taken. Three different curves were derived and plotted in this way in many of the series of experiments submitted. Coefficients were obtained from the data, so by their application the several curves may be reduced approximately in terms of one curve for each separate experiment. Then means were taken between the slight variations, and the final result expressed in one curve. Thereby experimental errors were diminished to a great extent. Duplicate tests were carried out on entire series in many cases in order to prove the work.

### Presentation of the antihaemolytic curves.

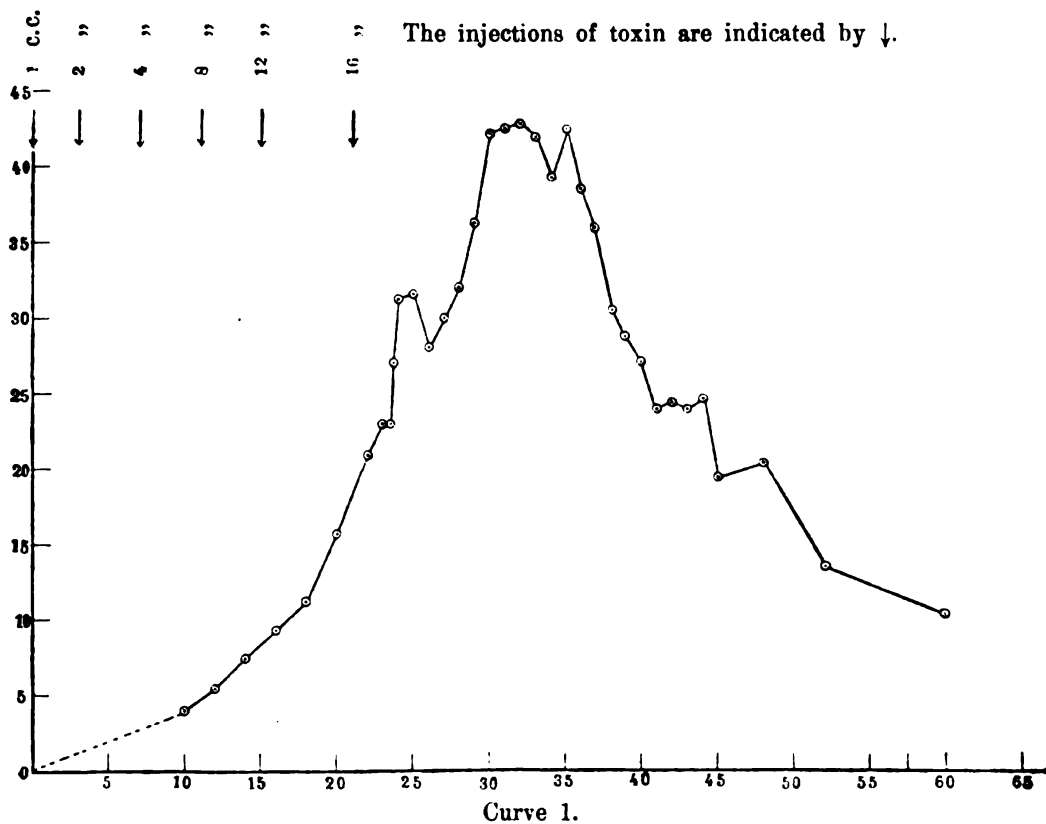
Goats were used for the different immunizations. In presenting the curves, each animal will be treated individually: The antitoxic curves derived will be submitted consecutively in the order of immunization. This independent treatment will bring out any peculiarity in the animal which may exist when compared with parallel immunizations produced in other animals. These immunizations varied one from the other only in the dosage and intervals between injections, as indicated in the plotted curves. Definite periods of rest, varying in length of time, intervened between the different immunizations.

The work upon Goat 5 (Vibriolysin) and Goat 6 (Staphylolysin) was fairly parallel and carried out practically at the same time, the whole covering a period of about one year. The curves are self-explanatory to a great extent, the amounts and days of injection appearing in each case. The abscissa indicates the number of days from time of first injection, while the ordinate shows the inverse numerical values of the antilytic content in each instance. All the injections were made subcutaneously.

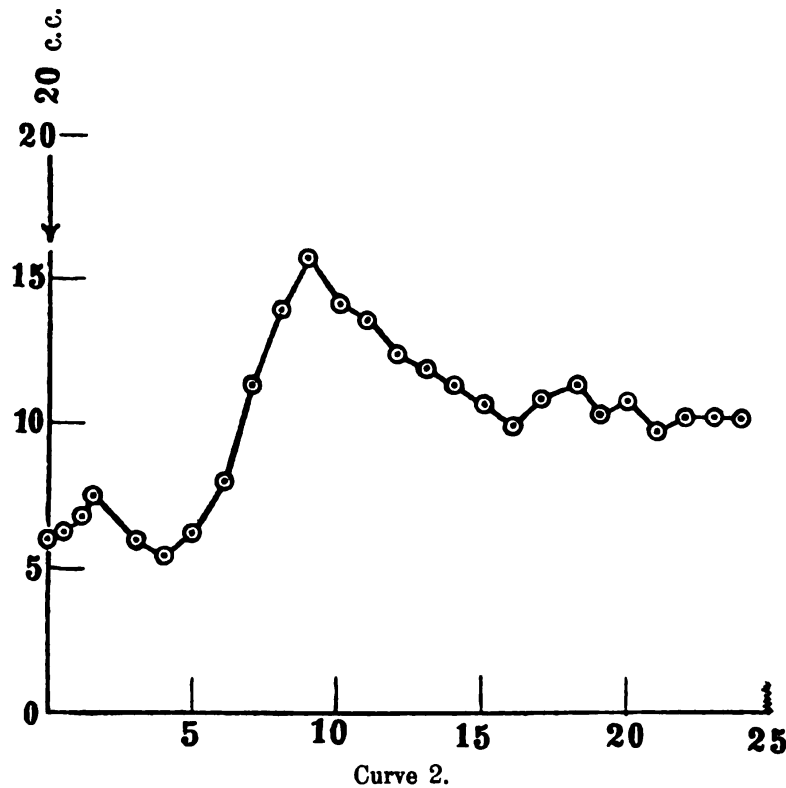
#### 1. Active immunization.

##### a) Antivibriolysin curves (Goat 5).

This animal was a matured female in normal condition. However, it had been previously immunized against the same lysin, but a long period of rest had elapsed since the treatment. If a specific antibody were present when the study was taken up, it was not shown by careful test, and for all purposes it might be considered nil.

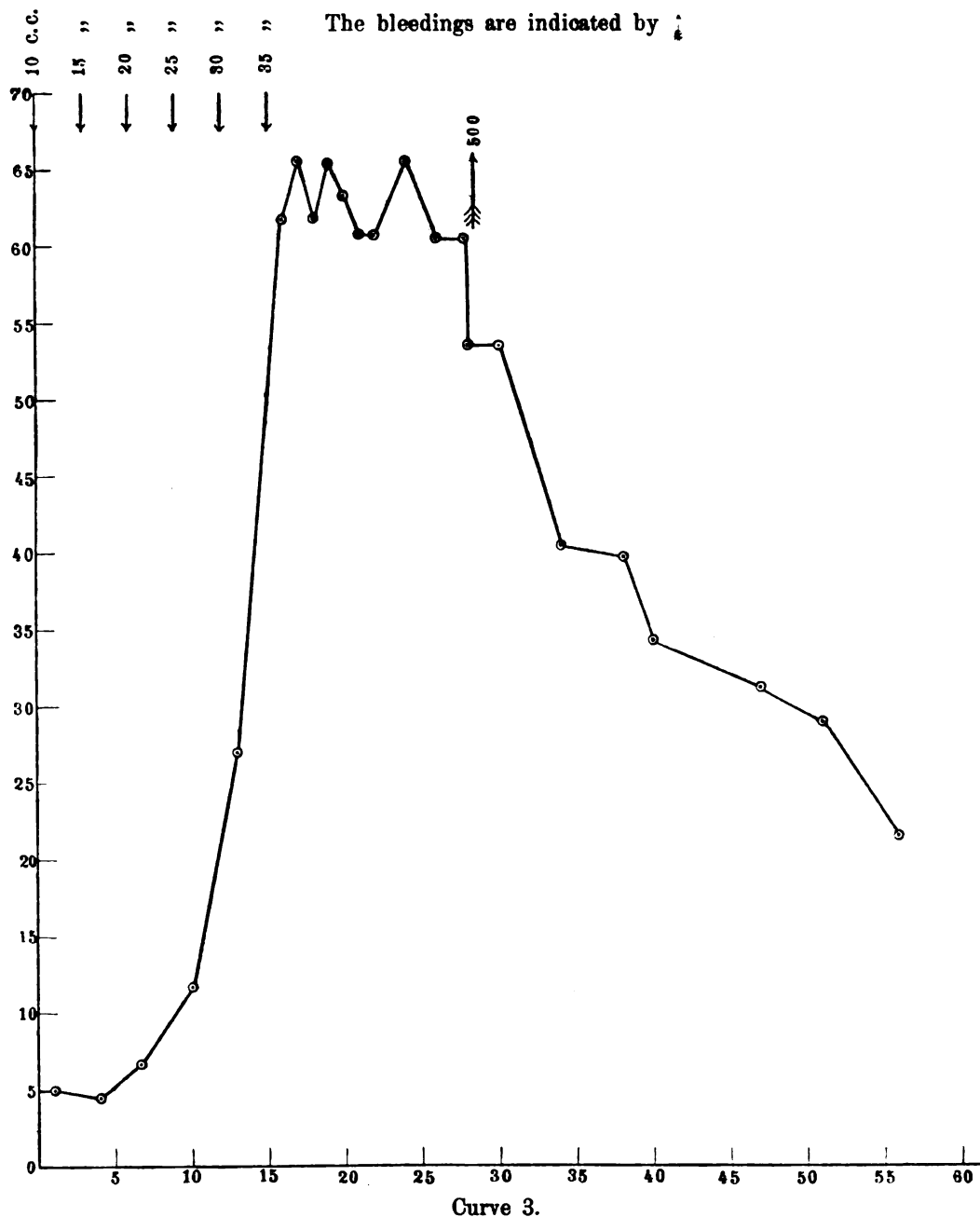


Curve 1. An immunization produced by relatively small initial injections followed by gradually increasing amounts about every fourth day. No untoward effects were induced by the toxin until the 12 c. c. injection was given; then a slight stiffness in movements, from which the animal soon recovered. On the sixth day following this injection, 16 c. c. were given which was followed by marked stiffness of movements, great depression and the refusal of all food. Locally, the larger doses caused an area of infiltration over and about the point of injection, which was slowly absorbed. Complete recovery from these characteristic symptoms took place within a few days. The injections were now stopped.



Curve 2. A moderately large single injection (20 c. c.) of the Vibriolysin was given when the anticontent had sufficiently diminished, following the above experiment. The animal exhibited the same symptoms as pointed out in the preceding paragraph, but complete recovery soon followed.

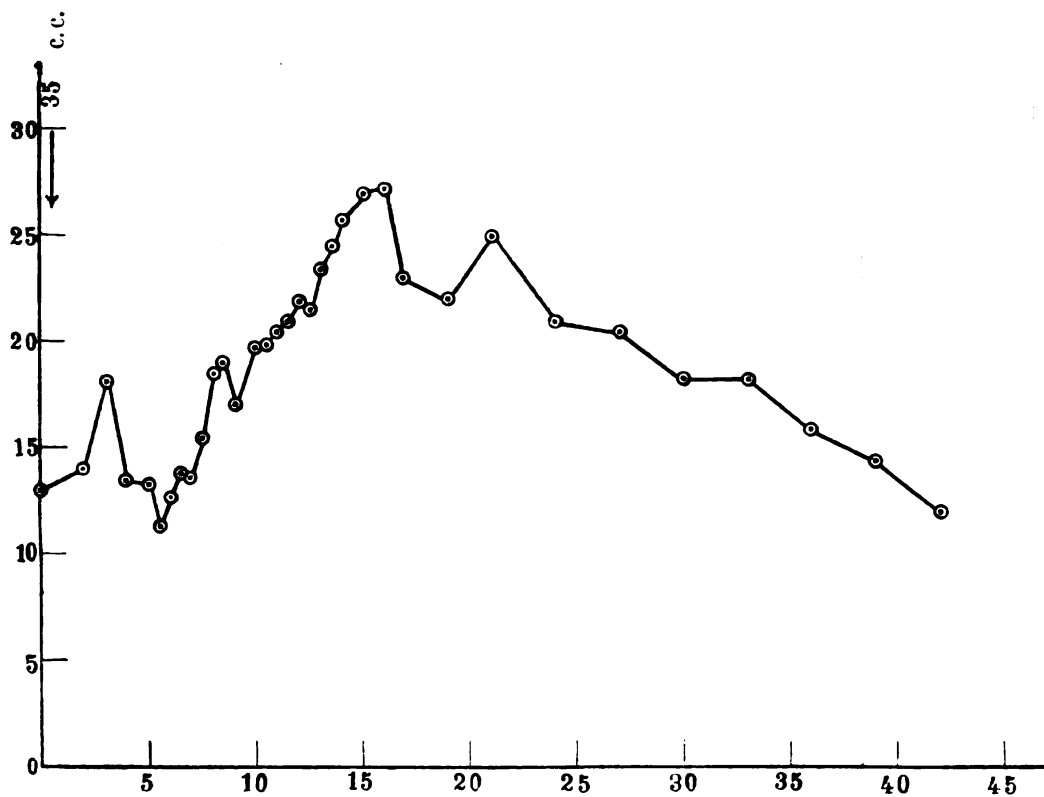
Curve 3. Repeated, larger injections were employed every third day to produce an immunization. After the injection of 25 c. c. was given, the animal showed slight symptoms; after the 30 c. c. injection, the symptoms became more marked. But, in both cases partial recovery by the third day took place. Finally, following the 35 c. c. injection, the animal showed pronounced characteristic symptoms. The injections were stopped as probably an equal or increased dose following on the third day would have proved fatal. In about one week, the animal had recovered from the symptoms. On the 28th day of immunization, 500 c. c. of blood was drawn. This altered the contour of the curve.



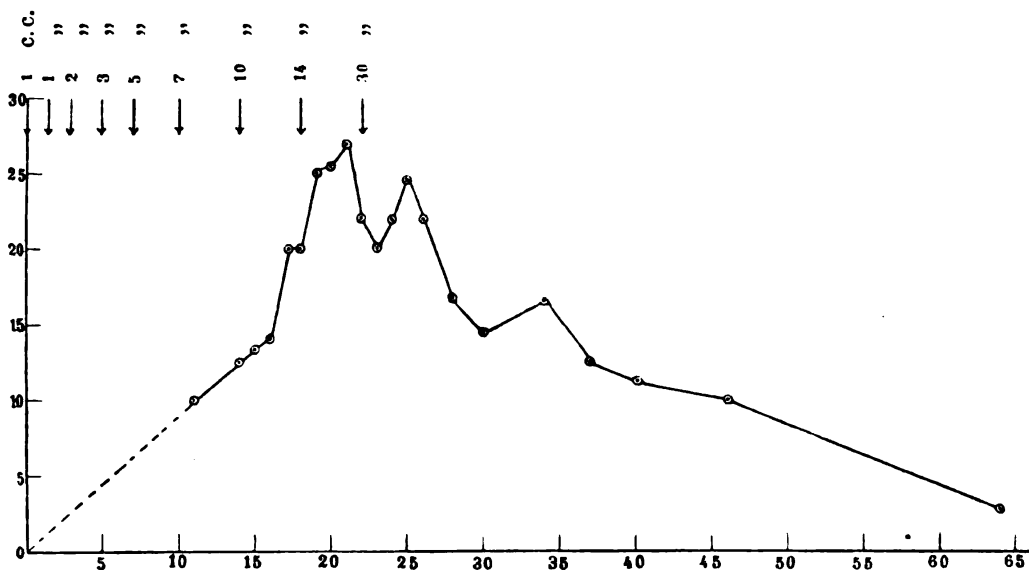
Curve 4. A single large injection (35 c. c.) which was considered to be near the maximum non-lethal dose, was given. Very marked symptoms followed, but the animal gradually recovered.

b) Antistaphylolysin curves (Goat 6).

The animal used for this particular series of active immunizations was similar in many respects to the one used for the antivibriolysin. It was a matured female which had been previously immunized against the Staphylolysin, but showed no specific antibodies in its serum at the time the present work was taken up. The antitoxic curves will be given in order as produced.



Curve 4.

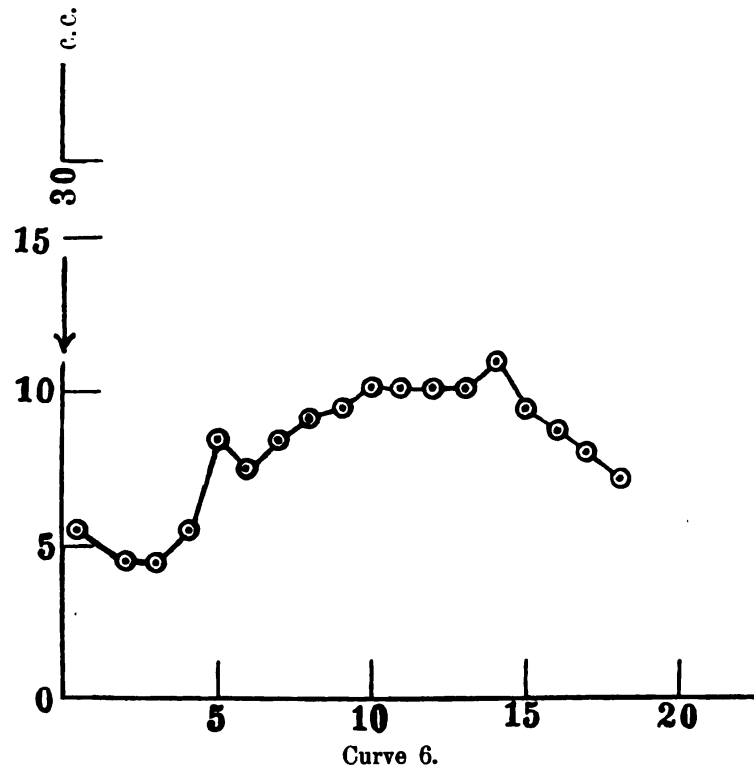


Curve 5.

Curve 5. The animal was pregnant at the time the immunization was started. The fourteenth day after the first injection, three kids were born (two living and one dead); apparently full term. The young were removed from the mother owing to her inability to supply sufficient nourishment.

The immunization was started by the injection of small amounts of the lysin and gradually increasing every second day in the

earlier part; later, at longer intervals. No untoward symptoms developed from the injections excepting a slight local infiltration following the largest doses.



Curve 6. A single large subcutaneous injection (30 c. c.) was given. The animal showed no general symptoms. Locally, a slight infiltration at point of injection.

Curve 7. Repeated large injections were given every third day. No ill effects were produced excepting the local infiltration.

Curve 8. A single large dose (150 c. c.) of the lysin was given subcutaneously, and owing to its volume, the injections were given in several places in order to distribute the amount. Large infiltrated areas resulted, but no general symptoms other than discomfort produced by the localized oedema.

It must be noted in passing that the Staphylolysin did not produce marked symptoms of intoxication as was observed under Vibriolysin. But, a strongly antihæmolytic serum was produced.

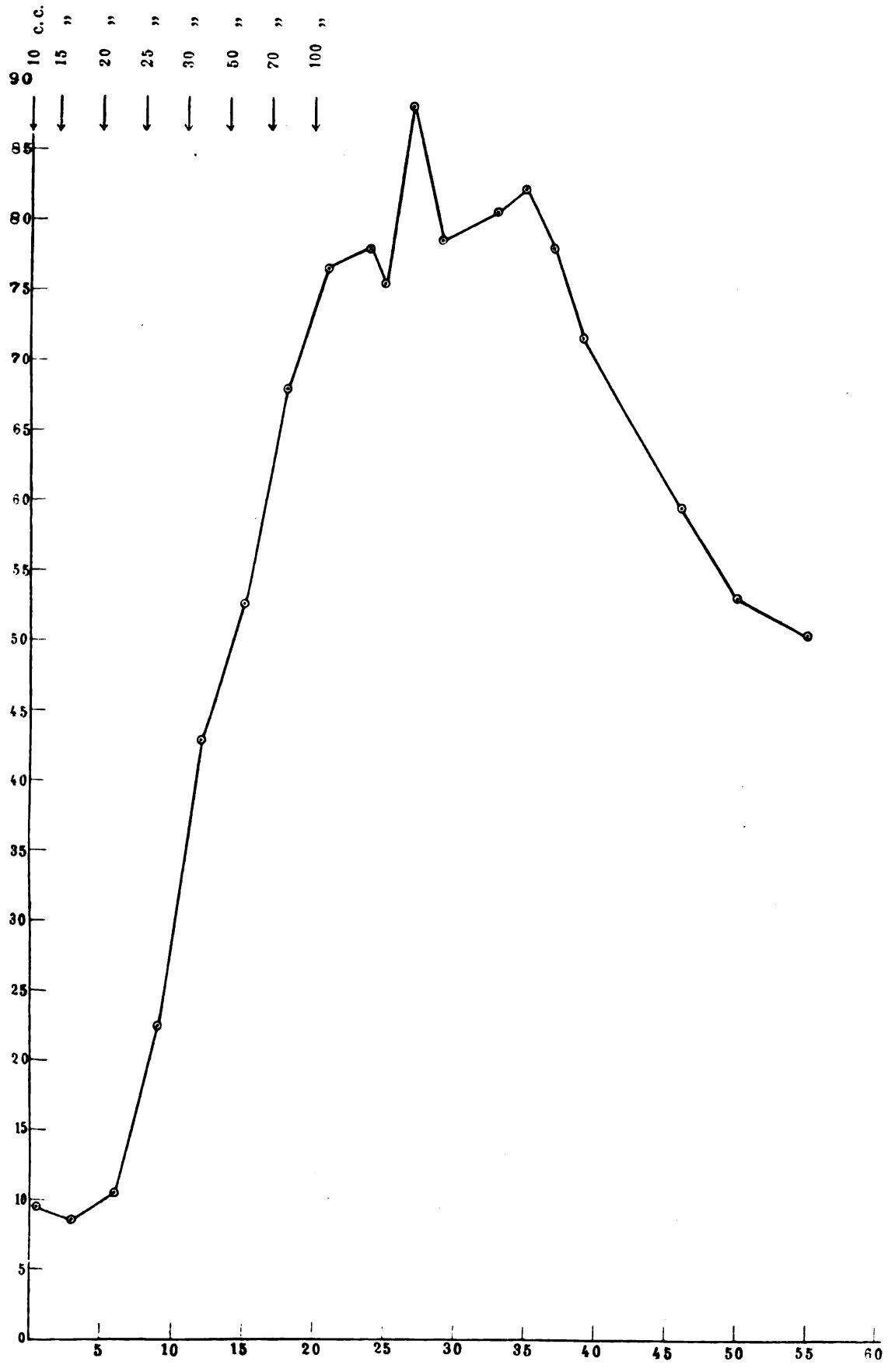
## 2. Combined active and passive immunization.

### Antivibriolysin (Goat 39).

The animal used in this experiment was also a fully matured female, which had never been immunized. The immunization was carried out in order to compare the resulting curve with those curves which were produced from animals previously immunized a number of times. Also the influence upon the fall of the anticontent by passive immunization (intravenous) with a homologous antitoxic serum produced in another goat.

Curve 9. An active immunization was produced against Vibriolysin. Small amounts were given daily for the first five days, then

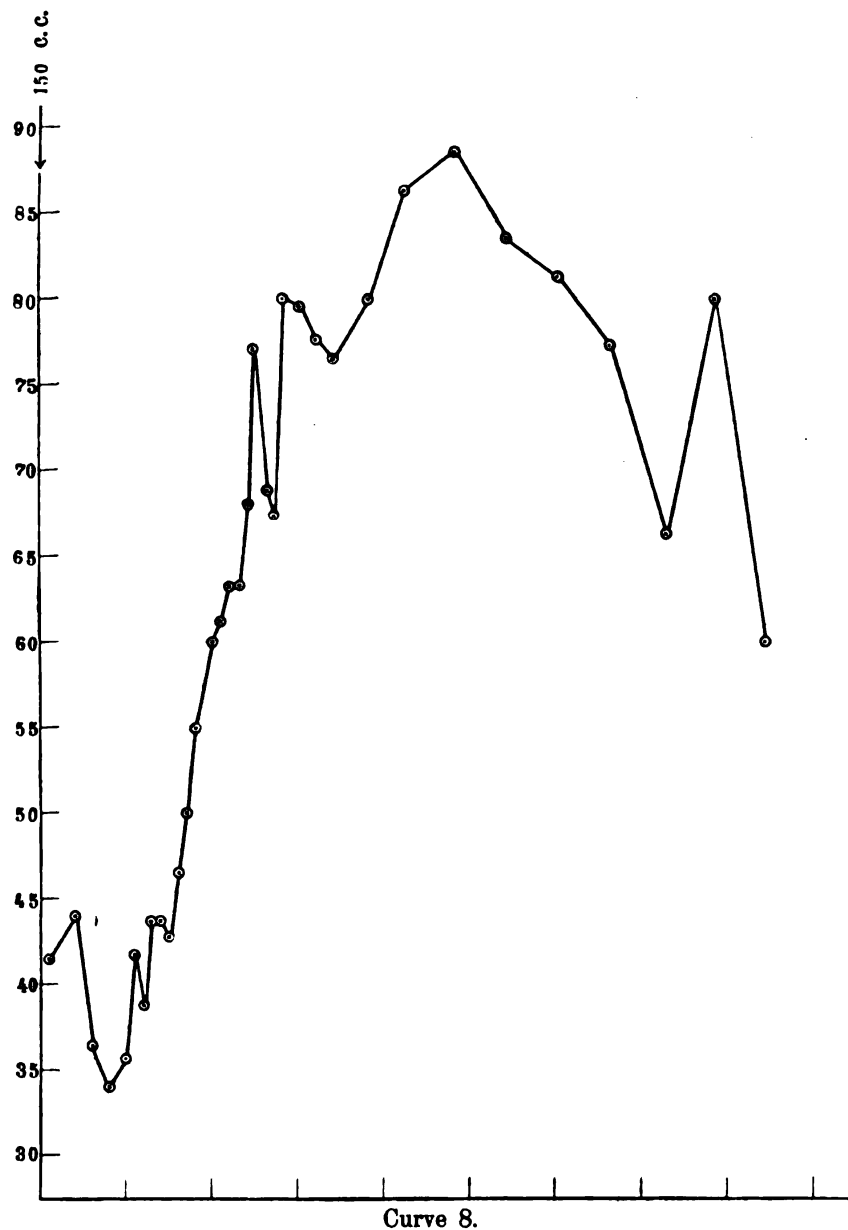




Erste Abt. Orig. Bd. XLIV.

Curve 7.  
Heft 1.

5

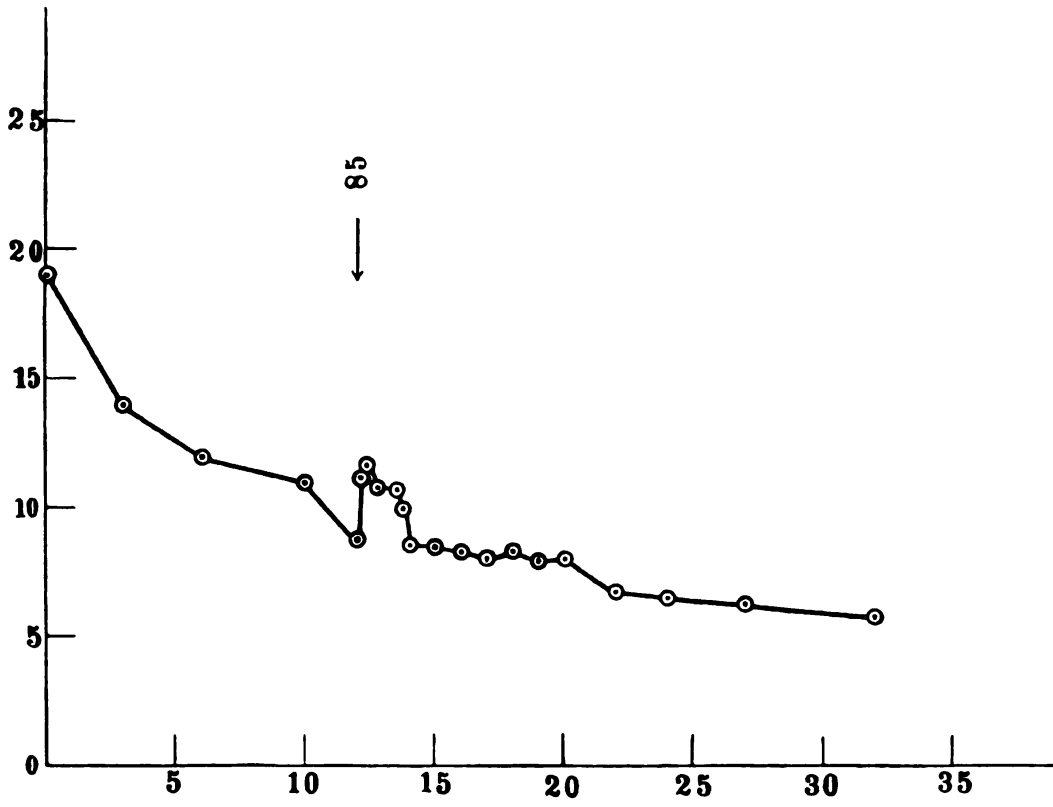


every second day until the immunization was completed. This animal was not as susceptible to the lysin as Goat 5; the toxic symptoms were not so marked. The fiftieth day after the first injection, a bleeding of approximately 600 c. c. was made. The last injection of lysin was on the thirty-seventh day.

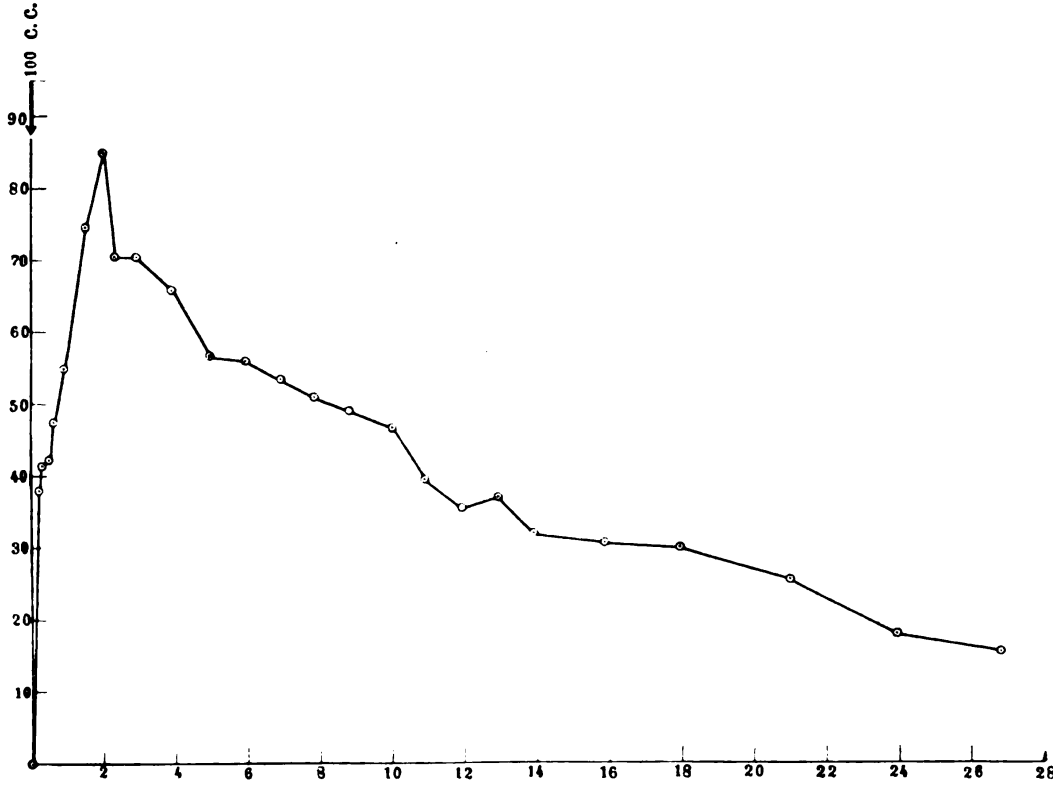
Curve 10. This curve was a continuation of Curve 9, during the fall of the anticontent of the blood. An intravenous injection of Antivibriolysin was given. The serum was derived from Goat 5 and showed an antilytic value of 0.0115 c. c. serum to completely neutralize 1 c. c. of the Vibriolysin. Of this serum 85 c. c. were injected into the jugular vein. Samples were drawn from the opposite jugular, beginning a few minutes after injection, and repeated several times during the first twenty-four hours, then less frequently afterwards.



Generated on 2019-09-14 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/chi.73122977  
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access\_use#pd-us-google



Curve 10.



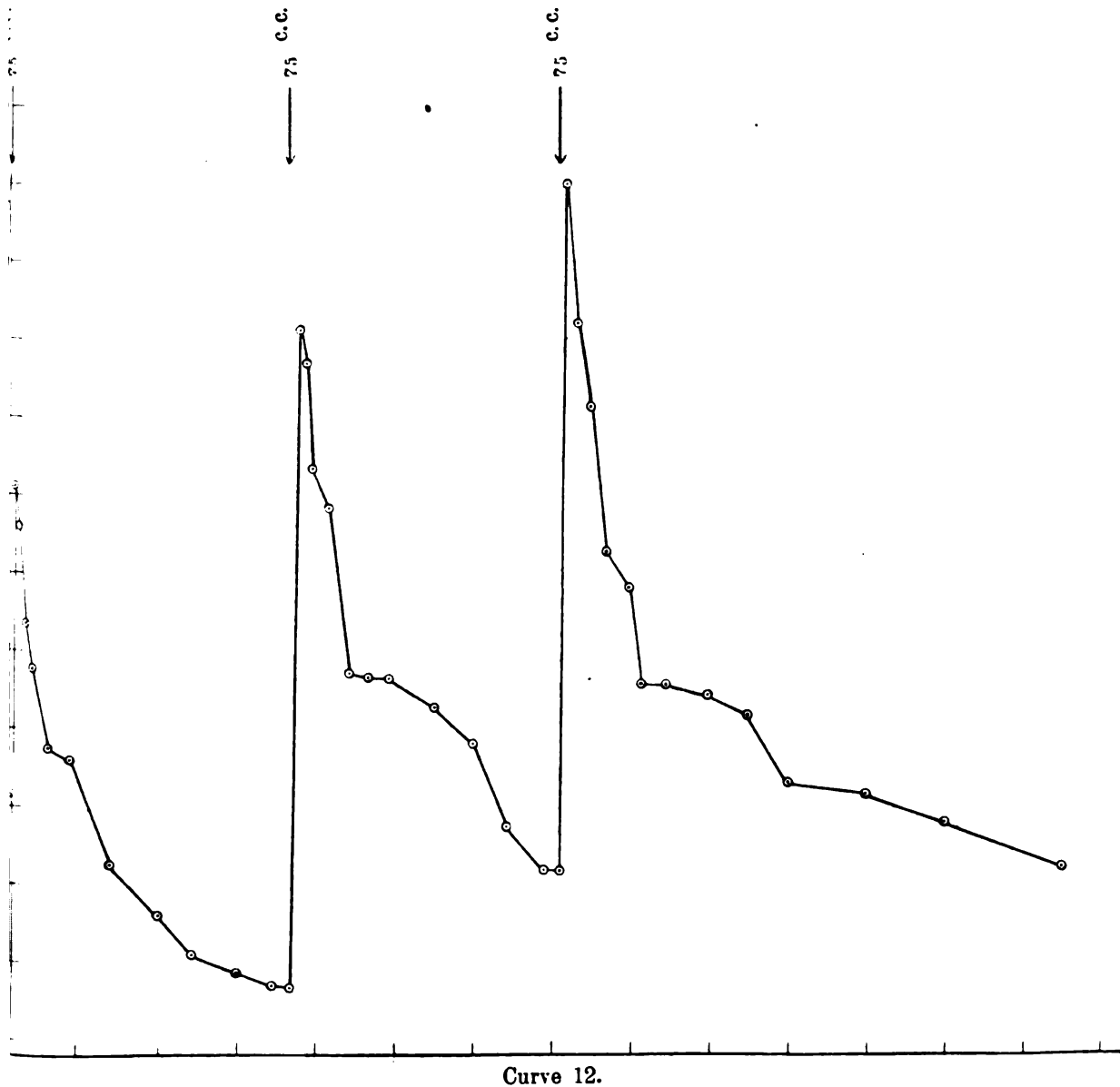
Curve 11.

## 3. Passive immunization.

## Antivibriolysin (Goat 32).

The animal used for the passive immunity work was only partially grown (Wt. 0,20 kg) at the time of the first injection of serum.

Curve 11. The Antivibriolysin was derived from Goat 5, and showed a neutralization equivalent value of 0,0115 c. c. to 1 c. c. Vibriolysin. Of this serum 100 c. c. were injected into the jugular vein. The injection was not entirely successful since some of the serum escaped into the surrounding tissues, and produced a slight, localized infiltration. This in part will account for the slow rise to the maximum of the anti-substance in the blood as shown in the first part of the curve. Samples were drawn from the opposite jugular at short intervals after the injection, then less frequently as the anticentent diminished.



Curve 12.

Curve 12. After sufficient time had elapsed to allow the disappearance of the antibodies from the blood in the above animal, the test was repeated. In this case Antivibriolysin serum derived from Goat 39 was employed. Its neutralizing value was 0,013 c. c. antilysin to 1 c. c. lysin. Three injections of 75 c. c. each were made intravenously at intervals of seven days. Samples were taken, as in the previous case, from the opposite vein. It will be noticed from the curve that the closely repeated injections of antitoxic serum did not allow the antibodies to become eliminated from the blood before the second and third injections were given, but, the regularity of the resulting curves prove to be of much interest.

In conclusion, I wish to take this opportunity to acknowledge my indebtedness to Dr. Thorvald Madsen, Director at the Institute, for valuable aid and suggestions during the course of the above investigations.

*Nachdruck verboten.*

### On the thermolability of complement<sup>1)</sup>.

[From the Pathological Laboratory of Indiana University.]

By **Wilfred H. Manwaring**, Sc. B., M. D.,  
Associate Professor of Pathology, Indiana University.

With 1 diagram.

In work with cytotoxic sera, it is often necessary to eliminate the action of the complement, or thermolabile substance. To do this, it is customary to heat the serum to from 55° C to 60° C, for from 30 to 60 minutes.

During the course of experiments on the thermogenesis of auxihemolysins, it was necessary to determine, with some degree of accuracy, the time at which the complement is destroyed, when serum is so heated. In one such experiment, a flask containing about 350 c. c. of normal serum was immersed in a thermostatic water-bath at 59° C, and samples of the serum were removed, at two-minute intervals, and tested for the presence or absence of complement. With much surprise it was noted that the complement was apparently completely destroyed at the end of eleven minutes, in spite of the fact that by that time the contents of the flask had reached a temperature of but about 53° C.

This gave a very different conception of the lability of complement from the conception gained from the routine methods of complement destruction. Experiments were, therefore, undertaken to determine, somewhat accurately, the thermal-destruction point of this substance, at different temperatures.

To do this, 1 c. c. of normal serum was placed in each of a dozen or more small test-tubes, and the test-tubes supported, about an inch apart, in a thermostatic water-bath. At stated intervals, tubes were removed and cooled in ice water. The serum in each tube was then tested for complement.

1) Presented before the Chicago Pathological Society, April 9, 1906. Work aided by the Rockefeller Institute for Medical Research.

In making the test, there was added to each tube an amount of amboceptor (heated hemolytic serum) large enough to give 100 per cent. hemolysis with about a fifth of the complement originally present in the tube. No diminution in hemolytic power would therefore be discernible, till over four-fifths of the complement had been destroyed. After this a further decrease in complement would be made evident by lessened hemolysis.

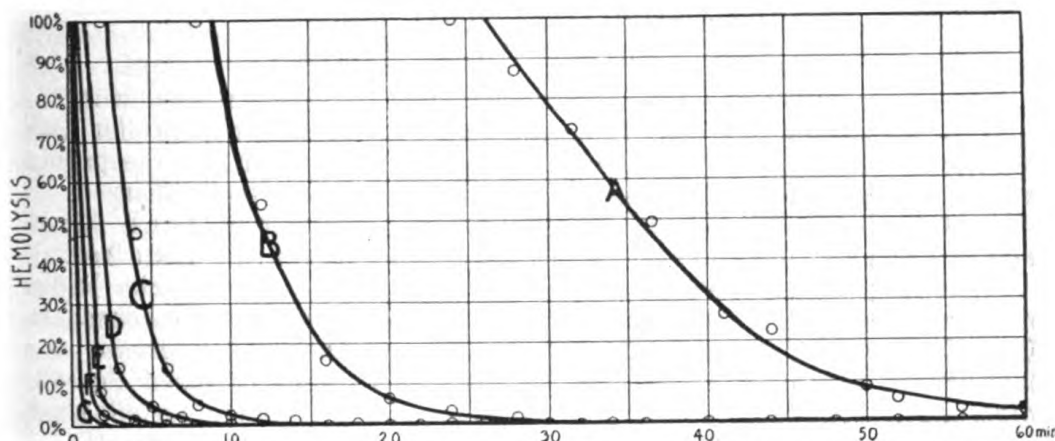


Fig. 1. — The Destruction of Complement by Heat. Curves show loss of the reactivating power of normal goat serum when heated at different temperatures for different periods of time. The experiments so planned that no apparent diminution of hemolytic power would take place, till over 80 per cent. of the complement had been destroyed. A = curve when serum is heated to 49° C; B = curve at 51° C; C at 53° C; D at 55° C; E at 57° C; F at 59° C; and G at 61° C. Curves made with same corpuscles, same sera, and on the same day.

The results of such an experiment are shown graphically in Fig. 1. From this it is seen that, when the serum is heated to 49° C, diminution in hemolytic power becomes evident in about thirty minutes, but that traces of complement remain undestroyed at the end of an hour. When heated to 51° C (B), diminution is evident in ten minutes and apparent complete destruction takes place in thirty-five minutes. At 53° C (C), complete destruction is shown in fourteen minutes; at 55° C (D), in twelve minutes; at 57° C (E), in eight minutes; at 59° C (F), in four minutes; and at 61° C (G), in two minutes.

It is thought that a more careful study of this phenomenon may throw light on the molecular composition of complement.

#### Summary.

Normal goat serum, heated to 61° C, for two minutes, completely loses its power to reactivate a hemolytic goat serum made inactive by heat. Similar destruction of complement takes place at 59° C, in four minutes; at 57° C, in eight minutes; at 55° C, in twelve minutes; at 53° C, in fourteen minutes; and at 51° C, in thirty-five minutes. At 49° C, complete destruction has not yet taken place in sixty minutes.

*Nachdruck verboten.*

## Spezifisches Antitoxin?

**Eine kritische Studie, mit besonderer Berücksichtigung der Arbeit von G. v. Marikovsky<sup>1)</sup>.**

[Aus dem hygienisch-bakteriologischen Institute der Universität Erlangen (Direktor Prof. Dr. Heim).]

Von Privatdozent Dr. **Weichardt.**

In jüngster Zeit sind wiederholt Arbeiten veröffentlicht worden, deren Autoren, sei es wegen ungenügender Berücksichtigung der Immunitätsliteratur, sei es aus anderen Gründen, Feststellungen, die in den letzten Jahren gemacht worden sind, vollkommen ignoriert haben.

Infolgedessen sind sie zu Resultaten gekommen, die moderner Kritik meines Erachtens durchaus nicht nach allen Richtungen hin stand halten.

Derartige Kritik, eine wenig dankbare Aufgabe, unterbleibt leider oft genug, sicherlich zum Schaden des Fortschrittes der Wissenschaft. Eine Klärung der strittigen Punkte muß aber auch im Interesse der betreffenden Autoren angestrebt werden, wenn infolge ihrer Schlußfolgerungen Grundbegriffe der Immunitätsforschung in Frage gestellt sind.

Ein solcher Fall liegt durch die Arbeit von G. v. Marikovsky offenbar vor. Er sucht eine wichtige Vorstellung Ehrlichs zu erschüttern.

Bekanntlich hat Morgenroth (2) nachgewiesen, daß eine passive Immunisierung gegen Morphium, wie sie Hirschlaff (3) bewiesen zu haben glaubte, nicht zu Recht besteht.

Passive Immunisierung gegen ein Antigen, echte Toxin-Antitoxinabsättigung ist ja nur dann als vollkommen erwiesen anzusehen, wenn es gelingt, mit äußerst geringen Mengen des Antitoxins relativ hohe Dosen des entsprechenden Toxins glatt abzusättigen.

Diese Forderung war aber, wie Morgenroth schlagend nachweisen konnte, bei den Hirschlaffschen Resultaten nicht erfüllt. Der Satz Ehrlichs, daß allen chemisch gut definierten Substanzen die Fähigkeit abgeht, Antitoxine zu erzeugen, ist also durch Hirschlaffs Versuche nicht erschüttert, ebenso aber auch nicht durch die neueren von G. v. Marikovsky:

Die Resultate Hirschlaffs und auch die v. Marikovskys, welche Forscher offensichtlich bei kleinen Tieren etwas erhöhte Resistenz gegen Morphium mit dem Serum von mit Morphium behandelten Tieren beobachtet haben, sind für einen jeden durchaus nicht mehr rätselhaft, der sich die Mühe genommen hat, die Arbeiten über Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter (Ermüdungstoxin) zu verfolgen und die Konsequenzen daraus zu ziehen.

Bekanntlich ist nachgewiesen (4, 5, 6), daß bei chemischer Erschütterung von Eiweiß bei Temperaturen von unter 40° sich ein Toxin abspaltet. Dieses ist streng charakterisiert dadurch, daß es in reinem Zustande von minimalen Mengen eines spezifischen Antikörpers unwirksam gemacht wird, und zweitens dadurch, daß es, in großen Quantitäten einverleibt, schädigt, in kleinen aktiv immunisiert. Ich habe diese

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLIII. Heft 5. p. 449.



Verhältnisse bekanntlich mittels Kymographionkurven des genaueren verfolgt (4).

Wie ich mit Hilfe des Absättigungsversuches durch den spezifischen Antikörper habe zeigen können, wird dieses Ermüdungstoxin nicht nur durch chemische Erschütterung der Eiweißmoleküle in vitro, sondern auch im Tierkörper, bei der Ermüdung abgespalten, aber auch nach Einführung chemisch definierbarer Substanzen im unermüdeten Organismus.

Zuerst konnte ich das mittels des hochinteressanten, frisch hergestellten wirksamen kolloidalen Palladiums (7) nachweisen. Es gelang, durch Injektion der Versuchstiere mit dieser bekanntlich Wasserstoff aktivierenden, sonst aber ungiftigen chemischen Substanz nicht nur alle Stadien der Ermüdung künstlich zu erzeugen, sondern diese auch mittels geringer Mengen des spezifischen Antikörpers zu verhüten. Ferner war es möglich, durch Einführung mäßiger Dosen des kolloidalen Palladiums in den Tierkörper nur so viel des Toxins abzuspalten, daß letzteres das Versuchstier nicht schädigte, sondern aktive Immunisierung bewirkte, wie bereits nach kurzer Latenzzeit mittels Kymographionkurven stets nachgewiesen werden konnte.

Es lag nahe, anzunehmen, daß nicht nur das kolloidale Palladium, sondern auch andere Chemikalien zur Abspaltung des Ermüdungstoxins geeignet sein würden.

In der Tat gelingt es bei Einführung vieler anderer, und zwar oft sehr giftiger chemischer Substanzen in den Tierkörper, nachzuweisen, daß sich ebenfalls als Teilgift Ermüdungstoxin abspaltet, welches dann, je nach der gewählten Dosierung, entweder Schädigung des Versuchstieres oder aktive Immunisierung desselben bewirkt, also in letzterem Falle erhöhte Leistungsfähigkeit.

Dieser Nachweis ist natürlich nur unter Innehaltung ganz bestimmter Kautelen möglich, da die charakteristischen Wirkungen des Eiweißabspaltungsantigens von Ermüdungstoxincharakter durch die heftigeren rein chemischen Giftwirkungen der differenten Injektionssubstanzen sehr leicht verdeckt werden.

Ein recht günstiger, den Experimentator unterstützender Umstand besteht allerdings in der ganz bestimmten Latenzzeit des abgespaltenen Toxins, welche, in Verbindung mit der Absättigungsfähigkeit desselben durch seinen spezifischen Antikörper, einen klaren Einblick in diese nicht ganz einfachen Verhältnisse fast immer ermöglicht.

Wenn man z. B. 2 Mäusen, von denen die eine vorher mit dem spezifischen Antikörper immunisiert worden ist, in Pausen von etwa 10–20 Minuten je  $\frac{1}{10}$  ccm einer sehr schwachen Cyankalilösung (etwa 1:3–5000)<sup>1)</sup> subkutan injiziert, so verhalten sich die beiden Versuchstiere außerordentlich verschieden: Die unvorbehandelte Maus wird nach einiger Zeit träge und müde. Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde schon ist die Körpertemperatur deutlich gesunken, es vertieft und verlangsamt sich die Atmung, ja im Verlaufe der nächsten Stunden kann durch sachgemäße vorsichtige Weiterinjektion kleiner Dosen von Cyankalilösung das Versuchstier in einen hochgradig soporösen Zustand übergeführt werden mit außerordentlich verminderter Körpertemperatur (von 30° und weniger).

1) Die richtige Verdünnung muß für die zur Verfügung stehenden Mäusestämme durch Vorversuche festgestellt werden. Zuerst werden am besten schwächere, später etwas stärkere Lösungen injiziert.

Ganz anders verhält sich die durch Fütterung mit ermüdungsantitoxinhaltigen Präparaten gut passiv immunisierte und dann in ganz gleicher Weise mit Cyankalilösung behandelte Kontrollmaus. Sie wird kaum mehr affiziert als eine in gleicher Weise mit physiologischer Kochsalzlösung behandelte. Ihre Körpertemperatur sinkt nicht unter  $36^{\circ}$ , und auch nach öfter wiederholten Injektionen genau derselben kleinen Dosen von Cyankalilösung wie bei der ersten Maus tritt Sopor dieses Tieres nicht ein.

Durch Verwendung von nur wenigen Injektionen der Cyankalilösung läßt sich die Abspaltung von Ermüdungstoxin im Organismus unvorbehandelter Versuchsmäuse so in Schranken halten, daß diese gar nicht schwer geschädigt, wohl aber aktiv immun gegen unser Toxin werden. Sie sind dann nach genügender Latenzzeit ebenso resistent gegen Injektionen schwacher Cyankalilösung oder auch gegen Injektionen des reinen Ermüdungstoxins wie die passiv per os immunisierte Maus des eben geschilderten Versuches, ihre Gastrocnemiuszuckungskurve entspricht ferner einer erhöhten Leistungsfähigkeit.

In einer Reihe von Versuchen mit wiederholt vorsichtig injizierten geringen Dosen der verschiedensten chemisch gut definierbaren Substanzen — Aetzalkalien, Alkohol, Karbol, Hg-Salzen, Phosphor, Arsen, Wasserstoffsuperoxyd, Coffein, auch Morphin und anderer — habe ich ebenfalls mehr oder weniger aktive Immunität gegen Ermüdungstoxin, daher erhöhte Leistungsfähigkeit der Versuchstiere zu erzielen vermocht. Allein alle diese Mittel erwiesen sich wegen ihrer zum Teil sehr starken direkt chemischen anderweiten Giftwirkungen zur planmäßigen Immunisierung gegen unser Ermüdungstoxin als unzweckmäßig. Indes hat ein jeder, der Chemikalien in kleinen Dosen subkutan injiziert, mit der Tatsache zu rechnen, daß, abgesehen von deren direkt chemischen Wirkungen, auch noch durch dieselben Ermüdungstoxin im Organismus aus dem Eiweiß abgespalten und damit unter Umständen eine gewisse aktive Immunisierung der Versuchstiere bewirkt wird, die sich später in erhöhter Leistungsfähigkeit derselben kundgibt.

Werden derartige Immunisierungen sachgemäß oft wiederholt, so geschieht nicht das, was man a priori erwarten sollte: der für Ermüdungstoxin spezifische Antikörper wird nicht in bedeutender Menge angehäuft; denn er ist, wie ich schon längst dargetan habe (5), leicht dialysabel und wird vom Nierenfilter nur bis zu einem gewissen Grade zurückgehalten. Ein größeres Plus desselben im Blute wird also stets durch den Urin, wie sich leicht mittels des biologischen Versuches nachweisen läßt, eliminiert. Das Serum auch schon lange behandelter Versuchstiere weist also selbst nach sehr zahlreichen Injektionen gar nicht viel mehr Ermüdungsantitoxin auf als das nur wenig injizierter. Immerhin ist man recht wohl im stande, auch mit solchem schwach antitoxinhaltigen Serum ziemlich reichliche Dosen des reinen Eiweißabspaltungsantigens von Ermüdungstoxincharakter abzusättigen, sei es daß das Toxin in vitro abgespalten, sei es daß es im Organismus selbst physiologisch oder auch durch Injektion von Chemikalien entstanden ist.

Hirschlaff sowohl als auch v. Marikovszky haben unzweifelhaft Serum vor sich gehabt, das durch wiederholte Injektionen der Versuchstiere mit chemisch differentem Stoffe etwas ermüdungsantitoxinhaltig geworden ist, also geeignet, die Leistungs- und Widerstandsfähigkeit der Versuchstiere etwas zu heben. Ein solches ermüdungsantitoxinhaltiges Serum bewirkt natürlich bei den Versuchstieren auch eine gewisse

Resistenzhöhung gegen den betreffenden chemisch definierbaren Körper selbst und kann so recht wohl ein spezifisches Antitoxin gegen denselben vortäuschen. In Wirklichkeit entgiftet dieses Serum aber nur die Eiweißabspaltungsantigene von Ermüdungstoxincharakter, die der chemisch definierbare Körper aus dem Eiweiß des Organismus abspaltet, erhöht daher die Resistenz des Individuums im allgemeinen dadurch, daß es diese eine Schädlichkeit eliminiert.

Gegen die direkt chemischen Giftwirkungen derartig definierbarer Stoffe wirkt aber ermüdungsantitoxinhaltiges Serum nicht. Daher haben derartige Scheinimmunisierungen gegen chemisch definierbare Substanzen sehr bald eine Grenze.

Ganz anders liegen dagegen die Verhältnisse, wenn die Tiere nicht mit chemisch definierbaren Substanzen, sondern mit reinem Ermüdungstoxin injiziert werden. Es genügt dann die äußerst geringe Dosis von 0,00005 g des Antikörpers, um die 100-fach ermüdende Dosis des Toxins bei einer Maus glatt abzusättigen.

Dieser Antikörper kann allerdings, wie ich gezeigt habe, reiner und hochwertiger als durch Injektion *in vitro*, durch chemische Erschütterung von Eiweiß bei Siedetemperatur hergestellt werden (6). Die Erzeugung eines Immunserums durch Abspaltung des Ermüdungstoxins im Körper der Versuchstiere mittels Morphiums muß dagegen wegen der starken direkten Morphiumgiftwirkungen für ganz besonders zweckmäßig gelten.

Eine etwas bessere Methode der Eiweißerschütterung im Tierkörper hat anscheinend v. Marikovszky in seiner modifizierten Methodik getroffen.

Durchaus falsch wäre es aber, folgern zu wollen, er habe mittels dieser Methodik ein spezifisches Serum gegen Morphium gewonnen.

#### Schlusssätze.

1) Tritt Eiweiß, vor allem Protoplasmaeiweiß, sei es im Tierkörper, sei es *in vitro*, mit Chemikalien in Wechselwirkung, so spaltet sich bei Temperaturen von nicht über 40° Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter ab.

2) Dieses Abspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter schädigt in größeren Mengen die Zellen. Jedoch ist eine aktive Immunisierung dagegen möglich, und mit einem spezifischen Antikörper auch eine passive.

3) Gegen gut definierte chemische Substanzen bilden sich jedoch Antitoxine nicht.

4) Dieser von Ehrlich aufgestellte Satz besteht zu Recht.

#### Literatur.

- 1) v. Marikovszky, G., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 5. p. 494.*
- 2) Morgenroth, J., *Berl. klin. Wochenschr. 1903. p. 471.*
- 3) Hirschlauff, L., *Berl. klin. Wochenschr. 1902. p. 1149.*
- 4) Weichardt, W., *Serologische Studien aus dem Gebiete der experimentellen Therapie. Stuttgart (Ferd. Enke) 1906.*
- 5) —, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 4. p. 312.*
- 6) —, *Medizin. Klinik. 1906. No. 44.*
- 7) Paal und Amberger, *Berichte der deutschen chem. Ges. Jg. XXXVIII. Heft 6.*
- 8) Wolff-Eisner, A., *Ueber Ermüdungs- und Reduktionstoxine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 378.*

*Nachdruck verboten.*

## Lokale Erscheinungen bei passiver Immunität gegen Schweinerotlauf und Infektion.

Von Prof. Dr. Alexander Jarotzky,  
Direktor der medizinischen Hospitalklinik zu Dorpat.

Mit 7 Figuren.

Indem ich im Jahre 1902 auf Vorschlag von Herrn Prof. E. Metschnikoff die schädliche Wirkung von stärkeren Dosen des Antischweinerotlaufserums auf Tiere untersuchte, stieß ich auf die Frage über die lokalen, bei der Infektion mit Schweinerotlaufbacillen zum Vorschein kommenden Erscheinungen bei Tieren, welche mit diesem Antischweinerotlaufserum behandelt wurden. Dabei interessierte es mich, unter anderem aufzuklären, ob sich nicht irgend ein Unterschied in dem morphologischen Bilde der lokalen Erscheinungen bei Tieren, welche verschiedene Dosen des Serums bekommen haben, beobachten läßt. Die Resultate dieser Untersuchung wurden in russischer Sprache 1902<sup>1)</sup> veröffentlicht. Ueber die allgemeinen Ergebnisse dieser Arbeit (außer dem Abschnitte über das morphologische Bild) wurde auch im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. 1905. No. 14/17 referiert. Da ich in den letzten 4 Jahren immer wieder auf diese Frage zurückkam, so will ich in diesem Aufsätze einen Ueberblick über die von mir bis jetzt gewonnenen Resultate geben.

Die lokalen Erscheinungen bei dem Schweinerotlauf sind höchst interessant, zumal die sich auf diese Frage beziehenden Arbeiten eine sehr wichtige Rolle in der Entwicklung der Lehre über die Phagocytose spielten. Emmerich und di Mattei<sup>2)</sup>, Emmerich und Mastbaum<sup>3)</sup> behaupteten, die in einen immunisierten Organismus eingeführten Schweinerotlaufbakterien gingen schnell an der Stelle, wo sie eingeführt wurden, ebenso wie etwa durch die Wirkung einer antiseptischen Lösung zu Grunde. Aus diesem Grunde verneinten sie im vorliegenden Falle jede Rolle der Phagocytose.

Auf demselben Standpunkte stehen eigentlich auch Voges und Schütz, deren Arbeit 1898 erschien. Nur mußten sie zugeben, daß das Antischweinerotlaufserum außerhalb des Organismus wenig bakterizid ist. Dagegen soll es, in den Organismus eingeführt, unter dem Einflusse der Zellen des Organismus stark bakterizid werden<sup>4)</sup>.

Ein besonderes Interesse bieten uns die Versuche von Emmerich und Mastbaum, denn sie wurden an demselben Tiere (nämlich der Maus) und in derselben Form wie die Mehrzahl meiner oben erwähnten Versuche angestellt. So beschreiben Emmerich und Mastbaum<sup>5)</sup> folgenden Versuch: Eine Maus, welcher in das subkutane Bindegewebe des Rückens 0,5 ccm einer Bouillonkultur und gleichzeitig 2 ccm der immunisierenden Flüssigkeit injiziert wurden, wurde nach 8 Stunden getötet. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Injektionsstelle wurden keine Bacillen gefunden. Auch wurde keine Leukocytenanhäufung

- 1) Archives russes de Pathologie etc. von Prof. Podwyssotzky. 1902.
- 2) Fortschr. d. Med. Bd. V. 1887.
- 3) Arch. f. Hyg. Bd. XII. 1891.
- 4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVIII.
- 5) Arch. f. Hyg. Bd. XII. p. 314.

konstatiert. An allen Präparaten sind zahlreiche Fetttröpfchen sichtbar. Bei einem zweiten, von denselben Verfassern beschriebenen Versuche wurde die Maus nach 6 Stunden getötet. Auf mikroskopischen Präparaten aus der Injektionsstelle kommen wenig zahlreiche, einzeln liegende Schweinerotlaufbacillen vor. Leukocyten sind nur vereinzelt vorhanden, wir haben also auch hier keine Phagocytose. Daraus schließen Emmerich und Mastbaum, daß die Phagocytose keine Rolle beim Verschwinden der Bakterien spielt.

Andererseits schreiben Metschnikoff und sein Schüler Mesnil der Phagocytose bei dem Genesungsprozesse immunisierter Tiere von der Infektion mit diesen Mikroben eine ausschlaggebende Bedeutung zu.

Metschnikoff injizierte nämlich in die vordere Augenkammer eines immunisierten Kaninchens eine abgeschwächte Kultur des Schweinerotlaufbacillus und konnte auf Präparaten in der dem Auge 24 Stunden nachher entnommenen Flüssigkeit eine lebhaft Phagocytose konstatieren, wobei ein Teil der von den Leukocyten gefressenen Mikroben schon Degenerationsmerkmale aufwies. Was nun die unter die Haut eines immunisierten Tieres injizierten Bacillen anbetrifft, so konnte man auf Präparaten in dem durch einen Stich und Aussaugen mit einer Glaspipette bekommenen Flüssigkeitstropfen fast keine, weder freie noch in Leukocyten eingeschlossene Mikroben finden. Deswegen hat in diesem Falle Metschnikoff die Methode der Einführung von Zieglerschen, aus zusammengekitteten Deckgläsern bestehenden Kammern angewandt. Und tatsächlich konnte man schon 1 Stunde nach der Einführung dieser, eine Kultur der Bacillen enthaltenden Kammer unter die Haut das Eindringen von Leukocyten zwischen die Deckgläser und nach 2 $\frac{1}{2}$  Stunden eine scharf ausgedrückte Phagocytose beobachten<sup>1)</sup>.

Endlich führte Mesnil Bacillenkulturen in die Bauchhöhle ein und konstatierte sowohl eine Anhäufung von Phagocyten als auch die Verdauung der Bacillen innerhalb derselben<sup>2)</sup>. Was nun die bei der Einführung von Bacillen unter die Haut hervortretenden Erscheinungen anbelangt, so gelang es ihm ebensowenig wie seinen Vorgängern, beim Injizieren der Bacillenkultur in der Hüftenregion unter die Haut ein Oedem oder ein Exsudat zu beobachten. Dann versuchte er mit Schweinerotlaufbacillenkultur imbibierte Watte unter die Haut der Hüfte einzuführen und wies eine sehr scharf, dabei viel schärfer bei immunisierten als bei Kontrolltieren, ausgesprochene Phagocytose nach. Da man jedoch die Einführung der Watte nicht als indifferent betrachten durfte, so hat er folgende Methode angewandt, um lokale Erscheinungen zu erhalten. Es genügt dazu, sagt er, die Kultur vorsichtig unter die Bauchhaut einzuspritzen. An der Injektionsstelle, wo sich eine Hervorwölbung, die sogenannte „boule d'injection“, bildet, kann man ein kleines, gallertiges Exsudat nachweisen, welches aus von Fibrin umgebenen Leukocyten besteht. Um sich ein Bild des Vorganges an der Injektionsstelle zu schaffen, schnitt Mesnil die ganze Stelle aus, fixierte das Stück und fertigte Schnitte an. An solchen Präparaten sieht man, daß schon nach 15 Stunden bei einer immunisierten Maus fast alle Bacillen von Leukocyten gefressen sind; im weiteren kann man auch Erscheinungen der Verdauung der Mikroben in den Leukocyten nachweisen.

1) Metschnikoff, Étude sur l'immunité. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. III. p. 295—298.)

2) Mesnil, Sur le mode d'action du sérum préventif contre le rouget du porc. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XII. p. 488.)

Darf man nun annehmen, daß die Untersuchungen Mesnils die Frage darüber, was mit den Mikroben an der Injektionsstelle wird, endgültig gelöst haben? Meiner Ansicht nach — nein!

Gleich seinen Vorgängern wies er keine Phagocytose beim Einführen der Bacillenkultur in das lockere subkutane Bindegewebe des Rückens nach. Dagegen gelang es ihm, beim Injizieren der Kultur unter die Bauchhaut, wo diese im festeren Zusammenhange mit den unterliegenden Geweben ist, Phagocytose zu konstatieren. Wenn sich jedoch die Bedingungen des Versuches nicht scharf unterscheiden, ob wir die Kultur unter die Bauch- oder unter die Rückenhaut einführen, so ist es unverständlich, warum wir an einer Stelle ein gewisses Bild erhalten, das an der anderen Stelle sich nicht beobachten läßt? Wenn sie sich aber tatsächlich scharf voneinander unterscheiden, so verlieren dann die an und für sich sehr interessanten Beobachtungen Mesnils ihr allgemeines Interesse. Ein unter Ausnahmebedingungen angestellter Versuch kann sehr interessante Tatsachen ergeben, man darf jedoch in diesem Falle keine allgemeinen Schlußfolgerungen ziehen. Wenn wir sogar annehmen wollten, daß unter die Rückenhaut eingeführte Bacillen schnell von der Injektionsstelle entfernt werden, so müssen wir auch bei dieser Annahme die Bacillen irgendwo in Lymphgefäßen oder in einer Lymphdrüse nachweisen, und wenn eine Phagocytose vorhanden, dieselbe konstatieren.

Deswegen beschloß ich, beim Beginn meiner Untersuchungen die von Mesnil in dem subkutanen Bindegewebe des Bauches konstatierten Erscheinungen beiseite zu lassen und als Ausgangspunkt die negativen Resultate der früheren Forscher zu nehmen, welche keine Phagocytose und keine, wenigstens in irgend einer bedeutenden Quantität vorhandenen Bacillen nach der Injektion der letzteren in das subkutane Bindegewebe der Außenseite der Hüfte und des Rückens fanden.

Im weiteren will ich das mikroskopische Bild bei weißen Mäusen beschreiben, welchen 1 ccm folgender Mischung injiziert wurde:

0,3 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur von Schweinerotlaufbacillen,

0,3 ccm des im Institut Pasteur angefertigten Schweinerotlaufserums,

0,4 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Das Serum wurde ohne vorhergehende Erwärmung benutzt. Die Mischung wurde jedesmal vor dem Injizieren frisch bereitet. Die Virulenz der Kultur war eine derartige, daß eine Dose von 0,005 ccm eine Maus in 3 Tagen tötete. Mäuse, die 0,3 ccm Serum und 0,3 ccm Kultur erhielten, blieben leben. Die Injektion wurde in das subkutane Bindegewebe der Außenseite der Hüfte gemacht, und da dasselbe ohne scharfe Grenze in das subkutane Bindegewebe des Rückens übergeht, so wurde dadurch die in bedeutender Quantität injizierte Flüssigkeit indirekt auch in das subkutane Bindegewebe des Rückens injiziert.

Ebensowenig wie meinen Vorgängern gelang es mir, befriedigende Präparate aus einem durch einen Stich mit einer Glaspipette erhaltenen Flüssigkeitstropfen zu bekommen. Hätte ich aber doch gute Präparate erhalten, so dürfte man doch nicht hoffen, auf Grund dieser Untersuchungsmethode allein das vollständige Bild des Vorganges zu erhalten. Nehmen wir tatsächlich an, daß die injizierte Flüssigkeit sich auf einen gewissen Raum verteilte, so müssen dann offenbar ganz verschiedene Bilder zum Vorschein kommen je nachdem, ob wir die Flüssigkeit zur mikroskopischen Untersuchung aus der Mitte oder aus der Peripherie

entnehmen. Wir wissen aber nicht einmal genau, aus welcher Stelle der erhaltene Flüssigkeitstropfen stammt.

Als Fixierungsmittel benutzte ich zuerst Sublimat (5,0 g Sublimat und 0,5 g Kochsalz in 100 ccm destilliertem Wasser gelöst). Das Sublimat wird häufig zum Fixieren der Gewebe von mit Schweinerotlaufbacillen infizierten Tieren benutzt. Und tatsächlich kann man leicht und ohne besondere Vorsichtsmaßnahmen aus mit Sublimat fixierten Gewebestückchen von solchen Tieren Präparate nach der üblichen G ün t h e r s c h e n Methode erhalten mit schön nach Gram gefärbten Bacillen. Wie schon oben erwähnt, wurden die Injektionen an der Außenseite der Hüfte gemacht. Nach einem bestimmten Zeitraum wurden die Tiere mit Aether getötet. Die Haut wurde längs der ventralen Mittellinie bis zum Niveau der Milz zerschnitten und bis zur Wirbelsäule samt dem subkutanen Bindegewebe nach außen abpräpariert; zugleich wurde auch die Haut von der ganzen Hüfte abpräpariert sowie die lymphatische Inguinaldrüse und das die Inguinalfalte ausfüllende lockere Bindegewebe. Sogar kurz nach der Injektion kann man bei vorsichtigem Abpräparieren der Haut einen großen Teil der injizierten Flüssigkeit zwischen den Bindegewebslamellen zurückhalten. Das auf solche Weise erhaltene Hautstück wurde auf einen Kork mit Holznägeln befestigt und mit Sublimat 2 Stunden lang im Wärmeschrank bei 37° C behandelt. Darauf folgte ein 2-stündiges Auswaschen im Wasser, auch bei 37° C; sodann wurde das Objekt auf 12 Stunden bei Zimmertemperatur in 70-proz. Alkohol, mit Zusatz einiger Tropfen Jodtinktur, gelegt, um endlich in üblicher Weise durch Xylol in Paraffin eingebettet zu werden.

Um verschiedene Präparate vergleichen zu können, wurden die Schnitte immer an derselben Stelle und zwar quer durch das ganze Stück und in der Weise, daß die Lymphdrüse getroffen wurde, geführt.

Bei Mäusen, welche 1 Stunde nach der Injektion getötet wurden, stellte an den Schnitten die injizierte Flüssigkeit eine körnige, geschichtete, einige Millimeter dicke Masse dar, in welcher in geringer Anzahl einkernige Leukocyten zerstreut waren und wo man mit der Gram-Färbung keine Bacillen nachweisen konnte. Auch in Präparaten, die ich in dieser Weise nach verschiedenen Zeitintervallen machte, wurden keine Bacillen konstatiert.

Auf den ersten Blick scheint es, als ob die Ansicht früherer Forscher, nach welcher die Bacillen in sehr kurzer Zeit im Organismus immunisierter Tiere zerstört werden sollten, eine völlige Bestätigung erhalten hätte. Denn es ist schwer, sich vorzustellen, wie die Bacillen so schnell aus der Injektionsstelle weggebracht werden können, während die injizierte Flüssigkeit noch dageblieben ist.

In Wirklichkeit sind die Bacillen weder weggebracht noch vernichtet; sie haben nur ihre Fähigkeit, sich mit der Gramschen Methode nach dieser Fixierungsart zu färben, verloren. Um sich davon zu überzeugen, genügt es, nach kurzen Zeiträumen mittels einer Glaspipette unter der Haut kleinere Tröpfchen der Flüssigkeit zu nehmen und dieselben, anstatt auf dem Objektträger zu zerschmieren, in der Gestalt eines kleinen Tröpfchens vertrocknen zu lassen. Wenn man nun ein solches Präparat auf der Flamme fixiert und nach Gram mit der G ün t h e r s c h e n Methode (mit Entfärbung mit angesäuertem Alkohol) färbt, so kann man zahlreiche, schön gefärbte Bacillen sehen. In Gegenwart des Serums haben die Schweinerotlaufbacillen in dem Tierkörper nach Sublimatfixierung die Fähigkeit, sich nach Gram zu färben, verloren.

Der beschriebene Versuch ergab, daß die Bacillen weder weggebracht noch zerstört sind, sondern daß sie sich nur nicht mit der gewöhnlichen Methode färben lassen. Ich wandte deshalb verschiedene Färbungsmethoden nach Gram an, um dieselben nachzuweisen. Endlich gelang es mir, mit dem Grüblerschen Gentianaviolett und bei Anwendung für die Ehrlichsche Lösung der in absolutem Alkohol gelösten und auf 37° C erwärmten Farbe an einigen Präparaten an einzelnen Stellen isolierte Bacillen zu färben, die gewöhnlich von Makrophagen gefressen waren. Dies kam jedoch als Ausnahmeerscheinung in einem von mehreren 10 Präparaten vor.

Das Bild ändert sich aber vollständig, wenn wir statt Sublimat absoluten Alkohol zum Fixieren benutzen. In diesem Falle kann man leicht in den Geweben auf die übliche Weise (nach Güntherscher Methode) eine Menge schön gefärbter Bacillen nachweisen.

Die Schweinerotlaufbacillen erleiden im Tierkörper bei Anwesenheit des Serums irgend eine feine chemische Veränderung, wodurch sie die Fähigkeit, sich nach Gram zu färben, verlieren, wenn sie mit Sublimat fixiert sind; dagegen bleibt nach anderen Fixierungsmethoden diese Fähigkeit erhalten.

Erfreulicherweise darf ich auf eine analoge, von Deutsch (Budapest) beobachtete Erscheinung hinweisen. Er fand<sup>1)</sup>, daß die Schweinerotlaufbacillen nach 12-stündigem Verweilen im frischen alexinhaltigen Immuns serum ihre Fähigkeit der Gram-Färbung eingebüßt haben. In den betreffenden Präparaten befanden sich riesige Bacillushaufen, in denen Tausende von Keimen im entfärbten Zustande und nur 1—2 tiefblau gefärbte Keime im Zentrum der Häufchen, an einer alexingeschützten Stelle, zu sehen waren.

Wie ich schon früher<sup>2)</sup> betonte, tritt diese Fähigkeit der mit Serum injizierten Schweinerotlaufbacillen, sich nach Gram in mit Sublimat fixierten Geweben nicht zu färben, nur innerhalb der ersten Stunden nach der Injektion zum Vorschein. Später, ungefähr 10—20 Stunden nach der Injektion, wenn sich auf der Injektionsstelle absceßähnliche Anhäufungen von Leukocyten bilden, erhalten die in diesen Anhäufungen enthaltenen Bacillen von neuem die Fähigkeit, sich nach Gram zu färben, selbst in Präparaten, die in Sublimat fixiert sind.

Wir gehen jetzt zur Beschreibung des mikroskopischen Bildes über, das man an der Stelle beobachten kann, wo die Injektion einer Mischung von Serum und von Bacillenkultur unter die Haut gemacht wurde. Um Zellen und Kerne an Präparaten sichtbar zu machen, wurden letztere vor der Gram-Färbung mit Pikrokarmin vorgefärbt. Zum Ankleben der Paraffinschnitte benutzte ich schwachen Alkohol.

Wenn wir die Maus 1 Stunde nach der Injektion töten und Schnitte durch die Injektionsstelle anfertigen, so erhalten wir das Bild, welches auf Fig. 1 dargestellt ist. Bei schwacher Vergrößerung sehen wir hier einen Querschnitt durch die Haut und durch das subkutane Bindegewebe; die in das letztere injizierte Mischung von Serum und von Bacillenkultur bildet eine Hautwölbung, die auch an unserem Querschnitte getroffen ist. In dieser Hautwölbung sieht man mit bloßem Auge an

1) Deutsch, L., Beiträge zur Kenntnis des Schweinerotlaufserum. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 221.)

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. p. 475.





Fig. 1. Querschnitt durch die Haut und das subkutane Bindegewebe; fixiert 1 Stunde nach der Injektion. Sehr schwache Vergrößerung. Im Zentrum des Präparates sieht man eine bauchförmige Hervorwölbung — die durch die Wirkung des Alkohols geronnene Flüssigkeit. In dem linken Teil der Hervorwölbung bemerkt man einen dunkleren, rundlichen Fleck — die Bacillenanhäufung.

einem der Ränder einen bläulichen Fleck von ca. 2 mm Durchmesser. Bei stärkerer Vergrößerung (Öelimmersion  $\frac{1}{12}$ ) stellt sich dieser Fleck (Fig. 2) in Gestalt einer sehr dichten Bacillenanhäufung dar. Ein Deckglaspräparat aus einer Bouillonkultur von Schweinerotlaufbacillen zeigt nie eine so große Anzahl von Bacillen an einer Stelle. Die Bacillen liegen entweder einzeln und unregelmäßig zerstreut oder in größeren Häufchen. Die Mehrzahl der Bacillen stellt sich in Gestalt ziemlich langer Stäbchen dar. Der übrige Teil der Stelle, welcher auf dem Schnitte die injizierte, durch die Wirkung des Fixierungsmittels (Alkohol) geronnene Flüssigkeit enthält, stellt eine mit Karmin schwach rosa gefärbte, amorphe, körnige Masse dar. An ihren Rändern nimmt die Masse einen etwas geschichteten Charakter an. Sie enthält einzelne zerstreute Zellen mit einem ziemlich großen, rundlichen, mit Karmin gefärbten Kern. Das den Kern umgebende Protoplasma zeigt häufig einen leicht bläulichen Ton. Diese Zellen lassen keine Fortsätze beobachten.

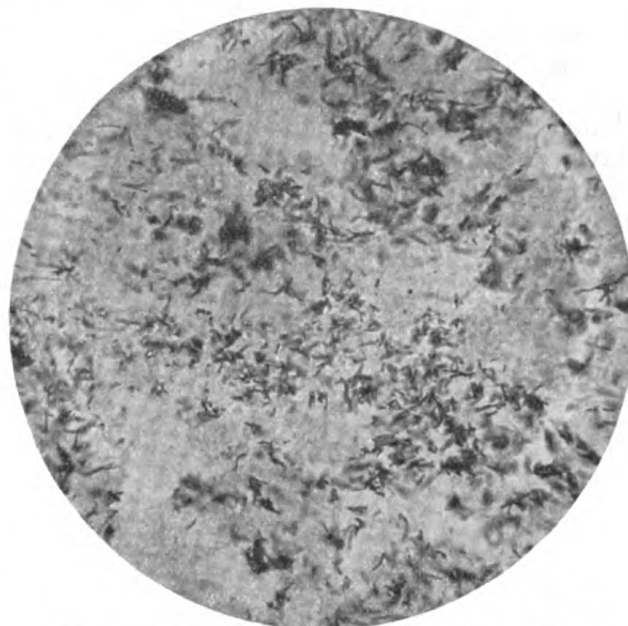


Fig. 2. Dasselbe Präparat bei stärkerer Vergrößerung (Öel-Immersion). Die Bacillenanhäufung. Ein ebensolches Bild beobachtet man auch 4 Stunden nach der Injektion.

Die Mehrzahl der Schweinerotlaufbacillen ist auf eine kleine Stelle konzentriert, die sich schon mit bloßem Auge durch ihren bläulichen Ton auszeichnet. Diese Stelle ist ziemlich scharf von dem übrigen Teil des Präparates abgegrenzt, wo die Bacillen wenig zahlreich und schwer zu finden sind. Hauptsächlich findet man sie in den peripheren Schichten der injizierten Masse.

Es stellt sich also heraus, daß bei dem Injizieren der Mischung von Bacillen und von Antischweinerotlaufserum unter die Haut der größte Teil der Bacillen sich auf eine kleine Stelle konzentriert, was

anscheinend dadurch bedingt ist, daß die flüssigen Teile der Mischung frei zwischen den Fasern des lockeren subkutanen Bindegewebes durchgehen, während die Bacillen von diesen zurückgehalten werden. Es werden dabei die Formelemente der Mischung von der Flüssigkeit sozusagen abfiltriert, wobei nur ein geringer Teil der Bacillen durch den Strom der Flüssigkeit weiter befördert wird. Als zweiter eine Bacillenanhäufung in kleinerem Raume hervorrufender Faktor erscheint die Agglutination (Häufchen von Bacillen).

Die Bacillen sind schön gefärbt und zeigen keine Veränderungen, die auf eine Zerstörung hinweisen könnten.

Auf den Präparaten, die von Mäusen stammen, welche 4 und 6 Stunden nach der Injektion getötet waren, bleibt das mikroskopische Bild im allgemeinen dasselbe. Man kann an den Bacillen keine Veränderungen nachweisen, welche auf ihre Zerstörung hinweisen würden. Es wäre nur hinzuweisen erstens auf das Auftreten kleinerer Zellen mit gelapptem Kern (Polynukleären), deren Zahl allmählich wächst, jedoch immer gering bleibt; zweitens scheinen die eingeführten Bacillen sich zu vermehren. Davon kann man sich dadurch überzeugen, daß einzelne in den peripheren Schichten der injizierten Flüssigkeit auftretende Bacillen jetzt in größerer Zahl zum Vorschein kommen und teilweise sich zu Gruppen anordnen. 6 Stunden nach der Injektion kann man den Beginn der Phagozytose konstatieren, indem ein Teil von Bacillen von zuerst sehr wenig zahlreichen Polynukleären aufgenommen erscheint.

Nach 10 Stunden können wir endlich eine neue Phase des Vorganges konstatieren, welche sich durch das Auftreten einer ungeheuren

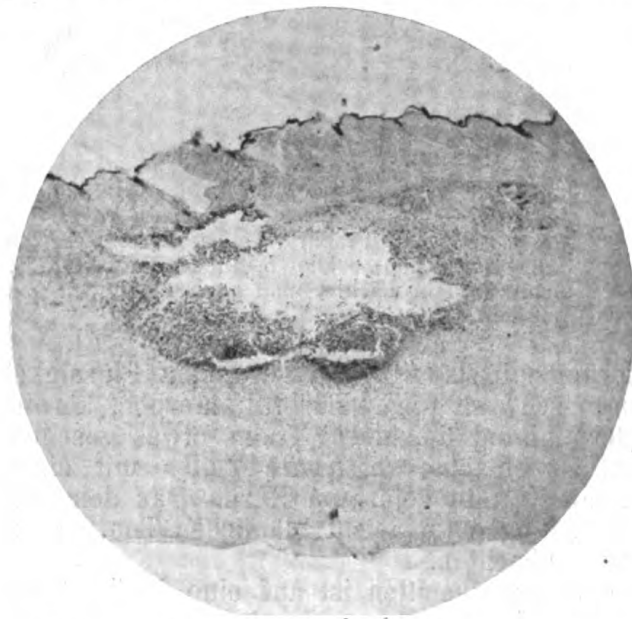


Fig. 3. 10 Stunden nach der Injektion. Schwache Vergrößerung (etwa Objekt. 3 von Leitz). Man sieht die Leukocytenanhäufung um ein zentrales, helleres Feld herum. Die dunklen Punkte sind prall mit Bacillen gefüllte Leukocyten. An dem oberen Rand des Präparates ist die Haut mit Epidermis und Haaren bedeckt, der übrige Teil des Präparates stellt die injizierte Flüssigkeit (in geronnenem Zustande) dar, in welcher mehr oder weniger gleichmäßig Leukocyten zerstreut sind.

Menge polynukleärer Leukocyten charakterisiert. Auf der Mikrophotographie Fig. 3 sieht man nämlich die Haut im Querschnitt mit Epidermis und Haaren und unter ihr in der Gestalt eines breiten Bandes die injizierte und zu einer körnig geschichteten Masse geronnene Flüssigkeit; in dieser kann man die gleichmäßig zerstreuten Leukocyten erkennen, welche bei der Vergrößerung der Fig. 3 als Punkte erscheinen. Im Mittelpunkte des Präparates bemerkt man um ein helles Feld herum eine ungeheure Anhäufung dicht einander anliegender Leukocyten. In jenes zentrale Feld ragen einzelne aus Leukocyten bestehende Lappen hinein. Schon bei einer

schwachen Vergrößerung sieht man mitten in dem Haufen dieser Zellen einzelne violette Punkte; letztere stellen Leukocyten mit gefressenen Bacillen dar.

Wenn wir nun diese Leukocytenanhäufung bei stärkerer Vergrößerung betrachten (s. Mikrophotographie Fig. 4), so sehen wir, daß ein bedeutender Teil von Leukocyten keine Bacillen enthält, während die anderen von diesen vollgepfropft sind. Durch Wechsel der Mikroskop-einstellung (d. h. tiefer und höher) kann man sich überzeugen, daß die Bacillen in den Zellen um den Kern angeordnet und an kleinere Häufchen erinnern, die von dicht einander anliegenden und nach allen Richtungen hervorragenden Stäbchen gebildet sind.

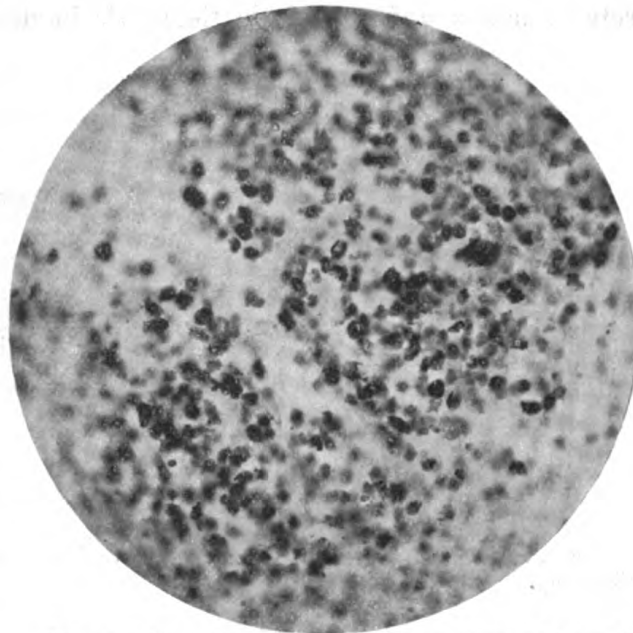


Fig. 4. Dasselbe Präparat bei stärkerer Vergrößerung (Öelimmersion). Die Phagocytose.

Als Beweis dafür, daß die Bacillen innerhalb der Zellen Veränderungen erleiden, kann die Tatsache dienen, daß, während sich die einen intensiv dunkelblau färben, die anderen Bacillen einen mehr violetten Ton annehmen. Man muß annehmen, daß diese Anhäufung von Leukocyten mit gefressenen Bacillen derjenigen Anhäufung der Bacillen an der umgrenzten Stelle entspricht, die wir an Präparaten konstatiert haben, welche von früher nach der Injektion getöteten Mäusen stammten.

Interessant und charakteristisch erscheint die Tatsache, daß bei weitem nicht alle Leukocyten gleichmäßig an der Phagocytose teilnehmen. Die in der injizierten Flüssigkeit gleichmäßig zerstreuten Leukocyten enthalten keine Bacillen und die Phagocytose ist in denjenigen Leukocytenanhäufungen konzentriert, die wir im Zentrum des Präparates wahrnehmen. Und auch hier nehmen, wie wir es oben betonten, nicht alle Leukocyten an der Phagocytose teil, indem die einen von Bacillen vollgepfropft sind, während sich neben ihnen solche finden, die vollständig von Bacillen frei sind.

20 Stunden nach der Injektion gelang es, keine Reste der injizierten Flüssigkeit (d. h. der körnig-amorphen Masse auf den Präparaten) nachzuweisen; nur beobachtet man Anhäufungen von Phagocyten, die von kleinen kurzen Stäbchen gefüllt sind.

Nach 44 Stunden kann man endlich an der bekannten Stelle des Präparates sogar keine Phagocytose konstatieren. Man sieht unter der Haut vom Schnitt getroffene Lymphdrüsen und das lockere Bindegewebe; das Infiltrat ist schon aufgesogen; wenn man jedoch die peripheren Teile des Hautstückes untersucht, so kann man echte kleine Abscesse nachweisen. Ein solcher Absceß hat auf dem Querschnitte einen Durchmesser von 1,5—2 mm (s. Mikrophotographie Fig. 5), so daß man ihn

6\*

deutlich mit bloßem Auge bemerkt, und liefert im Querschnitte ein sehr lehrreiches Bild. Er besteht einzig aus Leukocyten mit gelapptem Kern; die peripheren Schichten enthalten jedoch keine Bacillen. Mehr nach innen treten Bacillen auf, so daß, je tiefer wir in das Innere dieser Leukocyten-

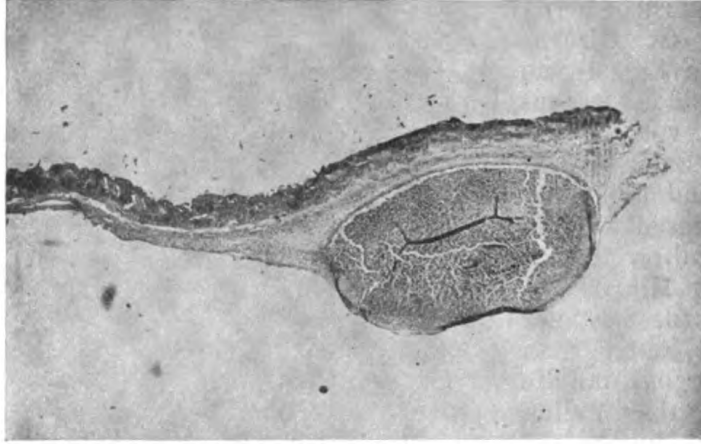


Fig. 5. Absceß unter der Haut. 44 Stunden nach der Injektion. Schwache Vergrößerung.

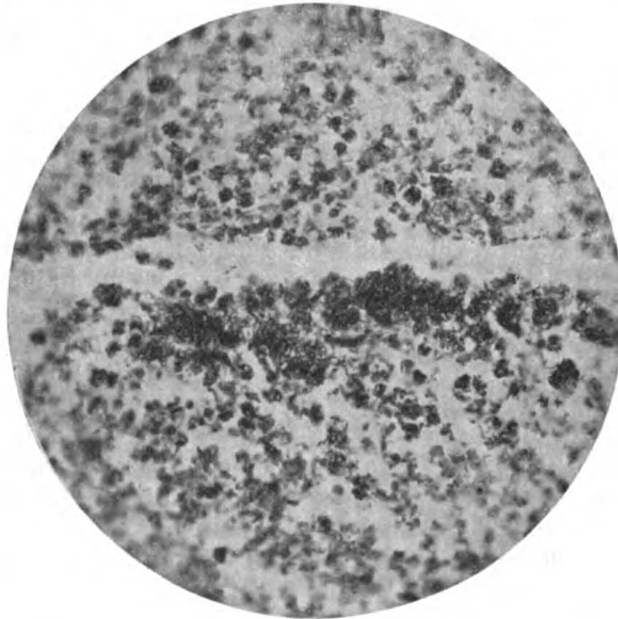


Fig. 6. Zentrum des Präparates bei noch stärkerer Vergrößerung (Oelimmersion). Eine in Form eines Filzes angewachsene Bacillenanhäufung. Phagocytose.

Bacillen und den Leukocyten sich abspielenden Kampfes haben. In den peripheren Schichten des beschriebenen Gebildes befinden sich die Leukocyten in den besten Bedingungen und gewinnen ohne Zweifel die Oberhand über die Mikroben. Je weiter nach innen, desto ungünstiger werden für die Leukocyten die Kampfbedingungen und desto schwerer überwäligen sie die Bacillen, so daß im Zentrum die Bacillen über dieselben gänzlich die Oberhand gewonnen haben und sich frei vermehren.

anhäufung eindringen, die Bacillen desto zahlreicher und länger erscheinen. Im Innern der Zellen begegnen wir Bacillen, die bogenförmig gekrümmt sind, ferner solchen, die mit einem Ende aus der Zelle hervorragen; es kommen weiter frei zwischen den Leukocyten liegende vor und endlich enthält der zentrale Teil dieser Anhäufung frei in der Gestalt von Stäbchen liegende und sich untereinander in allen Richtungen verflechtende Bacillen (Fig. 6). Dieses Bild ist zweifelsohne so aufzufassen, daß wir hier vor uns verschiedene Stadien des zwischen den

Ich erklärte mir zuerst die ungünstigen Bedingungen für die Leukocyten im Innern des Abscesses durch die starke Anhäufung derselben und durch ihre Entfernung von Blutgefäßen, welche ungünstig auf die Ernährungsbedingungen wirkt. Außerdem kann jedoch hier vielleicht noch ein anderer Faktor von Bedeutung sein. Wir haben es in diesem Falle mit einem passiv immunisierten Tiere zu tun und die günstigen Bedingungen für die Leukocyten in ihrem Kampfe gegen die Bacillen bestehen folglich darin, daß die einen wie die anderen von allen Seiten von einer bakterienfeindliche Körper (Immunkörper, Opsonine u. s. w.) enthaltenden Flüssigkeit gespült werden. Begreiflicherweise werden die Flüssigkeiten in der Nähe einer solchen Bacillenanhäufung, welche jene Körper auf sich fixiert, an diesen Körpern arm. Andererseits können auch die in solcher Menge angehäuft und sich hier vermehrenden Bacillen nicht genügend von diesen Körpern gesättigt sein.

Gewöhnlich ist es ziemlich schwer, an Präparaten die Verdauung der Bacillen innerhalb der Leukocyten sicher zu beweisen, denn Bacillen mit veränderter Färbung kommen selten vor, ihrer Form nach können aber die Bacillen von verschiedener Länge sein und im optischen Durchschnitt sogar als Punkt erscheinen. In einer solchen Leukocytenanhäufung, wie die oben beschriebene, treten besonders anschaulich verschiedene Stadien der intracellulären Verdauung hervor; man sieht, wie die Bacillen in einzelne, kurze, kleine Glieder und Punkte zerfallen, die schließlich im Innern der Leukocyten verschwinden.

Da alle Mäuse, denen die Mischung von Kultur und Serum injiziert wurde, leben blieben, so muß man, was das Schicksal eines solchen Abscesses anbelangt, denken, daß letzterer resorbiert wird und alle in seinem Innern befindlichen Bacillen von Leukocyten verdaut werden. Und tatsächlich gelang es mir an späteren Stadien auf den Präparaten an der Injektionsstelle weder Bacillen, noch Leukocyten nachzuweisen. Natürlich vermehren sich die Bacillen innerhalb eines solchen Abscesses, sie sind aber dabei von allen Seiten mit einem Gürtel von gesundem, keine Bakterien enthaltenden Granulationsgewebe umgeben, welches, von der Peripherie resorbiert, sich immer mehr dem Mittelpunkte des Abscesses nähert und den von freien Bakterien besetzten Raum allmählich verengt.

Bis jetzt haben wir den Prozeß der Vernichtung der Bakterien durch Leukocyten an der Injektionsstelle beschrieben. Man kann jedoch konstatieren, daß die Bakterien ziemlich früh von der Injektionsstelle weiter gebracht werden. An Präparaten von einer 6 Stunden nach der Injektion der Mischung getöteten Maus (s. die bei schwacher Vergrößerung gemachte Mikrophotographie, Fig. 7) nimmt man die vom Schnitt getroffene Lymphdrüse wahr und unter dieser lymphatische Bahnen. Letztere sind, wie man dies bei stärkerer Vergrößerung sehen kann, von den Leukocyten erweitert, welche Bakterien aufgeessen haben. Wir stellen uns den Vorgang so vor, daß die Mikroben in diesem Falle vom Flüssigkeitsstrom in die lymphatischen Bahnen gebracht und schon hier von Leukocyten überfallen wurden.

Emmerich und Mastbaum<sup>1)</sup> schreiben in ihrer oben zitierten Arbeit: „Zur Bewältigung der kolossalen Menge von Bacillen, welche sich nach Injektion von 15–20 ccm Bouillonkultur im Körper befinden (es handelt sich um Versuche mit Kaninchen) wäre eine enorme Zahl

1) op. cit. p. 287.

von Phagocyten nötig und es müßte dabei immer eine Massenemigration weißer Blutzellen aus den Gefäßen stattfinden. Daß zu diesem Prozeß längere Zeit nötig ist, geht aus den Untersuchungen Cohnheims hervor. Diese Phagocytenscharen müßten sich zudem größtenteils wenigstens an der Injektionsstelle ansammeln, da die Hauptmasse der Bacillen im subkutanen Gewebe zu Grunde geht, ehe dieselben ins Blut eindringen. Die Unwahrscheinlichkeit einer derartigen Konjunktur liegt auf der Hand

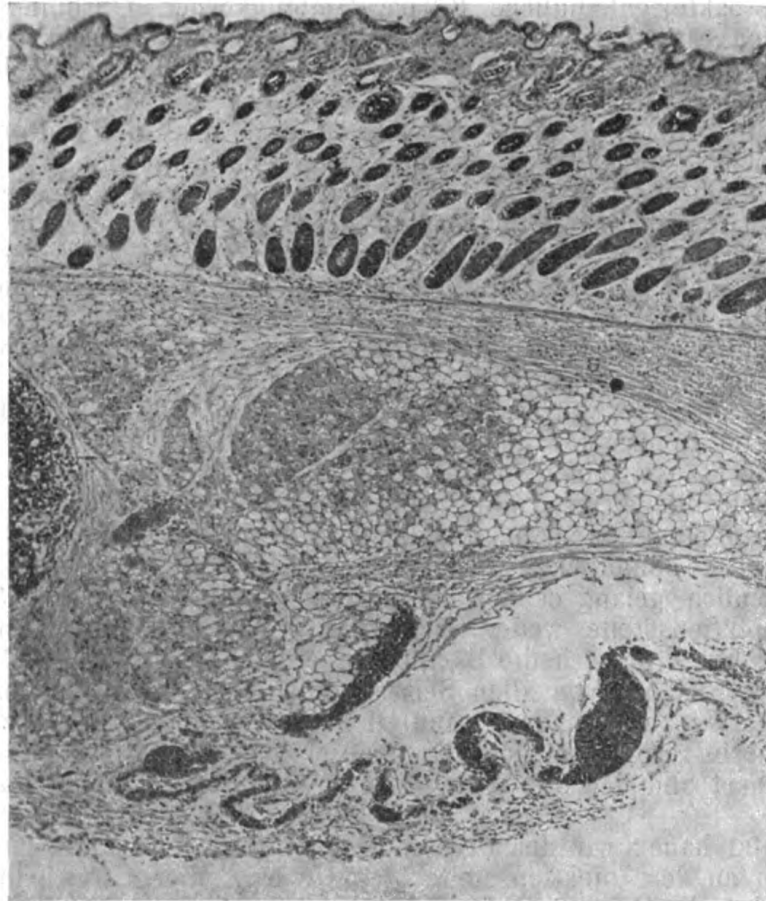


Fig. 7. Im oberen Teile des Präparates ist die Haut und die Haarbälge schief getroffen; unter der Haut die injizierte Flüssigkeit in der Gestalt eines sich nach links auskeilenden Dreieckes; die Lymphdrüse ist vom Schnitte getroffen. Im unteren Teile haben die lymphatischen Bahnen eine geschlängelte Form; sie sind mit Leukocyten gefüllt. Schwache Vergrößerung.

Die Mikrophographien sind vom Georg Hausmanns Institut für wissenschaftliche Photographie in Kassel (Wilhelms Allee 30 $\frac{1}{2}$ , II) aufgenommen, dem ich für die schöne Ausführung derselben auch an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank ausspreche.

und sie wird durch die von Stunde zu Stunde ausgeführte mikroskopische Untersuchung des subkutanen Gewebes der Injektionsstelle zur Tatsache. Von einer Massenansammlung von Phagocyten ist nichts zu sehen. Im Gegenteil, man findet dieselben sehr vereinzelt an der Injektionsstelle und die Bacillen liegen in großer Zahl frei im subkutanen Gewebe.“

Aus der Beschreibung der lokalen Erscheinungen, wie dieselben an meinen Präparaten zum Vorschein kommen, sieht man, daß alle von

Emmerich aufgestellten Forderungen erfüllt sind, damit der Phagocytose eine ausschlaggebende Bedeutung zuerkannt werden muß. Wir sehen an der Injektionsstelle eine Massenanhäufung der Leukocyten; nach 10 Stunden sind schon alle Bacillen von Leukocyten aufgefressen und die allmähliche Zerstörung der ersteren vollzieht sich im Innern der letzteren.

Die Quelle der negativen Angaben der früheren Forscher ist nun leicht zu begreifen. Selbstverständlich ist es, daß beim Aussaugen der Flüssigkeit mit einer Glaspipette aus der Injektionsstelle, Bacillen in dieser Flüssigkeit überhaupt schwer zu finden sein werden, wenn man das Präparat in gewöhnlicher Weise, d. h. durch Anstreichen des erhaltenen Tropfens auf dem Objektträger macht. Diese Schwierigkeit beruht darauf, daß der größte Teil der injizierten Bacillen, wie wir sahen, in einem kleinen Raume konzentriert wird, welcher sehr schwer zu treffen ist. Noch begreiflicher wird die Tatsache, daß man an solchen Präparaten keine Phagocyten findet, denn die Phagocyten schwimmen nicht frei in der Flüssigkeit, sondern sind zu einem mehr oder weniger dichten Häufchen zusammengelagert.

Emmerich hat das von uns beobachtete Bild deswegen nicht gesehen, weil, soweit es aus seiner Arbeit zu schließen möglich ist, er keine Schnitte von Geweben von der Injektionsstelle gemacht hat und sich auf Anfertigung von mikroskopischen Präparaten aus Flüssigkeitstropfen zu beschränken schien.

Wir haben bis jetzt Bilder beschrieben, die nach der Injektion unter die Haut einer Mischung von Rotlaufbacillen mit spezifischem Serum, zum Vorschein kommen. Wenn wir nun eine Mischung von virulenten Bacillen mit Serum von einem normalen Pferde injizieren, so konstatieren wir an der Injektionsstelle frei liegende Bacillen, dann die Infiltration von weißen Blutzellen mit gelapptem Kern, die Phagocytose tritt jedoch bei diesen Bedingungen als eine seltene Erscheinung hervor. Wenn wir nun mit Bakterien gefüllte Phagocyten finden, so haben wir hier scheinbar keine Phagocytose, keine Verdauung von Bacillen durch Phagocyten, sondern im Gegenteil vermehren sich die Bacillen innerhalb des Phagocyten, so daß an der Stelle des letzteren ein Häufchen von freien Bacillen zu Tage tritt.

Außer dieser Serie von Versuchen habe ich eine andere Reihe derselben an weißen Mäusen und an Tauben angestellt. In diesem Falle benutzte ich zum Injizieren verhältnismäßig schwach virulente Mikroben, wobei das Serum nicht mit den Mikroben zusammen, sondern 24 Stunden vorher injiziert wurde. Das Serum stammte aus dem „Institut Pasteur“, war jedoch ziemlich (über 1 Jahr) alt. Nach der Injektion von 0,5 ccm Bacillenkultur starben die Mäuse am 5. Tage; dagegen blieben leben solche, denen vorher 0,5 ccm Serum injiziert wurde.

Wenn man nun in dieser Versuchsserie an Mäusen das zum Vorschein tretende Bild der lokalen Erscheinungen bei denjenigen Tieren, welchen Serum injiziert, mit demselben Bilde bei solchen Tieren, welchen dasselbe nicht injiziert wurde, vergleicht, so beobachtet man keinen scharfen Unterschied zwischen beiden. In beiden Fällen beobachten wir namentlich eine bedeutende Leukocytenanhäufung und eine scharf ausgesprochene Phagocytose, wobei der Unterschied nur in den Endresultaten des Vorganges besteht. Bei immunisierten Mäusen gehen alle Bacillen zu Grunde und die Leukocytenanhäufung wird resorbiert, während bei Kontrolltieren die Leukocyten nicht im stande erscheinen, die Infektion zu lokalisieren.

Dasselbe Bild der Leukocytenanhäufung und der Phagocytose trat auch bei Tauben zum Vorschein, welchen in den Brustmuskel 1 ccm schwach virulenter Bacillenkultur injiziert wurde und von welchen einem Teil 1 ccm desselben alten Serums 24 Stunden vorher unter die Haut injiziert wurde.

Wir gehen nun zu den Schlußfolgerungen über, welche sich aus dem Beschriebenen ziehen lassen. Zuerst möchte ich auf zwei Formen von Phagocytose hinweisen, die wir bei unseren Versuchen beobachteten. Als charakteristisch für die eine Form erscheint die äußerst ungleichmäßige Beteiligung der einzelnen Leukocyten an ihr. Während nämlich die Mehrzahl der letzteren keine Mikroben enthält, finden wir, daß diejenigen Leukocyten, welche Mikroben fraßen, mit den letzteren dermaßen prall gefüllt sind, daß man diese nicht aufzählen kann. Versuchen wir nun uns dieses Bild zu erklären. Wie wir an der ersten Serie von Versuchen sahen, wächst in den ersten Stunden (1—6) nach der Injektion die Zahl der Polynuklearen (Leukocyten mit gelapptem Kern) äußerst langsam; dann sehen wir ca. 10 Stunden nach der Injektion plötzlich auf einmal ungeheuerere Leukocytenanhäufung. Es ist zu vermuten, daß die ersten Leukocyten, die an die Injektionsstelle gelangen, entweder von Toxinen getötet, welche von den Mikroben ausgeschieden, oder durch dieselben paralytisch werden. Erst später, wenn sich in der Injektionsstelle eine bedeutende Quantität Leukocyten ansammelt und die vorhandenen Toxine neutralisiert werden, beginnen die neu an tretenden Leukocyten zu phagocytieren und die unschädlich gemachten Mikroben in größerer Quantität zu fressen. Ueberhaupt bestätigt das, an der Mikrophotographie Fig. 3 dargestellte mikroskopische Bild die Thesis, daß die Rolle der Leukocyten nicht nur in der Verdauung der Mikroben besteht, sondern auch im Neutralisieren der Toxine. Die gleiche Bedeutung besitzen unserer Ansicht nach auch diejenigen Leukocyten, welche gleichmäßig in der injizierten Flüssigkeit außerhalb der zentralen Anhäufung zerstreut sind und keine Bacillen enthalten.

Ein ähnliches Bild der ungleichmäßigen Verteilung der Phagocytose sahen wir auch in der zweiten Reihe von Versuchen: es bildete sich nämlich bei einer 25 Stunden nach der Injektion einer Mischung von Serum und von Bacillenkultur getöteten Maus unter der Haut eine große Anhäufung von Leukocyten, von denen nur wenige Bacillen enthielten, dabei aber von diesen prall gefüllt waren.

Bei der zweiten Form der Phagocytose sehen wir alle Leukocyten sich gleichmäßig an der Phagocytose beteiligen. Fast alle weißen Blutzellen enthalten Bakterien, jedoch jede in geringer Anzahl. Diese Form der Phagocytose kommt im allgemeinen häufiger als die erste vor. Wir haben dieselbe auch in der ersten Serie unserer Versuche, jedoch in späteren Stadien, d. h. in denjenigen Leukocytenanhäufungen, die wir 20 Stunden nach der Injektion fanden, sowie in dem großen Abscesse, den wir 44 Stunden nach der Injektion nachwies, beobachtet.

Die Bildung solcher kleineren oben beschriebenen und an der Mikrophotographie (Fig. 5) dargestellten Abscesse ist von großer Bedeutung für die Erklärung der Rezidive der Infektionskrankheiten, die wir z. B. beim Rückfalltyphus und dem Abdominaltyphus haben. Zwar kann man in unserem Falle eine solche Bacillenanhäufung an einer Stelle durch die künstlichen Bedingungen des Versuches erklären, allein solche Bacillenanhäufungen können zweifelsohne auch unter natürlichen Bedingungen entstehen. Besonders leicht kann man sich die Bildung solcher Anhäufungen in der Milz vorstellen. Offenbar wird sich der günstige



Kampf der Leukocyten gegen die Mikroben und das dadurch erfolgte Isolieren der letzteren von den Geweben nur so lange fortsetzen, bis in den Gewebsflüssigkeiten eine genügende Quantität von immunisierenden Substanzen gelöst wird. Wenn aber zu der Zeit, wo sich die Quantität dieser Substanzen scharf vermindert, nicht alle Mikroben im Zentrum des Abscesses vernichtet werden, so muß ein zweiter Ausbruch der Infektion im Organismus geschehen.

Bekanntlich existieren über die Frage, wie die Bacillen im immunisierten Organismus vernichtet werden, zwei Ansichten. Nach der einen sollen die Mikroben zu Grunde gehen und sich in den Körpersäften infolge der gemeinsamen Wirkung auf dieselben des spezifischen Immunkörpers und des Komplements, die in jenen Säften gelöst sind, auflösen. Die andere Ansicht erkennt wohl die wichtige Bedeutung dieser beiden Stoffe für den Prozeß der Vernichtung der Mikroben, nimmt jedoch an, daß nur der Immunkörper (Zwischenkörper) frei in den Körpersäften gelöst, während das Komplement im lebenden Organismus nur innerhalb der weißen Blutzellen vorhanden ist. Deswegen können die Mikroben nur, von diesen letzteren gefressen, in ihnen zerstört werden.

Die Frage, ob in dem Blute und in der Lymphe des lebenden Organismus eine frei gelöste Cytase vorhanden, ist, was ihre definitive experimentelle Lösung anbetrifft, eine der schwierigsten. Die Resultate unserer Untersuchungen haben aber gezeigt, wie groß die Rolle der Phagocyten bei der Vernichtung der Schweinerotlaufbacillen im immunisierten Organismus ist. Das oben beschriebene mikroskopische Bild gestattet uns die Schlußfolgerung zu ziehen, daß sogar bei der Annahme einer freien Lösung des Komplements in den Körpersäften dasselbe keine große Rolle bei der Vernichtung der Mikroben spielt, denn diese Vernichtung vollzieht sich im Innern der Phagocyten.

Dorpat, 21. Januar 1907.  
3. Februar

*Nachdruck verboten.*

## A description of some convenient laboratory devices<sup>1)</sup>.

By John S. Fulton, M. D. and Wm. Royal Stokes, M. D.

Baltimore, Maryland, U. S. A.

With 9 figures.

The devices which we shall describe are mostly designed as savers of time or material. Figure 1 shows a dust-proof sterilizing and storage box for Petri dishes. It is well known what an extremely slippery pile Petri dishes make, and few accidents are more exasperating than the avalanche of plates which is liable to occur when one opens the incubator door. In order to prevent these mishaps, to sterilize many plates at once, and to preserve them indefinitely in a sterile condition, we use this box, which consists of a brass base, having three upright arms, two fixed, and one pivoted arm bearing a loose-riveted ring. On the base the plates are stacked against the fixed uprights, the loose arm is raised, and the ring slipped over, embracing the two uprights, after

1) From the Bacteriological Laboratory of the State and City Boards of Health, Baltimore, Maryland.

which the cylindrical cover is slipped down between the uprights and the plates, converting the whole into a dust-proof package. We think

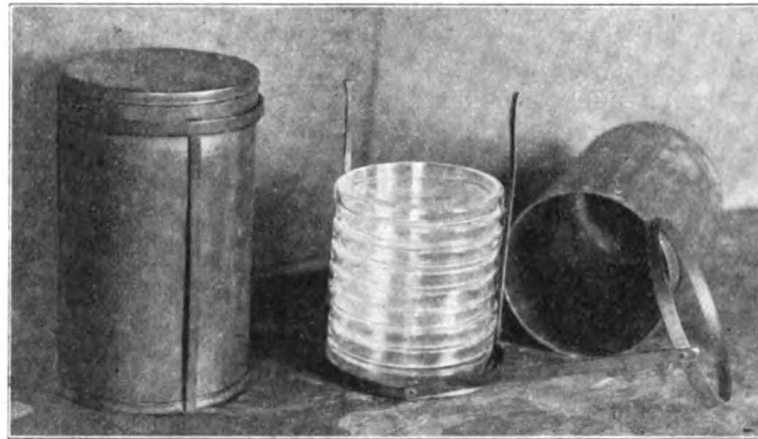


Fig. 1.

that this is more convenient and more effective than the hinge-boxes of square shape, which we have seen elsewhere. It is a rule of the laboratory that plates are never put into one of these boxes, except it is filled and immediately sterilized. There is no hesitation about using a plate found in one of these boxes, and it is very rare that an investigation has to wait till plates are sterilized.

Figure 2 is a cage for incubating plates and is therefore used to put away inoculated plates for observation. It consists of a brass base surmounted by two bent wires crossing each other just in contact at a

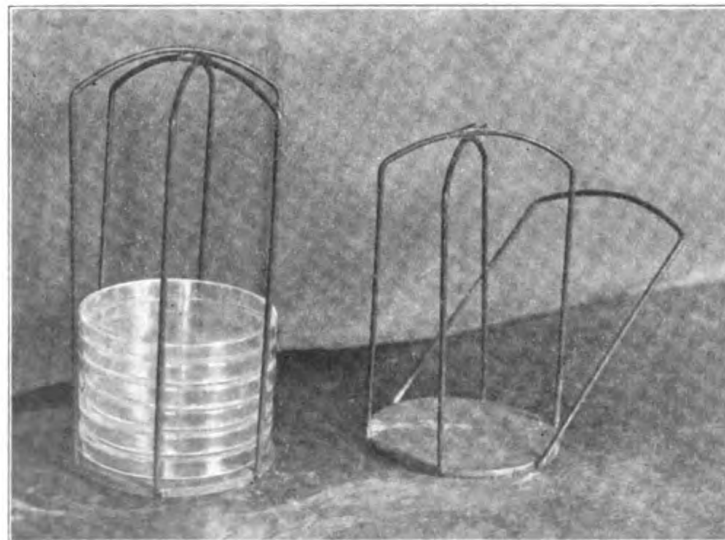


Fig. 2.

convenient height, and forming four uprights, against which plates may be safely stacked. There is a similar bent wire, loose-jointed to the base, which crosses both the others, engaging a notch at the middle of

the bend where the wires all cross. By pressing the two stiff wires together with the left hand, the space on the opposite side opens enough to allow the plates to be stacked in with the right hand, after which the loose arm, being swung up and sprung into the notch, converts the whole into a safe package. This device prevents breakage, keeps kindred specimens properly assembled, and saves space in the incubator and on the shelf. When one of these cages is found on a particular table, it is known that the plates are to be washed. When found on a particular shelf it is known to contain work under observation.

Figure 3 shows a tray for fermentation tubes. These tubes are exceedingly short lived in the laboratory. They require much time for proper storage in the sterilizer and in the incubator, and being employed usually in groups of three, there is a certain risk of confusion. We have to a certain extent met these difficulties with this tray. It is a light brass plate with twelve brass pins, an inch and a quarter high. The hollow stem of the fermentation tube slips over the pin. A fine kerf is sawed into the end of each pin, and into this slit is put a bit of rubber band. This grips gently the sides of the glass stem, and prevents wobbling. With this addition, the tray full of tubes may be carried about quite safely. Twelve tubes or four sets for water examinations go on each tray. Fermentation tubes for large quantities of water can also be placed on this tray, and the photograph shows one large 50 c. c. tube, as well as those used for 1 and 10 c. cs.

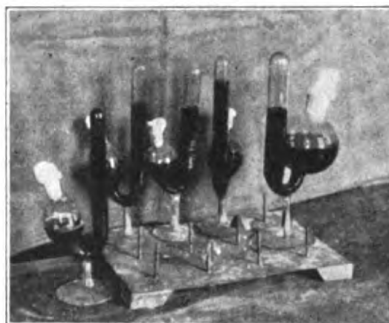


Fig. 3.

Figure 4 shows our express package for ten samples of water for bacteriological examination. The water sample box explains itself. The inner compartment is for ice. When set in the second galvanized iron box the projections of the inner box form compartments in which the sample bottles are carried. The sample bottles are ground-glass-stoppered two-ounce squares. One side of each bottle is etched with a preparation of hydrofluoric acid

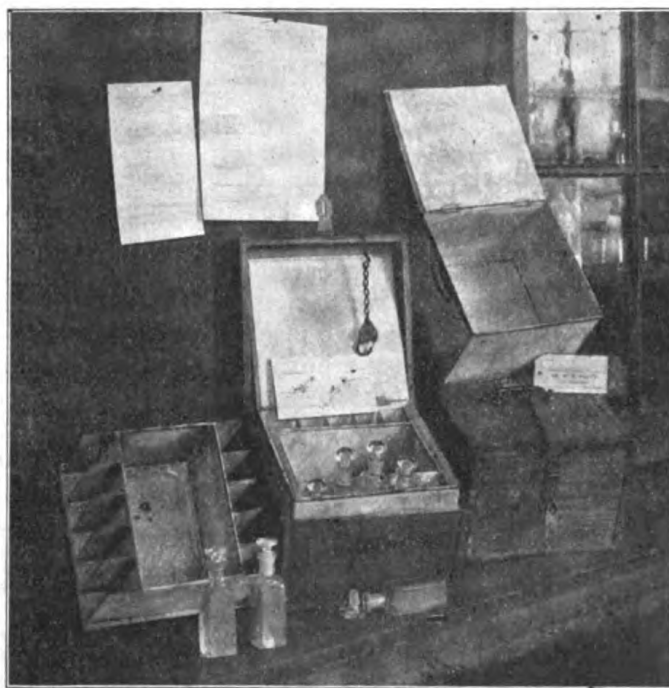


Fig. 4.

called "Diamond Ink". On this surface the record is made with lead pencil when the sample is taken.

The bottles are not so treacherous in hot air sterilization as might be supposed. Each stopper is tied to the neck of the bottle, because the stoppers are not interchangeable.

The projecting handle might seem a disadvantage in a shipping case, but it has the advantage of preventing expressmen from piling other things upon the box, and so keeps the "keep cool" plate in view. The box would be further improved if it had a brass dowel on each side, such as are now placed on trunks, to prevent injury by twisting. This is a practical carrying case, and has given us good service. The blanks, directions, postal and express tag are also seen in the picture. The postal acts as a reminder if the box is delayed in transit.

Figure 5 is a picture of two portable charcoal ovens for making plate cultures at the well side. It also shows the fuel, thermometer,

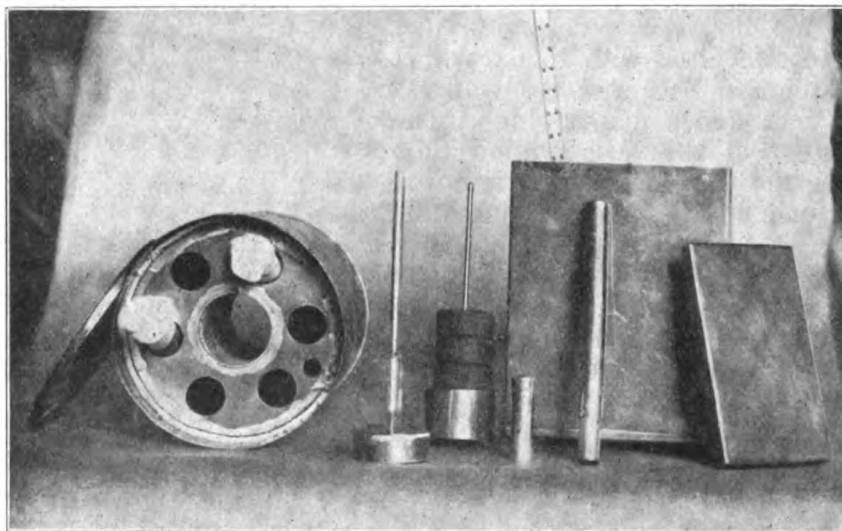


Fig. 5.

pipette and pipette case. This is a stove which we have devised to use in making plate cultures at the well side. If we can do that we can save half the delay of transportation, and get more accurate results besides. When samples are carried at ordinary temperatures the bacteria increase very rapidly; while transportation in the ice box reduces the number of organisms very materially.

The stove is a brass box, lined with asbestos, enclosing a second brass box perforated, as to the top, with five holes, four to fit agar tubes and one for the thermometer. Clear through the stove passes a central cylindrical opening, having brass gauze sides. Into this opening fits a gauze cage, having central wire upon which the fuel is carried. The fuel consists of carbon compressed into tablets. The carbon discs are manufactured for the little pocket stoves which motormen are said to use in the colder regions of this country. This stove has its special thermometer, but practically one is not needed. If one lights two of the carbons a temperature of more than  $100^{\circ}\text{C}$  will be obtained in 15 minutes.

A 1 c. c. pipette is used at the well side. The graduation is in the

narrow tube, and there is room enough above the graduation for easy handling. They are carried in metal cases. Observe the letter *S* upon the joint of the case. When these pipettes go into the sterilizer the *S* is perfectly adjusted. In the field the inspector knows that the pipette case having a rightly adjusted *S* contains a sterile pipette. If the *S* is wrong he does not use it. The chance of using a pipette a second time is precisely as large as the chance of accidentally putting the case together with the two parts of the *S* adjusted. If need be, these pipettes can be sterilized in the stove.

Figure 6 shows an extensible box for carrying inoculated plates in the field. For carrying the plates in the field we have this extensible box, which will carry two, four, six, or eight plates without danger of displacing the covers, and with no great danger of sliding the agar about. In order to fit snugly plates of varying depth the lid is fastened

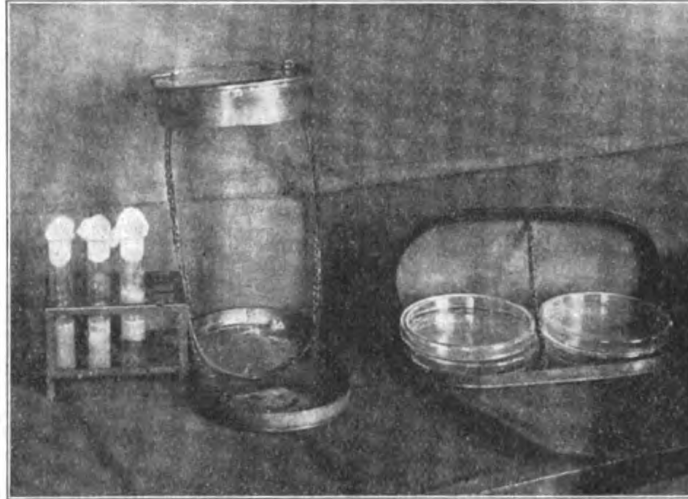


Fig. 6.

down by brass chains and a snap hook. The spring on the inside of the top holds the plates firmly. This removable side gives a deeper box if you need it. Without it, two or four plates are carried equally as well; with this extra side, six or eight.

We etch the covers of our dishes in order that record may be written with a lead pencil. This rids us of the messy grease pencil, and it has another slight advantage in that it prevents mistaking tops for bottoms. The etched surface is a great advantage in the field. The photograph also shows a compact test-tube rack containing glucose agar fermented by the colon bacillus. The small test-tube racks contain twelve holes each measuring 2 c. m. in diameter. The floor under each hole has a slight indentation which helps to keep the test-tube steady in its position. These can be made for tubes of any size, but we find the small tubes measuring \*10 by 1,5 c. ms. quite convenient, and the small racks take up less room in the incubator. The racks can be made of copper and measure 10 by 7 c. ms.

Figure 7 shows scale for reading gas percentages in fermentation tubes. This scale was devised by Prof. Frost of the University of Wisconsin. It is a handy tool, but costs twice as much money, and contains twice as much metal as is necessary. It is made of aluminium.

The scale is held in the left hand, the fermentation tube in the other. You hold the tube against the scale in such a manner that the convexity at the top of the closed arm is about bisected by the top line, and an equal portion of the contraction at the bottom is cut off by the lower line and you can read the water level from the scale at either end.

Figure 7 also shows the slanting baskets used for fluid culture material. Each basket is tagged and the tubes are held in place by a plate which has two teeth, which fit into the netting at the bottom of the basket.

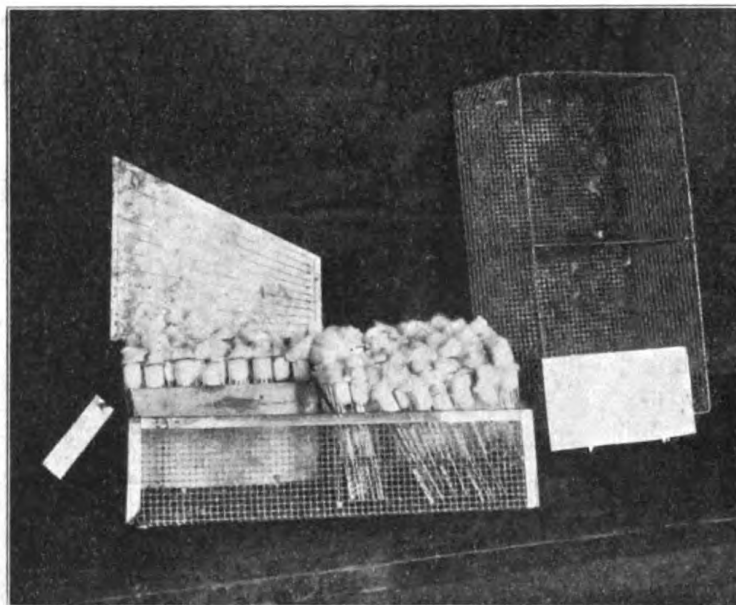


Fig. 7.

The slanting baskets for culture media are very convenient for storing large quantities of culture material on ice, and the slanting position of the tubes prevents the slipping of fluid culture tubes to the bottom of the basket, and consequent wetting of the cotton plugs with perhaps future contamination. As the stock of tubes decreases, the remaining ones are kept in position by the flat piece of tin shown in the picture.

Figure 8 is a photograph of a water bath which we have found to offer many advantages over the usual laboratory water bath. In the first place by means of the rapid water heater *A* the bath can at once be filled with water at a temperature of 70° C. When the water reaches the depth of 5 c. ms. it is enough to immerse the portion of a test-tube containing solid culture material and by means of a triple Bunsen burner under neath the temperature of the water can be brought to 95° C in six minutes. This temperature will melt agar immediately.

The second spigot *B* admits cold water to the bath and the water can be reduced from boiling to 40° C in one minute. It is a good plan to allow some of the hot water to flow out by turning the valve marked *C*. This partially empties the bath, and the addition of the cold water soon reduces it to any desired temperature. In laboratories where many plate cultures of water, milk, intestinal discharges or other materials are being made, such an apparatus saves much time; seventy-five tubes can be melted and cooled more quickly than twenty tubes could be melted and cooled in the ordinary laboratory water bath.

The first portion of the apparatus consists of a large cylinder called the instantaneous water heater. A valve at *D* admits water into the apparatus and the supply is regulated at this point. The water

passes through a thin coil which is exposed to the heat of a powerful Bunsen burner. At *E* can be seen a small pilot light which is directed into the apparatus so as to ignite the flame in the large Bunsen burner within the cylinder. At *F* the valve is shown which by turning admits gas to the burner. This should never be turned on until water has been allowed to flow through the thin coil and out of one of the spigots. If this precaution is not observed the apparatus can be easily burned out.

The temperature of the water is controlled by the valve *D* and can be raised to a maximum temperature of  $75^{\circ}$  C by allowing a minimum flow of water to pass through the apparatus. The larger the stream the lower the temperature of the water. The coil has an overflow at the top so that an explosion from steam is impossible.

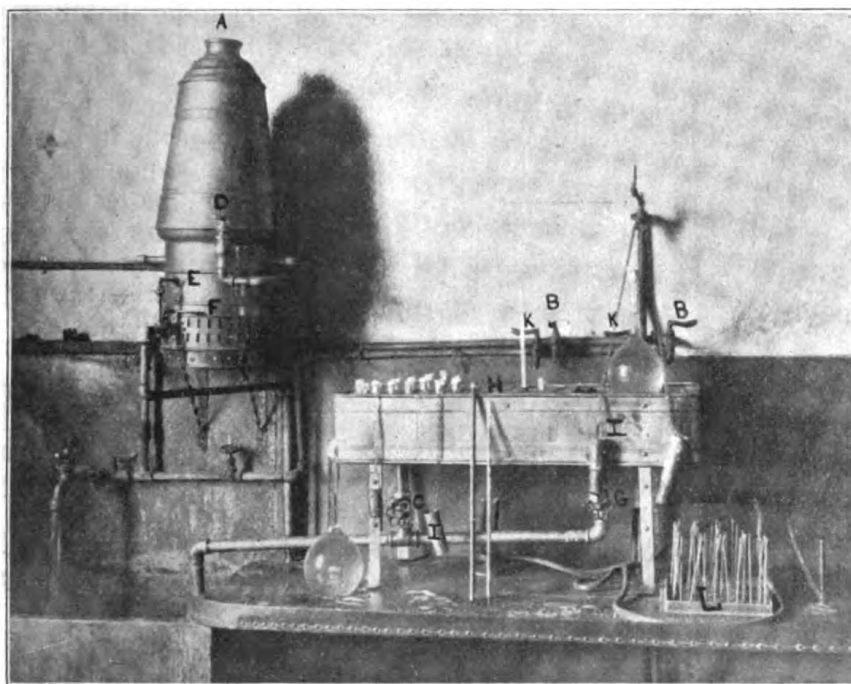


Fig. 8.

The water bath itself is placed upon a stand, high enough to admit a triple Bunsen burner beneath and consists of two water compartments which are emptied at valves *C* and *G*. The larger compartment measure 50 by 90 c. ms. and is 18 c. ms. high. It contains a test-tube rack marked *H* which is 9 c. ms. high and which contains a series of pins underneath, in which the test tubes snugly fit, as seen at *L*. The smaller compartment measures 18 by 18 c. ms., and contains a test-tube rack which will hold 20 large tubes. The rack can be removed and the compartment is often used for exposing germs to a certain temperature, or for cooling the contents of flasks or other vessels. For this latter purpose an overflow stopper marked *I* is provided. The spigots marked *K* admit hot water to the bath while those marked *B* admit cold water. The apparatus is made out of heavy block tin.

The great advantage of such a water bath over those usually employed is the fact that within ten minutes as many as 70 test-tubes of

solid culture material can be melted and cooled ready for inoculation and immediate plating. This process combined with the use of pipettes and plates already sterilized saves us much time in the laboratory.

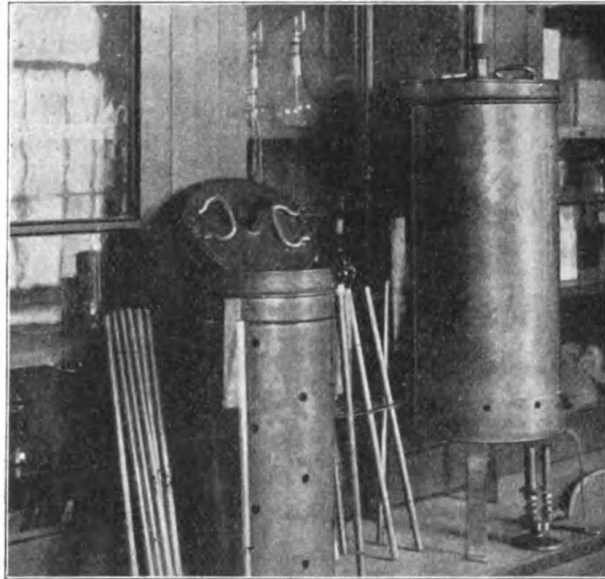


Fig. 9.

Both cylinders contain a central shaft in the top for the thermometer, and the top of the inner cylinder is fastened by a slot and pin. The top can only be removed by turning the slot, and the inner cylinder can thus be removed from the sterilizer without trouble.

The pipettes are held in place by a perforated diaphragm which is seen in the photograph between the inner and outer cylinder, and this picture also shows the pipettes and brass tubing.

Figure 9 is a photograph of a dust-proof sterilizer for 50 pipettes. In the routine work of the bacteriological examination of drinking water it is very inconvenient to wait an hour or more until the pipette is sterilized. Our apparatus, which consists of an inner cylinder holding the pipettes, and an outer cylinder which allows an air space between the two cylinders will sterilize 50 pipettes at a time. The pipettes are enclosed in a brass tube, stoppered with cotton at either end. After the sterilization, these pipettes can be set aside, and used immediately when desired.

### Inhalt.

- Famulener, L. W.**, A report of immunization curves derived from goats treated with certain haemolytic bacterial toxins (Vibriolysin and Staphylolysin), p. 58.
- Fermi, Claudio**, Verhalten des Wutvirus den ein- oder mehrschichtigen schwedischen Papierfiltern gegenüber, im Vergleiche zum Verhalten der Schizomyceten, Blastomyceten, Hyphomyceten (Sporen) und der Amöben, p. 23.
- , Die Cerebrospinalflüssigkeit wutkranker Tiere ist nicht virulent, p. 25.
- , Ueber die Virulenz des Speichels und der Speicheldrüsen wutkranker Tiere, p. 26.
- Friedberger, E.**, Die Bedeutung der Bakterizidie für die Immunität gegenüber Typhus und Cholera, p. 32.
- Fulton, John S. and Royal Stokes, Wm.**, A description of some convenient laboratory devices, p. 89.
- Hess, L.**, Zur Frage des latenten Mikrobismus, p. 1.
- Jarotzky, Alexander**, Lokale Erscheinungen bei passiver Immunität gegen Schweinerotlauf und Infektion, p. 76.
- Manwaring, Wilfred H.**, On the thermostability of complement, p. 70.
- Neumann, R. O.**, Untersuchungen über „Opsonine“ und Phagocytose, p. 46.
- Tizzoni, Guido und Bongiovanni, Alessandro**, Ueber einige Bedingungen, welche zur Zersetzung des Wutvirus mittels Radiums in vitro erforderlich sind. VI., p. 27.
- Vannod, Th.**, Contributions à l'étude du gonocoque, p. 10.
- Weichardt**, Spezifisches Antitoxin? p. 72

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.



# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLIV. Heft 2.

*Nachdruck verboten.*

## Zwei durch anaërobes Wachstum ausgezeichnete Streptokokken.

[Aus dem hygienischen Institute in Kiel (Geheimrat B. Fischer).]

Von Dr. **Heinrich Gräf** und Dr. **Wilhelm Wittneben**,  
Assistenten am hygienischen Institute.

Mit 2 Figuren.

Im hiesigen Untersuchungsamte wurden aus eingesandtem Material kurz nacheinander zwei durch anaërobes Wachstum auffallende Streptokokken isoliert und zwar der eine, als Strept. „Sch“ (Schwarzenbek) bezeichnet, aus einem klinisch auf Aktinomykose verdächtigen Hautabsceß; der andere, Strept. „K“ (Kiel), aus einem jedenfalls metastatisch entstandenen Hirnabsceß.

### Streptococcus „Sch“.

Der erste Fall, dessen Krankengeschichte wir der Liebenswürdigkeit des behandelnden Arztes Herrn Dr. Gondesen in Schwarzenbek verdanken, betraf einen Landwirt, der sich wegen einer seit 6—7 Wochen bestehenden, etwa walnußgroßen Anschwellung am Halse am 22. September 1906 in ärztliche Behandlung begab. Die Anschwellung, an der Patient nur manchmal im Bette ziehende Schmerzen empfunden haben will, fand sich vor der Trachea, etwas unterhalb des Ringknorpels. Mit der Oberhaut straff verwachsen, ließ sie sich auch gegen den Kehlkopf hin nicht verschieben; sie ging, nicht scharf abgegrenzt, in die Umgebung über. Auf der Kuppe leichte, anscheinend durch Scheuern des Kragenknopfes verursachte Rötung; im übrigen keine Entzündungserscheinungen. Am 29. September Schwellung geringer, Rötung verschwunden, sonst unverändert. — Am 8. Oktober gelbgrünlich durchschimmernde Stelle auf der Höhe der Geschwulst. Durch Incision Eröffnung einer schräg nach oben verlaufenden, etwa 2 cm tiefen, gangartigen Höhle. Diese enthielt keinen Eiter, wohl aber eine Anzahl mehr als mohnkorngroßer, gelblich-grüner Körnchen, von denen noch am selben Tage 6 in Gaze eingeschlossen zur Untersuchung auf Aktinomykose an das Kieler hygienische Institut eingesandt wurden. Gazetamponade der Wunde. — Am 11. Oktober Verbandwechsel. Auskratzung der Wunde mit scharfem Löffel. Körnchen nicht mehr gefunden. — Am 20. Oktober Wunde verheilt; noch leichte Anschwellung in der Umgebung der Narbe. — Am 22. November Anschwellung verschwunden, Narbenrand wieder gut verschieblich.

Ueber die Aetiologie ließ sich nichts mit Bestimmtheit ermitteln.

Auffallend ist die längere Dauer und die Gutartigkeit des Prozesses, ferner, daß sich in der Anschwellung eine starrwandige Höhle gebildet hatte, in der die grünlichen Körnchen ohne Beimengung von Eiter oder anderer Körperflüssigkeit, wie abgekapselte Fremdkörper ganz isoliert lagen.

Bei der Untersuchung der runden, gelblich-grünen, salbenweichen, leicht verreiblichen Körner im Institute konnte nichts von den für Aktinomykose charakteristischen Kolbenformen aufgefunden werden.

Die nach Gram behandelten und mit Fuchsin nachgefärbten Ausstriche enthielten ausschließlich Mikroorganismen und zwar vorwiegend in Diploform oder in kurzen Ketten angeordnete Kokken von unregelmäßiger Gestalt; ferner ziemlich viele kurze, gerade oder gebogene, gleichfalls grampositive, meist an den Enden abgerundete Stäbchen, oft in V-Form liegend. Daneben sah man stets noch in geringer Zahl nach Gram sehr schwach bzw. unsicher färbbare Stäbchen und vereinzelt gramnegative Spirochäten. Die unregelmäßigen Kokken und die kurzen,

Nährboden	Streptococcus pyogenes	Streptococcus „Sch“ <sup>a</sup>	Streptococcus „K“ <sup>a</sup>	
Neutraler Agar	<p>Platte: Oberflächenkol. klein, grauweiß, flach; <math>\frac{60}{1}</math> zart punktiert, glatter Rand, durchscheinend, grau-gelblich, ohne Lappchenzeichnung, nach 5 Tagen trockene, graue, etwas eingefranste Kol. <math>\leftrightarrow</math> In Wasserstoff ebenso</p> <p>Röhrchen: Stich zart, fadenartig, später gekörnt, an der Oberfläche grauer, unregelmäßiger Belag. — Verteilungskultur: Oben und in der Tiefe gleichmäßige, kleine, graubräunliche, rundliche Kol.</p>	<p>Platte: Nie Oberflächenkol.; in der Tiefe erst nach <math>72^h</math> (<math>\frac{60}{1}</math>) schwarzbraune, schollige Kol. mit gelbem, rosettenartig gezähntem Rand; nach 5 Tagen um die Kol. gelber, wabenartig aussehender Hof. — In Wasserstoff gelbliche, kreisrunde, feingekörnte Oberflächenkol. mit ziemlich scharfem Rand</p> <p>Röhrchen: Stich <math>24^h</math> deutliches Wachstum in der Tiefe, zart, fadenförmig, uncharakteristisch; <math>48^h</math> ganz schwacher, oberflächlicher Belag. Verteilungskultur: Oben 9—10 mm koloniefrei, darunter (<math>48^h</math>) rundliche und zackige, weißliche Kol.</p>	<p>Platte: Keine oder nur ganz vereinzelte Oberflächenkol. (<math>24^h</math>) <math>\frac{60}{1}</math>: Leicht gekörnt, bräunlich, besonders in der Mitte. — In der Tiefe erst nach <math>48^h</math> kleine, hellbräunliche, runde Kol.</p> <p>Röhrchen: Stich <math>24^h</math> eben sichtbar, <math>48^h</math> bandartig, schollig, leicht bräunlich, bis an die Oberfläche, auf dieser kein Belag. — Verteilungskultur: Oben 5—10 mm dauernd koloniefrei; darunter (<math>24^h</math>) zartes, dichtes Wachstum, nach 7 Tagen stecknadelkopfgroße, platte, hellbräunliche Kol. — Schräges Röhrchen: Im Kondenswasser geringer, schwach bräunlicher Bodensatz</p>	Streptococcus „K“ <sup>a</sup>
Saurer Agar	<p>Wachstum etwas üppiger wie auf neutralem Agar</p>	<p>Platte: Kein Wachstum. In Wasserstoff (<math>\frac{60}{1}</math>) grobgekörnte, rundliche Kol. mit gezacktem, grobkörnigem Rand</p> <p>Röhrchen: In Verteilungskultur nur bei reichlicher Einsaat in der Tiefe mäßiges Wachstum; oben etwa 15 mm koloniefrei</p>	<p>Platte: <math>24^h</math> keine oder nur vereinzelte Oberflächenkol. (klein, hell, rundlich); <math>72^h</math> gut stecknadelkopfgroß, im auffallenden Licht weißlich, im durchfallenden bräunlich. <math>\frac{60}{1}</math> rund, glattrandig bis rosettig, fein granuliert, undurchsichtige Mitte, schmaler, heller Rand. — Tiefenkol.: <math>24^h</math> klein, bräunlich glänzend, 8 Tage intensiv braun, stecknadelkopfgroß</p> <p>Röhrchen: Stich etwas üppiger wie neutraler Agar. Verteilungskultur: Oben etwa 5 mm koloniefrei, unten (<math>24^h</math>) bis stecknadelkopfgroß abgeplattet, bräunlich glänzend</p>	Streptococcus „K“ <sup>a</sup>
Trauben-zuckeragar	<p>Wachstum reichlicher und üppiger wie auf neutralem Agar</p>	<p>Wachstum wie neutraler Agar, nur, wo vorhanden, etwas üppiger</p>	<p>Wie saurer Agar oder etwas üppiger. Kolonien meist etwas weißlicher, in der Tiefe bisweilen T-förmig</p>	Streptococcus „K“ <sup>a</sup>
Glycerin-agar	<p>Wie Traubenzuckeragar</p>	<p>Wie Traubenzuckeragar</p>	<p>Noch kümmerlicher als neutraler Agar. — In Verteilungsröhrchen oben 10—17 mm koloniefrei</p>	Streptococcus „K“ <sup>a</sup>

<p><b>Serumagar</b> (1 : 5)</p>	<p>Wie neutraler Agar, nur üppiger und reichlicher</p>	<p>Platte: Keine Oberflächenkol.; in der Tiefe erst nach 48<sup>h</sup> weißliche, unregelmäßig gezackte Kol., <math>\frac{60}{1}</math> schwärzlich braun, rosettenartig, schollig. — In Wasserstoff wie neutraler Agar Röhrchen: Stuch wie neutraler Agar. — Verteilungskultur: Schichtenwachstum, vgl. Figur</p>	<p>Platte: Erst nach 72<sup>h</sup> Wachstum; bei reichlicher Oberflächenausaat nur einige kleine, weißliche Kol., <math>\frac{60}{1}</math> rundlich, ausgezackter heller Rand, Mitte graubräunlich gekörnt; Tiefenkol. bräunlich, <math>\frac{60}{1}</math> schollig ausgebuchtet Röhrchen: Verteilung oben 5 mm koloniefrei, darunter (24<sup>h</sup>) zart bleibendes, bräunliches Wachstum</p>
<p><b>Trauben-zucker-Serumagar</b></p>	<p>Platte: Taupfenartige Oberflächenkol. Bedeutend üppiger wie neutraler Agar, <math>\frac{60}{1}</math> gekörnt, graugelb, rund, gekörnter Rand ohne Läppchenzeichnung, <math>\frac{500}{1}</math> kurzkettige Diplokokken. Sonst wie auf neutralem Agar</p>	<p>Platte: Oberflächenkol. rund, saftig, gelblichweiß, stecknadelkopfgroß, <math>\frac{60}{1}</math> schwärzlichgelb, körnig, ziemlich scharfer Rand, <math>\frac{500}{1}</math> Kokken in Ketten liegend, aber auch länglich-ovale Formen Röhrchen: Verteilungskultur weißliche Kol. am üppigsten in der Tiefe, aber auch oberflächlich</p>	<p>Platte: Oberflächenausaat: 24<sup>h</sup> reichlich kleine, helle Kol. mit weißlichem Hof, <math>\frac{60}{1}</math> rund, glattrandig, dunkle Mitte; 56<sup>h</sup> über stecknadelkopfgroß, <math>\frac{500}{1}</math> mittellange Ketten von Kokken u. Uebergangsformen zu zweigespitzten Stäbchen. — Nährboden in 2 bis 3 Tagen milchweiß, undurchsichtig Röhrchen: Verteilung 24<sup>h</sup> oben 10 mm koloniefrei, auch <math>\frac{60}{1}</math>; 56<sup>h</sup> bis zur Oberfläche milchweiß, Kol. nicht mehr zu erkennen</p>
<p><b>Milchagar</b> (1 : 1)</p>	<p>Platte: Oberflächenkol. 24<sup>h</sup> zart, grau, <math>\frac{60}{1}</math> grau, rund, feingekörnt; nach 5 Tagen ebenso Röhrchen: In Verteilung oben wie in der Tiefe kleine, weißliche Kol.</p>	<p>Platte: Erst nach 48<sup>h</sup> wenige schneeweiße Oberflächenkol. mit geringem Hof; <math>\frac{60}{1}</math> schwarz, rund, Rand schollig gezackt; besseres Wachstum in der Tiefe Röhrchen: Verteilung oben 5 mm koloniefrei, unten schneeweiße, unregelmäßig runde Kol., größer als Strept. pyogenes</p>	<p>Platte: Oberflächenkol. 24<sup>h</sup> ganz klein, rund, glasig; <math>\frac{60}{1}</math> heller Rand, bräunliche Mitte. — 5 Tage etwas größer, weißlich, graugelblich, geringer Hof durch Aufhellung des Nährbodens. — Tiefenkol. nur <math>\frac{60}{1}</math> sichtbar, rund, schwarz, bräunlich</p>
<p><b>Blutagar</b> (ca. 1 : 10)</p>	<p>Oberflächenkol. 24<sup>h</sup> klein, taupfenartig, beginnende Hämolyse. — 48<sup>h</sup> etwas größer, ausgebildeter klarer Hof</p>	<p>Oberflächenkol. erst nach 48<sup>h</sup> eben sichtbar, 72<sup>h</sup> sehr zart, punktförmig, weißlich; nie Hofbildung (14 Tage Beobachtung) durch Hämolyse</p>	<p>Oberflächenkol. erst nach 48<sup>h</sup> eben sichtbar, kaum größer werdend. In Wasserstoff (72<sup>h</sup>) reichlich saftige Kol., 2 mm breit. — Saurer Blutagar: 24<sup>h</sup> kleine, punktförmige Kol., nach 8 Tagen stecknadelkopfgroß, weißlich. — Nie Hofbildung durch Hämolyse</p>
<p><b>Loeffler-Serum</b></p>	<p>Kol. 24<sup>h</sup> glattrandig, weißlich, taupfenartig, zart; 72<sup>h</sup> Rand etwas gezackt</p>	<p>Kol. erst nach 48<sup>h</sup> punktförmig, rein weiß; 72<sup>h</sup> bis 1 mm breit, nicht ganz rund, Rand deutlich gezackt, Mitte knopfartig erhaben</p>	<p>Erst nach 72<sup>h</sup> bei reichlicher Aussaat vereinzelte kleine, weiße Kol. — Nach 5 Tagen bis stecknadelkopfgroß</p>

Nährboden	Streptococcus pyogenes	Streptococcus „Sch.“	Streptococcus „K.“
Drigalski-Conrad-Agar	Oberflächenkol. 24 <sup>b</sup> sehr zart, punktförmig; 48 <sup>b</sup> tautropfenartig, saftig, ohne Rötung; am 4. Tage deutliche Rötung; auf demselben Nährboden ohne Kristallviolett üppiger	Bei reichlicher Aussaat erst nach 3 Tagen Spur Wachstum, geringe Rötung. — Kol. rötlich-weiß, in der Durchsicht hellrot mit dunkelroter Mitte. Ebenso bei Fehlen des Kristallvioletts im Nährboden	Bei reichlicher Aussaat nach 24 <sup>b</sup> höchstens einige eben sichtbare Kol., nach 5 Tagen nur wenig größer. — Keine Rötung. — Bei Fehlen des Kristallvioletts im Nährboden etwas üppiger
Derselbe mit Serumzusatz	Oberflächenkol. 24 <sup>b</sup> zart, tautropfenartig, rötlich; wesentlich üppiger als ohne Serum	Erst nach 48 <sup>b</sup> Oberflächenkol., rötlich-weiß, ziemlich saftig, nicht ganz rund, Rand gekerbt, in der Durchsicht schmaler, heller, rötlich-weißer Rand, Mitte ausgeprägt blaurot (nach 14 Tagen Rand nur noch ganz schmal, Mitte rot); $\frac{60}{1}$ rund, rosettenartig, heller Rand; $\frac{500}{1}$ dicke, ovale Kettenstäbchen und V-Formen, daneben Kettenkokken bis zu 20 Gliedern. — In der Tiefe besseres Wachstum als auf der Oberfläche. — Nährboden zeigt völlige Rötung	Bei Oberflächenaussaat: 24 <sup>b</sup> reichlich kleine Kol., 48 <sup>b</sup> bis stecknadelkopfgrößer, ründlich, weißlich. — Umgebung der Kol. gerötet u. weißlich getrübt. — $\frac{500}{1}$ wie auf Traubenzuckerumagar
Kartoffel	Erst nach etwa 5 Tagen wässrig glänzender Belag; $\frac{500}{1}$ Kettenkokken und ovale in Ketten oder regellos liegende Formen (Involution)	Kein sichtbares Wachstum. Im Abstrich schlecht färbbare, scheinbar abgestorbene Kokken	Kein sichtbares Wachstum oder nach 48 <sup>b</sup> ganz leicht bräunlicher Schimmer. $\frac{500}{1}$ kurze Ketten mit zum Teil ovalen Formen
Gelatine	Bei 22°: 3 Tage kleine, grauweiße, flache Kol.; $\frac{60}{1}$ rund, zart punktierter, glatter Rand, durchscheinend graugelblich ohne Lappchenzeichnung. — Stich: Fadenförmig, zart, später körnig Bei 25° und 37°: Nach 3 Wochen keine Verflüssigung	Bei 22°: In 4 Wochen kein Wachstum Bei 25°: Nie Wachstum an der Oberfläche. — In der Tiefe: 3 Tage $\frac{60}{1}$ schwarze, ausgebuchtete, schollige, rosettenartige Kol. (vgl. Serumagar) Umgebung gelblich verfärbt. Keine Verflüssigung. — Stich: Fadenförmig, später mit weißen Knöpfchen Bei 37°: Bei Luftabschluß gutes Wachstum, Verflüssigung (vgl. „Gelatineversuche“ im Text). — (Serumgelatine ebenso, nur bei 37° üppiger)	Bei 22°: Nach 4 Wochen kein Wachstum in neutraler G., saurer G., Traubenzucker-G., Serum-G., auch nicht bei Luftabschluß Bei 37°: Nach 4 Wochen weißer Bodensatz, $\frac{500}{1}$ mittellange Kokkenketten, keine Verflüssigung, d. h. Erstarrung des Nährbodens nach Entfernung aus dem Brutschrank

Bouillon	Gleich starkes Wachstum in unangekochter oder ausgekochter B. mit oder ohne Paraffinüberschichtung. — 24 <sup>b</sup> B. körnig getrübt; 48 <sup>b</sup> Trübung zu Boden gesunken und B. wieder klar. — Traubenzucker-B.: Ebenso, nicht üppiger. — Schwach alkalische B.: Ebenso. — Saure B.: Weniger üppig. — 500 Ketten aus neutraler, schwach alkalischer und saurer B. von annähernd gleicher Länge (Vincent)	Kein Wachstum in unangekochter B., in ausgekochter B. mit oder ohne Paraffinüberschichtung nach 24 <sup>b</sup> geringes, nach 48 <sup>b</sup> stärkeres Wachstum; am Glase körniger Belag, der zu Boden sinkt; B. selbst klar; gelblich-weißer, körniger Bodensatz; in unüberschichteter B. beginnt der Glasbelag 1 cm unter der Oberfläche. — Traubenzucker B.: Etwas üppiger. — Saure B.: Kein Wachstum. — Alkalische B.: Ueppiger als neutrale B. — 500 neutrale B.: Ketten von 20—30 Gliedern, schön gewunden (Vincent); alkalische B.: Bis 8 Glieder und ovoid Stäbchen in V-Form oder hintereinander	In unangekochter B. kein Wachstum oder nur ganz geringe weiße Flöckchen; in ausgekochter B. mit oder ohne Paraffinüberschichtung in 24 <sup>b</sup> geringer Bodensatz, leichte Trübung, in 48 <sup>b</sup> beides etwas stärker Traubenzucker-B. und saure B.: Etwas üppiger, Traubenzucker-B. in 24 <sup>b</sup> dichte Trübung, reichlicher Bodensatz von geronnenem Serum, darin reichlich mittellange Kokkenketten
Peptonwasser	11 Tage: Geringes Wachstum, kein Indol	11 Tage: Spur Wachstum. Kein Indol	Kein Wachstum
Kartoffelbouillon (Wrzosek)	24 <sup>b</sup> reichliches Wachstum, diffus körnige Trübung und Bodensatz, 48—72 <sup>b</sup> B. klar, Trübung zu Boden gesunken. — 500 lange Kokkenketten	Wie Strept. pyogenes	24 <sup>b</sup> Trübung und Bodensatz; 48 <sup>b</sup> Trübung sehr dicht; 5 Tage nur noch leichte Trübung; 10 Tage B. klar, reichlich Bodensatz. — 1 Kokkenketten von 20—30 Gliedern
Milch	Nach 7 Tagen Gerinnung, lockeres Gerinnsel; 500 Ketten bis 20 Glieder, schön gewunden	Nach 4 Tagen Gerinnung, ziemlich feste Massen; 500 kurze Ketten und Diploformen. (Bei 22° in 10 Tagen keine Gerinnung)	Unüberschichtet: 48 <sup>b</sup> einzelne Käseflöckchen, 72 <sup>b</sup> feste Gerinnsel, Serum klar. — Ueberschichtet: 24 <sup>b</sup> einzelne Flöckchen, 48 <sup>b</sup> dichte Gerinnung, 14 Tage Peptonisierung. — 500 lange Ketten von 40 und mehr Gliedern
Lackmuskmolke	3 Wochen: Klare Rötung, deutlicher Bodensatz; 6 Wochen: Ebenso	7 Tage: Beginnende Rötung; 4 Wochen: Klare ausgesprochene Rötung, nicht stärker werdend, geringer Bodensatz	Unüberschichtet: 10 Tage klare Rötung, überschichtet: 3 Tage leichte, 10 Tage starke, klare Rötung, geringer Bodensatz
Barsiekows Milchzucker-nährboden	7 Tage: Beginnende Rötung, auch in 6 Wochen kaum stärker	2 Tage: Beginnende Rötung, allmählich stärker werdend, nach 6 Wochen starke Rötung, im auffallenden Lichte Opaleszenz	Unüberschichtet: 5 Tage Rötung, überschichtet: 2 Tage beginnende, 4 Tage starke Rötung, im durchfallenden Lichte klar, im auffallenden Lichte etwas trübe
Barsiekows Traubenzucker-nährboden	3 Tage: Schwache, 7. Tag: Ausgesprochene Rötung, dann kaum noch zunehmend	24 <sup>b</sup> beginnende, 48 <sup>b</sup> stärkere Rötung; 14 Tage stark rot, im auffallenden Lichte etwas opalisierend, keine Gerinnung; nach 1 1/2 bis 3 Monaten Gerinnung	Unüberschichtet: 6 Tage Rötung, im auffallenden Lichte etwas opalisierend, Ueberschichtet: 2 Tage leichte, 4 Tage starke Rötung und Opaleszenz

am Leben. Auch bei 3 Kaninchen entstanden langsam Abscesse bis zu Pflaumengröße. Aus allen Abscessen wurde der Strept. „Sch“ gezüchtet. Intramuskulär erzeugte er bei 3 Meerschweinchen innerhalb 3 Tagen harte, anscheinend recht schmerzhaft bis haselnußgroße Knoten, die nach etwa 12 Tagen verschwanden, ohne in Eiterung überzugehen. Bei intrakardialer Injektion von Bouillonkultur starben 2 Meerschweinchen; das eine  $\frac{1}{2}$  Minute nach Einspritzung der, wie oben erwähnt, sich sofort zusammenballenden Bouillonkulturen. Die sogleich vorgenommene Sektion ergab weder Verletzung am Herzen noch Bluterguß in den Herzbeutel, aber reichlich embolische Blutungen in die Lungen. Das zweite Meerschweinchen wurde nach 20 Stunden tot aufgefunden; da beim Herzstich hellrotes Blut ausgetreten war, muß wohl die Injektion ins linke Herz erfolgt sein; es fanden sich bei der Sektion punktförmige Blutungen in Darm, Magen, Niere und Lungen, in denen sich ebenso wie im Herzblute die typischen Kokken mikroskopisch und kulturell nachweisen ließen. Ein drittes ins Herz gespritztes Meerschweinchen blieb dauernd am Leben; es war aber mit einer Abschwemmung von Loeffler-Serum geimpft, bei der die Zusammenballung nicht so stark ist.

Wir sehen also, daß, während ja beim Menschen eine Eiterbildung nicht beobachtet worden war, bei Versuchstieren der Strept. „Sch“ Eiterung hervorrief.

Sieht man davon ab, daß unsere Streptokokken durchweg etwas kleiner erschienen als der Strept. pyogenes, so können im übrigen morphologische Unterschiede nicht aufgefunden werden; dagegen läßt sich der Strept. „Sch“ durch die Kultur stets mit aller Sicherheit vom Strept. pyogenes unterscheiden. Auf gewöhnlichen Nährböden blieb zum Unterschiede von dem letzteren aërobes Wachstum stets aus, und auf den zucker- und serumhaltigen (Loeffler-Serum, Milchagar) boten die Oberflächenkolonien einen ausgesprochen weißen Farbenton und eine unregelmäßige buchtige Gestalt dar.

Für die Unterscheidung wichtig war ferner, daß der Strept. „Sch“ bei 37° C in Gelatine (bei Luftabschluß bzw. in hoher Schicht) ein leimlösendes Ferment bildete, was der zum Vergleich herangezogene Strept. pyogenes nicht vermochte.

Der Gelatineversuch wurde wiederholt in folgender Weise angestellt:

Röhrchen,	beimpft mit Strept. pyogenes und Strept. „Sch“,	wurden
3 Wochen bei 37° C gehalten und zwar		
je 4 Röhrchen Gelatine und Serumgelatine mit Paraffinüberschichtung		
„ 4 „ „ „ „	unüberschichtet	
„ 4 „ „ „ „	unbeimpft überschichtet und unüberschichtet	zur Kontrolle.

Die überschichteten Röhrchen mit Strept. „Sch“ zeigten nach 10, die unüberschichteten erst nach 20 Tagen Verflüssigung der Gelatine. Bei Strept. pyogenes konnte kein leimlösendes Ferment nachgewiesen werden. Die Kontrollröhrchen wurden gleichfalls wieder fest. Bei 25° C vorgenommen, ließ derselbe Versuch keine Verflüssigung der Gelatine erkennen, wohl infolge des kümmerlichen Wachstums.

### Streptococcus „K“.

Den zweiten Streptococcus züchteten wir aus Eiter von einem Hirnabsceß. Der Eiter war dem Institut von der hiesigen psychiatr. und Nervenlinik zur Untersuchung besonders auf Tuberkelbacillen eingesandt.

Die Krankengeschichte, die wir der Güte des Herrn Dr. Flatau verdanken, ist kurz folgende:

Frau A. vor mehreren Monaten an Pneumonie erkrankt. Damals im Sputum Pneumokokken. Die Krankheit nahm einen schleppenden Verlauf, die Untersuchung auf Tuberkelbacillen blieb negativ. Allmählich traten Erscheinungen eines Lungenabscesses auf. Plötzlich morgens Symptome eines Hirntumors, gegen Abend Exitus letalis.

Sektionsergebnis: Abgekapselter Lungen- und Hirnabsceß. Eiter aus letzterem steril entnommen.

Der Befund im Institut ergab:

**Makroskopisch:** Dickbreiige weißliche Masse, in der noch geringe Hirnpartikelchen vorhanden sind.

**Mikroskopisch:** In dem auf Tuberkelbacillen gefärbten Präparat mit Methylenblau-Nachfärbung wurden zunächst keinerlei Mikroorganismen gefunden, ebensowenig in je einem mit Gentianaviolett und Karbol-fuchsin gefärbten Präparat; es zeigten sich lediglich zwischen den Eiterkörperchen und Zellen einige hellere granuliert Stellen. Im Gram-Präparat dagegen fanden sich reichlich Häufchen von stark grampositiven, sehr kleinen Kokken in Reinkultur. Am Rande des Häufchens waren die Kokken in Ketten von 4—8 Gliedern angeordnet. Im übrigen wurden bei genauester Durchmusterung keinerlei Mikroorganismen gefunden.

Kulturen aus Eiter direkt: Die gewöhnlichen Oberflächen-aussaaten auf neutralem, Traubenzucker-, Glycerin-, Blutagar und Loeffler-Serum zeigen nach 24 Stunden keinerlei Wachstum. Nach 48 Stunden sind an der dicht bestrichenen Aussaatstelle vereinzelte, ganz kleine Kolonien ausgekeimt, die in der Folgezeit auch nicht merklich größer werden, auf Blutagar nicht die geringste Hämolyse verursachen. Ebenso verhielten sich die Verteilungsplattenkulturen, wo erst nach 48 Stunden oder noch später ganz kleine rundliche Kolonien meist in der Tiefe auftraten.

Ein anderes Bild zeigten dagegen die Verteilungskulturen im hochgefüllten Agarröhrchen. Im neutralen, Traubenzucker- und Glycerinagar-Verteilungsröhrchen war nach 24 Stunden reichliches, aber ausgesprochen anaërobes Wachstum vorhanden, indem jedes Röhrchen an der Oberfläche eine 5—17 mm breite, völlig koloniefreie Zone zeigte (vergl. die nebenstehende Skizze eines Glycerinagar-röhrchens). Diese keimfreie Zone blieb auch bei 4-wöchigem Aufenthalt des Röhrchens bei 37° erhalten. Die gewöhnliche Bouillon blieb steril, die vor der Impfung ausgekochte und nach derselben mit Paraffin überschichtete zeigte dagegen nach 48 Stunden Trübung und weißen krümeligen Bodensatz. In Gelatine trat bei Zimmertemperatur aërob und anaërob kein Wachstum auf.



Fig. 2.

Die Oberflächenkolonien nach 48 Stunden sind punktförmig, nach 72 Stunden etwas größer, rund, leicht erhaben, im auffallenden Lichte weißlich bis schwach bläulich, im durchfallenden bräunlich. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen sie rundlich, bisweilen rosettenförmig eingezogen, das Zentrum braun, der Rand heller. Die Tiefenkolonien sind platt rundlich, in den 3. Verdünnungen bis stecknadelkopf groß, im auffallenden Licht weißlich, im durchfallenden von bräunlichem Glanz. In allen Aussaaten fanden sich ausschließlich die beschriebenen Kolonien. Mikroskopisch (520:1) erweisen sie sich als kleine, runde, grampositive Kokken in Ketten von mittlerer Länge.

Tierversuche mit Eiter direkt (am 4. Tage nach der Entnahme desselben angestellt): Ein Meerschweinchen erhält intraperitoneal

2,5 ccm Aufschwemmung des Eiters, ein anderes 1 ccm Eiter subkutan; eine weiße Maus 0,5 ccm Eiter subkutan und ein Kaninchen 5 ccm einer Aufschwemmung des Eiters in die Ohrvene. Keines der Tiere zeigt danach bis zu 3 Monaten irgendwelche Krankheitssymptome.

#### Reinkulturen.

Die Reinkulturen waren denen aus Eiter angelegten ganz analog. Auch hier zeigte der *Streptococcus* eine ausgesprochene Vorliebe für anaërobes Wachstum, wie es sich am deutlichsten in den Röhrenverteilungskulturen erwies. Unter den sehr zahlreichen in der Zeit vom 20. Nov. 1906 bis 26. Febr. 1907 angelegten Schüttelröhren der verschiedensten Generationen war keines, das nicht die auch bei mikroskopischer Untersuchung völlig koloniefreie obere Zone gezeigt hätte; sie betrug etwa 15 mm bei neutralem und Glycerinagar, etwa 5 mm bei sauerem und Traubenzuckeragar. Unterhalb der keimfreien Zone war die Verteilung der Kolonien eine unregelmäßige, doch waren meistens oben zahlreichere und kleinere, ganz unten spärlichere und größere Kolonien. Die zum Vergleich angelegten Schüttelröhren anderer Streptokokkenstämme z. B. aus Blut, Mundhöhle, Axillarabsceß, Hühnermaul etc. zeigten diese koloniefreie Zone nicht, sondern Wachstum bis an die Oberfläche. — Die anaëroben Kolonien von *Strept. „K“* waren nach 24 Stunden bei 37° stets reichlich, wenn auch nur klein sichtbar. — In Bouillon und Milch bewies der Coccus ebenfalls seine Vorliebe für anaërobes Wachstum, indem im anaëroben Röhren stets früher und reichlicher Wachstum auftrat als im aëroben, ebenso wuchs er in Kartoffelbouillon (von Wrzosek für anaërobe Züchtung empfohlen) stets schnell und üppig. Der Agarstich zeigte meistens bandartiges Wachstum bis an die Oberfläche, aber ohne Belag auf der letzteren.

Bei oberflächlicher aërober Züchtung war nach 24 Stunden meistens gar kein Wachstum sichtbar, zuweilen waren ganz vereinzelte, sehr kleine Kolonien vorhanden, und zwar nur an der Stelle, wo die Kulturmasse in größerer Menge aufgetragen war; nach 48—72 Stunden keimten dann zwar noch einige Kolonien aus, doch waren es immer nur spärliche (mit einer nachher zu erwähnenden Ausnahme!). Ein ganz anderes Bild zeigten die 3 Tage in Wasserstoff bei 37° bebrüteten Oberflächenplatten, die reichlich saftige, große Kolonien trugen.

In Bezug auf Zusammensetzung des Nährbodens bevorzugte der *Strept. „K“* traubenzucker- und säurehaltige Nährböden vor neutralen oder serumhaltigen. Auf Blutagar, Serumagar oder Loeffler-Serum wuchsen wie bei den Eiteraussaaten erst nach 48—72 Stunden wenige, ganz kleine weißliche Kolonien, auf ersterem ohne eine Spur von Hämolyse. (Zur Verwendung kam Ziegenblut aus Vene und Menschenblut aus Ohrläppchen, gemischt mit auf 45° abgekühltem neutralen Agar.) Besser war dagegen das Wachstum auf sauerem Blutagar, wo schon nach 24 Stunden weißliche Kolonien ohne Hämolyse erschienen und sehr gut, auch bei Luftzutritt, auf Traubenzuckerserumagar: nach 24 Stunden reichlich saftige, weiße Kolonien von Stecknadelkopfgröße. Nach 48 Stunden sind sie noch etwas gewachsen und beginnen in ihrer Umgebung den Nährboden weißlich zu färben. Nach 72 Stunden ist der Nährboden völlig undurchsichtig weiß, so daß die Platten von unseren Diphtherie-Loeffler-Serumplatten kaum zu unterscheiden waren. Analog dem Traubenzucker war Milchzucker. Auch in Traubenzuckerserumbouillon ist aërob üppiges Wachstum; nach 24 Stunden ist das



ganze Röhrchen weißlich gefärbt, mit einem reichen weißlichen Bodensatz, in diesem mittellange Streptokokken. Dabei entwickelt sich ein säuerlicher Geruch, so daß die Weißfärbung des Nährbodens auf Gerinnung des Serums durch die Säurebildung des Coccus zu beruhen schien, wie dies schon Cobbet (16), allerdings in viel geringerem Maße, bei Diphtheriekulturen auf alkalisiertem Rinder- und Pferdeserum beobachtete. Um dies zu ergründen, stellten wir folgenden Versuch an: Zur Neutralisierung von 1 ccm 24-stündiger Traubenzucker-serumbouillonkultur von Strept. „K“ bedurfte es 0,5 ccm  $\frac{1}{10}$  Normal-Natronlauge, die ihrerseits durch 0,3 ccm 1-proz. Essigsäure neutralisiert wurden. Setzten wir nun 0,3 ccm 1-proz. Essigsäure zu 1 ccm steriler, völlig klarer Traubenzucker-serumbouillon hinzu, so trat gleich eine milchige Trübung und nach einiger Zeit eine dickere Ausfällung ein, so daß die Säure als die Ursache der Trübung festgestellt war.

Die starke Säurebildung des Strept. „K“ zeigt sich auch sonst. Milch wird unter anaëroben Wachstumsbedingungen in 48 Stunden zur völligen käsigen Gerinnung gebracht; Lackmusmolke, Barsiekow-Dextrose und -Laktose, Lackmusnutrose-Milchzuckeragar werden gerötet.

Näheres über das Wachstum des Strept. „K“ findet sich in der Tabelle. Bemerkte sei noch, daß die Kolonien meistens dem Nährboden fest anhafteten und sich besonders auf Milchagar, Traubenzucker-serum-agar und Loeffler-Serum nach Entfernung der Kolonien ein Defekt im Nährboden zeigte.

Das Temperatur optimum liegt bei 37°. Bei Zimmertemperatur und bei 22° konnte während 4-wöchiger Beobachtung nie Wachstum konstatiert werden.

Die Lebensdauer beträgt für Oberflächenkulturen etwa 14 Tage. Aus anaërober Bouillon und Kondenswasser im schrägen Agarröhrchen gelang Uebertragung noch nach 6 Wochen, vereinzelt sogar nach 8 Wochen, nicht mehr dagegen nach 12 Wochen. Ob sich die Kulturen besser bei 37° oder bei Zimmertemperatur hielten, konnte nicht festgestellt werden.

Morphologie: Bei der Betrachtung (500:1) im hängenden Tropfen erweist sich der Coccus als ein typischer Kettencoccus. Er hat keine Eigenbewegung, nur mäßige Molekularbewegung. Geißeln konnten nach der Zettnow-Färbung nicht nachgewiesen werden, ebensowenig Kapseln nach der von Hamm (4) modifizierten Weidenreichschen Methode. Der Coccus selbst erscheint etwas kleiner als der Strept. pyogenes, auf den meisten Nährböden von schöner runder Form, manchmal etwas abgeplattet, bisweilen in der Längs-, bisweilen in der Querrichtung. Nur auf Traubenzucker-serum-agar zeigte er daneben häufig größere zu ovoiden Stäbchen ausgewachsene Formen, die aber ebenfalls in Ketten angeordnet sind, ähnlich wie beim Strept. „Sch“.

Die Länge der Ketten ist verschieden: Oberflächenkulturen von festen Nährböden zeigten im Ausstrich 5—8, Tiefenkolonien meist nur 2—5 Glieder; im hängenden Tropfen von sauerem Agarkondenswasser, in saurerer, neutraler und Traubenzuckerbouillon fanden sich Ketten von 20—25 Gliedern — die längsten Ketten von etwa 40 Gliedern waren in Milch und Bouillon mit Kartoffelstücken. Wie schon im Eiter, färbten sich die Kokken auch in Reinkultur gut nach Gram, welche Färbung daher fast immer angewandt wurde. Methylenblau, Karbolfuchsin, Genvianviolett gaben nur schlechte, undeutliche Bilder.

Tierversuche: Es ist kaum zu bezweifeln, daß es sich bei diesem als Reinkultur in einem Hirnabsceß gefundenen Coccus um einen für

den Menschen pathogenen Erreger handelte. Um so mehr ist es zu verwundern, daß keiner der mit Eiter und Reinkultur angestellten 16 Tierversuche zu einem direkt positiven Resultate führte.

1) Subkutan: Meerschweinchen, weiße und graue Maus reagieren auf subkutane Einspritzung von Oberflächen- und anaëroben Bouillonkulturen nicht, auch nicht nach vorheriger Quetschung des Gewebes.

2) Intravenös: Kaninchen in Ohrvene 2 Oesen Oberflächenkultur ohne Erfolg.

3) Intracardial: Meerschweinchen erhält durch Herzstich nach Morgenroth die Abschwemmung einer ganzen Traubenzuckerserum-Agarplatte und bleibt dauernd gesund.

4) Intraperitoneal: a) Meerschweinchen, weiße und graue Maus erhalten intraperitoneale Oberflächen- und Bouillonkulturen. Meerschweinchen stirbt nach 4 Tagen an einer zur Zeit unter den Institutstieren herrschenden Pneumonie; der Strept. „K“ ist nirgends nachzuweisen. Das gleichzeitig mit 5 ccm Bodensatz von anaëroben Bouillonkulturen gespritzte Tier bleibt gesund. b) Eine andere intraperitoneale Impfung wurde in der Weise vorgenommen, daß die ganze Agarmasse einer Verteilungskultur aus dem Röhrchen in eine Spritze gebracht und hiervon einem Meerschweinchen 3,5 ccm, einer weißen Maus 0,5 ccm intraperitoneal eingespritzt wurde. Das Meerschweinchen blieb gesund, die Maus zeigte sich dauernd krank und wurde nach 10 Tagen morgens tot aufgefunden. Bei der Sektion zeigte sich ein kleiner Absceß an der Einspritzungsstelle; hier fanden sich unter der Haut noch Reste des Agars abgekapselt. In der Bauchhöhle fibrinöse Peritonitis und 2 eingekapselte, etwa erbsengroße Agarstückchen, in denen sich der Strept. „K“ in riesiger Menge fand. Die übrigen Organe zeigten keine Veränderung stärkeren Grades, auch war in ihnen der Coccus weder mikroskopisch noch kulturell nachzuweisen. Der Tod der Maus scheint also doch weniger durch Strept. „K“ als durch den als Fremdkörper wirkenden Agar hervorgerufen zu sein.

Die Unterschiede von Strept. pyogenes sind folgende: Auf Blutagar wächst Strept. „K“ schlecht und ohne eine Spur von Hämolyse oder sonstiger Veränderung des Nährbodens, er bevorzugt säurehaltige Nährböden vor serumhaltigen, wächst aber, abgesehen von Traubenzuckerserumagar oder -bouillon, überhaupt bei Luftzutritt nur spärlich und sehr langsam, er gedeiht vorzüglich in Wasserstoffatmosphäre.

Im hochgefüllten Agarröhrchen zeigt sich stets unter der Oberfläche eine koloniefreie Zone, während Strept. pyogenes immer bis oben durchwächst.

Bei 22° findet aërob und anaërob nie Wachstum statt.

Strept. „K“ ist für weiße und graue Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen nicht pathogen.

#### Zusammenfassung.

Es ist allgemein bekannt, daß die Streptokokken zu den fakultativen Anaërobiern gehören, auch daß ihr Sauerstoffbedürfnis ein recht differentes ist. Obligat anaërobe Streptokokken finden sich in der Literatur nicht besonders zahlreich; als solche, die differentialdiagnostisch gegenüber „Sch“ und „K“ überhaupt in Betracht kommen könnten, seien erwähnt: ein von Sternberg (12) aus Lungenaktinomykose, ein von Silberschmidt (11) aus Gasphlegmone und ein von Menge und Krönig (8) aus Scheidensekret isolierter obligat anaërober Streptococcus. Nach den von den Verff. bekannt gegebenen Wachstumseigentümlichkeiten — z. B. bei Sternberg (12) „Körnchenwachstum“ auf Kartoffeln — ist es indes wenig wahrscheinlich, daß sie mit einem unserer Stämme identisch sind. Auch die von Kruse (5), Grotenfeld (2), Günther (3), P. Th. Müller (9) gemachten Angaben über Milchstreptokokken haben wir — vor allem mit Rücksicht auf die geringe Tierpathogenität und die starke Säurebildung unserer Stämme —

in den Kreis unserer Betrachtungen gezogen; jedoch können wir auch diese Arten (*Strept. lacticus*, *S. acidi lactici* u. s. w.) nicht mit unseren beiden Stämmen als identisch ansehen.

Wenn nun auch unseren beiden Stämmen das anaërobe Wachstum gemeinsam ist, so lassen sie sich doch, wie aus dem Mitgeteilten sowie aus der Tabelle ersichtlich ist, bei der Züchtung leicht voneinander unterscheiden. Bei Sauerstoffzutritt wächst „Sch“ nur auf gleichzeitig Serum und Zucker enthaltenden Nährböden, „K“ dagegen, wenn auch verzögert und kümmerlich, auch bei Aussaaten auf mit gewöhnlichem Agar beschickten Platten. Letzterer bevorzugt vor allem Traubenzuckeragar und saure Reaktion des Nährbodens, die schon Turró (13) für die Züchtung der Streptokokken empfohlen hat; „Sch“ gedeiht nicht bei saurerer Reaktion des Nährbodens. Ein weiterer Unterschied ist die Verflüssigung der Gelatine durch „Sch“. Wurden beide Stämme nebeneinander auf einem ihnen besonders zusagenden Nährboden gezüchtet, so gelang es durch die Elektivzüchtungen stets, dieselben auseinanderzuhalten.

Trotzdem möchten wir es, da die Unterschiede nur geringfügige und zum Teil sogar nur quantitative waren, dahingestellt sein lassen, ob „Sch“ und „K“ verschiedenen Arten von Streptokokken zugehören, oder ob es sich bei ihnen nur um Varietäten der gleichen Art handelt. Dagegen sind der Wachstumsunterschiede zwischen unseren beiden Stämmen „Sch“ und „K“ einerseits und dem *Strept. pyogenes* andererseits doch so zahlreiche und zudem so ausgesprochene, daß man berechtigt ist, sie zunächst als artverschieden von jenem zu betrachten.

Aus unserer Arbeit ergibt sich also, daß pathogene Streptokokken vorkommen, die sich durch das übliche Ausstreichen des Materials auf mit gewöhnlichem Nähragar oder Glycerinagar beschickten Platten nicht oder doch nur schwer züchten lassen. Für diese empfiehlt es sich, serumhaltige Nährböden und sauren Agar anzuwenden bzw. die Züchtung unter anaëroben Bedingungen zu versuchen. — Als ein für Streptokokken sehr geeigneter Nährboden erwies sich Traubenzucker serumagar.

Der Pathogenität von Streptokokken für den Menschen scheint nicht immer Tierpathogenität zu entsprechen.

Unserem hochverehrten Chef, Herrn Geheimrat B. Fischer, sprechen wir für die vielerlei Förderung dieser Arbeit unseren ergebensten Dank aus.

#### Literatur.

- 1) Babes, Beobachtungen über die metachromatischen Körperchen, Sporenbildung, Verzweigung, Kolben- und Kapselbildung pathogener Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XX. 1895. p. 412.)
- 2) Grotenfeld, Studien über die Zersetzungen der Milch. (Fortschr. d. Med. Bd. VII. p. 122 ff.)
- 3) Günther u. Thierfelder, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über die spontane Milchgerinnung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXV. p. 164.)
- 4) Hamm, Beobachtungen über Bakterienkapseln auf Grund der Weidenreichschen Fixationsmethode. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. p. 287.)
- 5) Kruse, Das Verhältnis von Milchsäurebakterien zum *Streptococcus lanceolatus* (*Pneumococcus*, *Enterococcus* u. s. w.). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 737.)
- 6) Kurth, Ueber die Unterscheidung der Streptokokken und über das Vorkommen derselben, insbesondere des *Streptococcus conglomeratus* bei Scharlach. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. VII. 1891. Ref. Baumgartens Jahresber.)
- 7) v. Lingelsheim, Streptokokken. (Handbuch der pathog. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann.)

- 8) Menge u. Krönig, Ueber verschiedene Streptokokkenarten. (Monatsschr. f. Geburtshilfe u. Gynäk. Bd. IX. 1899. Ref. Baumgartens Jahresber.)
- 9) Müller, Paul Th., Ueber die Streptokokken der Milch. (Arch. f. Hygiene. Bd. LVI. p. 90.)
- 10) Müller, Reiner, Zur Aetiologie der Geflügeldiphtherie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 621.)
- 11) Silberschmidt, Bakteriologisches über einige Fälle von „Gangrène foudroyante“, von Phlegmone und von Tetanus beim Menschen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLI. 1902. p. 446.)
- 12) Sternberg, Ein anaërober Streptococcus. (Wien. klin. Wochenschr. 1900. p. 551. Ref. Baumgartens Jahresber.)
- 13) Turró, Ueber Streptokokkenzüchtung auf saueren Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. p. 865.)
- 14) Vincent, Sur les variations morphologiques de streptocoque ramifié. (Arch. de méd. expér. T. XIV. 1902. No. 5. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. p. 399.)
- 15) Wrzosek, Beobachtungen über die Bedingungen des Wachstums der obligatorischen Anaëroben in aërober Weise. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 17.)
- 16) Cobbet, Alkalinisiertes Rinder- und Pferdeserum als Hilfsmittel bei der Diphtherie-diagnose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. p. 395.)

*Nachdruck verboten.*

## Contributions à l'étude du gonocoque.

Par le Dr. med. **Th. Vannod** à Berne.

Mit 17 Kurven und 8 Figuren.

(Schluß.)

Il se sert d'un mélange composé d' $\frac{1}{4}$  de bouillon et de  $\frac{3}{4}$  de liquide d'ascite, neutralisé avec de l'acide lactique.

Dans ce milieu, le développement est d'abord très rapide et abondant si l'on a pris soin d'ensemencer avec une culture jeune de 2—3 jours. Après 12 heures, le liquide est déjà finement troublé dans toute son étendue. La croissance, pendant les premiers jours, se fait à la surface, qui se couvre d'un léger voile crémeux. Peu à peu le liquide s'éclaircit et le développement se fait ensuite au fond du ballon où il se forme une couche uniforme, grisâtre, épaisse et visqueuse, adhérant fortement au verre et qui envoie des prolongements légers flottants dans le liquide.

La forte croissance se ralentit après 4 à 5 jours, mais les gonocoques continuent à se multiplier au fond des tubes, en formant de grandes colonies adhérentes, tandis que le liquide s'éclaircit entièrement. Avant de procéder à l'injection du liquide de culture, celui-ci était débarrassé des gonocoques par filtration sur du talc; la filtration sur porcelaine ne donnerait pas de bons résultats; elle est longue et la bougie retient une forte proportion de la toxine.

La production de toxine, faible après 24 heures, s'accroît rapidement pour atteindre le maximum vers le 20<sup>e</sup> jour et ne semble pas diminuer tant que la culture reste en vie.

De Christmas s'est servi, pour ses expériences, de cobayes, car pour lui, ce sont les animaux qui réagissent le plus sûrement et le plus violemment à la gonotoxine. Les injections étaient faites toujours intracérébralement.

La dose mortelle minimale, pour des cobayes de 250—300 g., était de  $\frac{1}{250}$ — $\frac{1}{500}$  c. c. du liquide de culture, dilué jusqu'à 0,05 c. c. avec

la solution physiologique et injecté dans la masse cérébrale de l'animal à 2—3 mm. de profondeur. Les contrôles ont montré que 0,25 c. c. de sérum normal injectés de la même façon dans le cerveau d'un cobaye ne produit aucune réaction. Après l'injection de la toxine, l'animal devient malade au bout de 5 à 6 heures, présente des convulsions et des phénomènes de paralysie et meurt dans l'espace de 12—24 heures.

Pour la production de l'antitoxine, de Christmas s'est servi de chèvres auxquelles il injectait à doses progressives, de la toxine par voie sous-cutanée.

Il a constaté qu'en mélangeant le sérum de la chèvre immunisée et la toxine gonococcique, celle-ci était complètement neutralisée et qu'en injectant, par exemple, 0,5 c. c. de sérum, on pouvait parfaitement inoculer à l'animal 5000 fois la dose mortelle, soit 10 c. c. de toxine, sans l'incommoder. Il a aussi observé que l'on pouvait injecter dans un des hémisphères cérébraux de l'animal le sérum et, simultanément ou quelques heures après, 2 fois la dose mortelle de la toxine dans l'autre hémisphère sans que l'animal succombât, à condition de prendre une forte dose de sérum. Par exemple, 0,05 c. c. de sérum injecté dans un des hémisphères cérébraux protège de la mort l'animal qui a reçu dans l'autre lobe cérébral 2 fois la dose mortelle (0,004 c. c.). On obtient les mêmes résultats par l'injection intraveineuse du sérum; dans ce cas, il faut 1 c. c. de sérum injecté quelques heures avant 0,01 c. c. de toxine pour neutraliser l'effet de cette dernière. De Christmas n'a jamais réussi à sauver l'animal, même avec de fortes doses de sérum, lorsque les symptômes morbides avaient débuté. L'immunité des animaux, après les injections de sérum, est excessivement courte, tout au plus 48 heures.

Chez les cobayes, il est excessivement difficile d'obtenir une immunité active par les injections intracérébrales de toxine.

En 1902, Wildbolz (71) fait une série d'injections de cultures gonococciques à des cobayes. Il s'est servi pour cela de bouillons avec sérum et de bouillons ordinaires sans sérum. Il constate que la toxicité des cultures gonococciques sur bouillon sans sérum est moins forte qu'avec les cultures sur bouillon-sérum. Alors que pour ces dernières, 10 c. c. d'une culture de 10 jours, injectés intrapéritonéalement, tue un cobaye de 300—400 g., dans les 24 heures, la même dose d'une culture sur bouillon sans sérum ne produit qu'une maladie légère de l'animal, sans diminution de poids.

Avec des cultures plus âgées, de 35 jours, par exemple, qui sont plus toxiques, 5 c. c. suffisent pour amener la mort de l'animal.

Il a retrouvé, dans les autopsies des animaux morts à la suite des injections intrapéritonéales de cultures, dans l'exsudat contenu dans la cavité abdominale, des flocons fibrineux contenant des leucocytes et des gonocoques intra- et extracellulaires; dans 5 cas, il a obtenu avec le sang contenu dans le cœur de l'animal autopsié des cultures pures de gonocoques.

Il a constaté aussi que l'on ne pouvait pas augmenter la toxicité des gonocoques par les passages.

Les auteurs croyaient, en général, que s'il survenait une augmentation des gonocoques dans le corps de l'animal, celle-ci provenait du fait que le microorganisme continuait à se développer dans les milieux nutritifs injectés en même temps à l'animal et que le corps de ce dernier jouait simplement le rôle d'étuve.

Wildbolz veut prouver que ce n'est pas toujours le cas et que bien souvent les gonocoques peuvent se développer et s'accroître dans le corps de l'animal, témoin l'injection faite avec 5 c. c. d'une culture (sérum-bouillon) âgée de 35 jours, qui ne contenait que quelques gonocoques isolés présentant des caractères très caractérisés de dégénérescence qui, inoculée intrapéritonéalement à un cobaye, tue l'animal après 36 heures; l'autopsie montre dans la cavité péritonéale la présence d'environ 8 c. c. d'un exsudat trouble contenant un grand nombre de leucocytes complètement remplis de gonocoques; la réinoculation de l'exsudat sur sérum-agar donne des cultures pures de gonocoques. Il veut prouver de la sorte que le gonocoque n'est pas seulement toxique pour les cobayes, mais est aussi infectieux dans certaines circonstances, encore peu connues. Nous regrettons que Wildbolz n'ait pas répété plusieurs fois cette expérience, car on ne peut se baser sur un seul cas pour affirmer, comme il le fait, la présence d'une véritable infection dans le corps du cobaye; en outre, l'augmentation de l'exsudat (de 5 c. c. à 8 c. c.), même avec une recrudescence du nombre des gonocoques, est trop minime pour qu'on puisse considérer l'expérience comme concluante. Nous sommes plutôt enclins à envisager cette exagération du nombre des gonocoques comme une croissance favorisée par la température du corps de l'animal.

Nous avons procédé aussi à une série d'essais d'immunisation d'animaux avec des cultures gonococciques. Nous nous sommes d'abord servi de cobayes et leur avons injecté différentes doses de cultures gonococciques âgées de 2 jours, en utilisant comme terrain de culture un mélange de 1 partie de liquide d'ascite pour 3 parties de bouillon peptonisé de viande de bœuf.

Nous avons rapidement renoncé à ce mode d'expérience, car les cobayes réagissaient très peu à des doses relativement élevées de cultures gonococciques: 4 g., 5 g. de la culture injectée par voie sous-cutanée n'occasionnait à l'animal presque aucune réaction, comme le tableau I le montre<sup>1)</sup> clairement. Nous avons ensuite essayé d'inoculer à des lapins, par voies sous-cutanée ou intraveineuse, des doses relativement élevées de cultures gonococciques sur bouillon-ascite, comme celles que nous avons employées chez les cobayes. Nous avons inoculé par voies sous-cutanée et intraveineuse 2, 3, 4 et 5 g. de cultures gonococciques âgées de 2 jours et nous n'avons observé que des réactions tout à fait minimes de l'animal. La fièvre était presque nulle et la diminution de poids des lapins, après l'inoculation, était inappréciable.

C'est alors que nous avons commencé à employer la méthode préconisée par de Christmas et qui lui avait donné de si beaux résultats. Nous n'avons pas voulu pratiquer les injections par voie intracérébrale; quoique de Christmas affirme que ses contrôles inoculés intracérébrale-

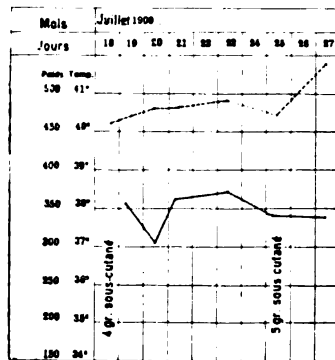


Tableau I.

1) Les lignes en pointillés dans les tableaux correspondent à la marche des variations du poids de l'animal et les lignes pleines correspondent aux différences de température.

ment avec du bouillon-ascite n'aient nullement souffert de ce procédé, nous avons voulu éviter à nos animaux un traumatisme trop intense; il n'y a pas de doute qu'une trépanation et la piqure des hémisphères avec l'aiguille de la seringue sont un traumatisme évident pour tout animal.

Comme de Christmas lui-même l'a observé, les cobayes se prêtent difficilement aux essais d'immunisation, c'est pour cela que nous avons choisi, pour nos expériences, des lapins, auxquels nous avons injecté par voies intrapéritonéale et intraveineuse des cultures gonococciques ayant crû sur le mélange d'ascite et de bouillon de veau non peptonisé, en employant des doses progressives de cultures, d'âges variés. Les milieux étaient préparés selon le procédé indiqué par de Christmas; les cultures ont été filtrées à travers le talc, à travers des filtres de porcelaine (filtres Silberschmidt); d'autres enfin ont été injectées telles quelles, sans avoir été filtrées. Nous voulions ainsi, en injectant à l'animal de la toxine gonococcique, produire une antitoxine, capable de neutraliser l'effet du produit toxique sécrété par le gonocoque lui-même. Empressons-nous d'ajouter que nous n'avons pas réussi. Nous avons dressé une série de tableaux montrant la marche de nos expériences avec les cultures sur milieu Christmas<sup>1</sup>).

Le tableau No. II montre une série d'essais comparatifs d'injections sur le milieu Christmas. Nous voyons que des 3 modes d'injection,

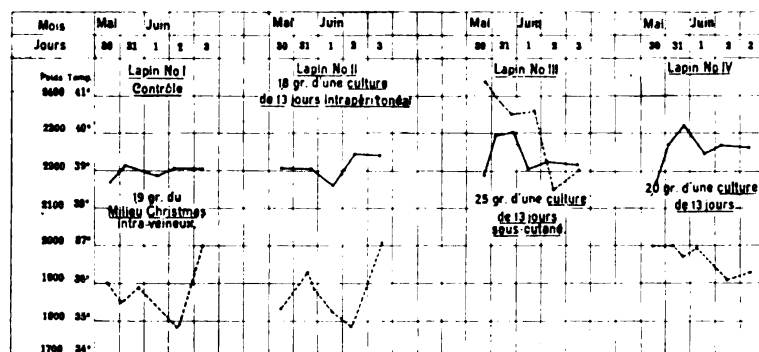


Tableau II.

c'est par la voie souscutanée et par la voie intraveineuse que les animaux réagissent le mieux. Nous n'avons pas employé la méthode des injections souscutanées simplement pour éviter les nécroses et les abcès locaux qui en sont très souvent la conséquence. L'injection intraveineuse de 1,9 g. du milieu liquide stérile n'a occasionné aucun effet morbide (contrôle).

Dans les tableaux No. III—IX, nous voyons les effets des injections intrapéritonéales de cultures âgées de 5, 10, 15 et 20 jours, et avec des doses variées. Alors que des doses de 1 et 2 g. par kilogramme de l'animal, avec des cultures de 5, 11 et 17 jours, produisent peu de réaction, nous constatons que 3 g. par kilogramme produisent des élévations de température assez caractéristiques, mais les animaux supportent très différemment les injections qu'on leur a pratiquées. Ainsi, nous voyons dans le tableau No. VI un animal qui a maigri de 1 kg. à la suite des injec-

1) Nous ne pouvons donner la série complète de nos tableaux, la place nous faisant défaut.

tions, alors que l'animal correspondant au tableau No. VII a augmenté de 100 g., les doses ayant été les mêmes. Ce fait peut paraître extraordinaire, mais nous avons observé des résultats identiques dans plusieurs séries d'injections. Nos animaux étaient injectés avec des

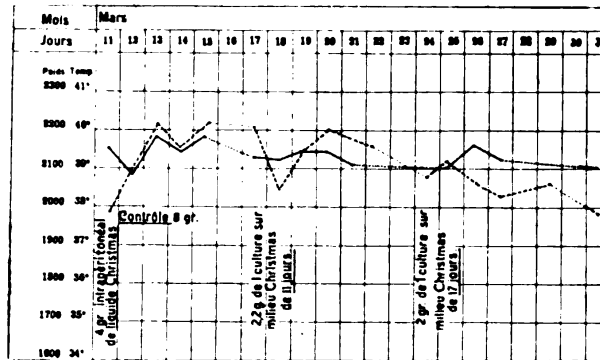


Tableau III.

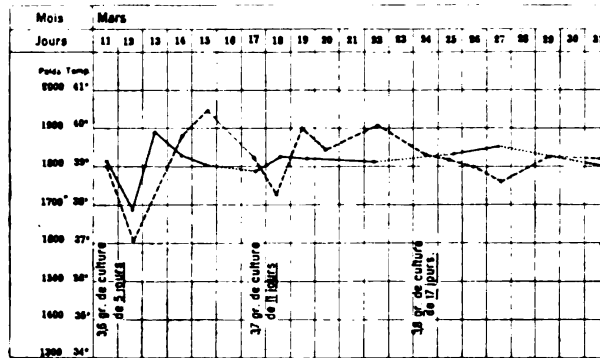


Tableau IV.

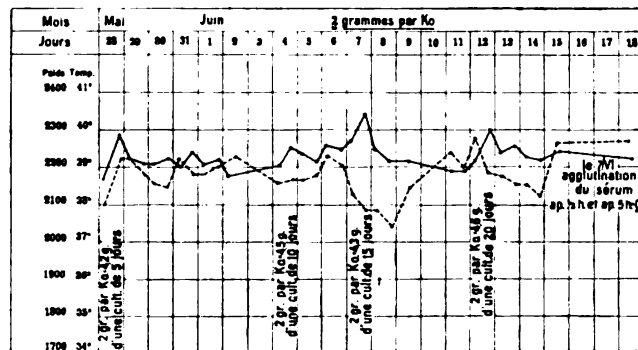


Tableau V.

doses égales provenant de différents tubes remplis par la même quantité du milieu nutritif et inoculés en même temps avec la même culture; la production de la toxine, si vraiment l'on peut parler de toxine, était absolument inégale.

Avec 5 g. et 6 g. par kilogramme, nous avons des réactions très fortes, témoin les tableaux No. VIII et IX. Dans les deux cas, les animaux ont succombé aux injections intrapéritonéales de 5 g. et de 6 g.



avec des cultures de 17 jours, alors qu'ils avaient assez bien supporté les doses de 5 et de 6 g. de cultures de 5 et de 11 jours, ce qui semblerait confirmer les données de Christmas que la toxine gonococcique est secrétée au maximum vers le 20<sup>e</sup> jour de culture.

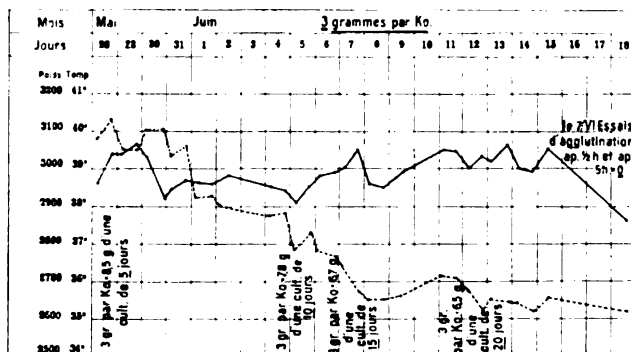


Tableau VI.

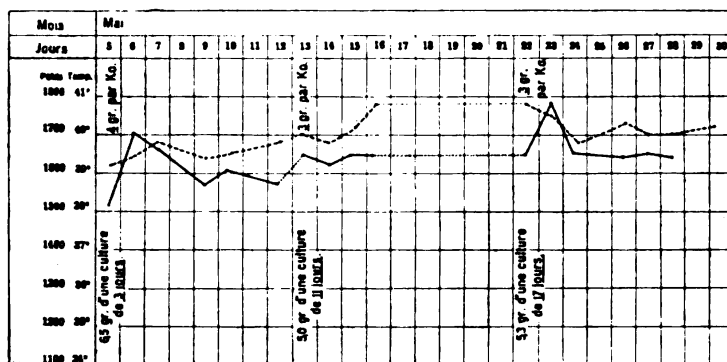


Tableau VII.

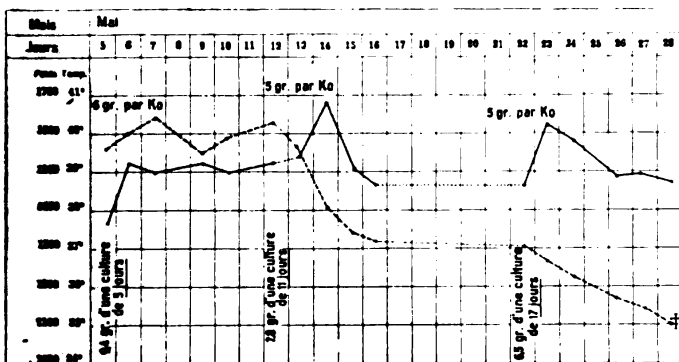


Tableau VIII.

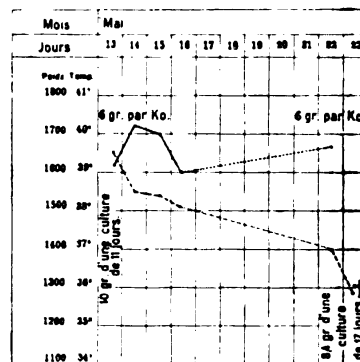


Tableau IX.

L'autopsie des animaux a donné les résultats suivants: poumons et cœur normaux. Capsules surrénales hyperhémisées et agrandies. Epanchement purulent dans la cavité abdominale; péritoine engorgé et chargé de dépôts purulents. Les cultures et les préparations sur verrelets de l'épanchement abdominal, ainsi que du sang contenu dans le cœur, n'ont pas décelé la présence de gonocoques.

Les injections intraveineuses du milieu de Christmas ont été pratiquées avec des cultures filtrées et non filtrées. Si nous comparons les tableaux No. X et XI, nous ne voyons pas de grandes différences; or le lapin qui correspond au tableau No. X a reçu des cultures filtrés à

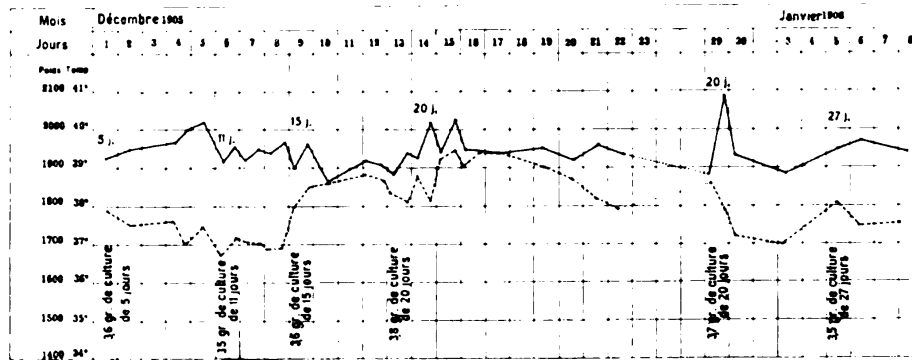


Tableau X.

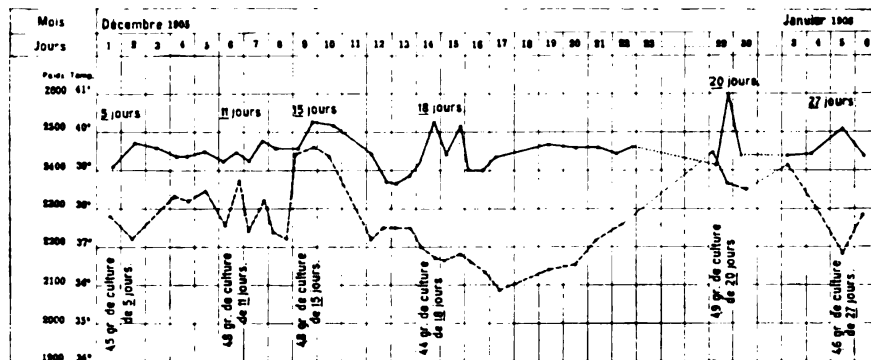


Tableau XI.

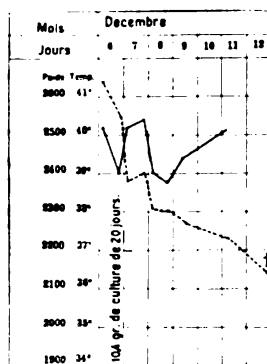


Tableau XII.

travers une bougie de porcelaine (system Silberschmidt), et l'autre lapin (tableau No. XI) a reçu des cultures non filtrées. Si la théorie de de Christmas est juste, c'est à dire si la toxine n'est pas contenue dans le corps même du gonocoque, mais est sécrétée dans le liquide de culture, nous devrions avoir des réactions beaucoup plus intenses avec l'animal du tableau No. X; or, au contraire, nous trouvons au tableau No. XI un lapin qui a beaucoup plus souffert que le premier, chez lequel les injections de cultures non filtrées ont occasionné un amaigrissement beaucoup plus évident que pour le lapin traité avec les cultures filtrées. Les réactions de température sont à peu près les mêmes

chez les deux animaux; ceux-ci ont reçu 2 g. par kilogramme des cultures de 5 jours, puis de 11 jours, de 15 jours, de 20 jours et de 27 jours. C'est après l'injection de la culture âgée de 20 jours que la réaction a été la plus intense, celle de 27 jours l'était beaucoup moins. L'injection de 4 g. par kilogramme d'une culture de 20 jours (tableau No. XII) a amené la mort de l'animal au bout de 6 jours avec des élévations de température et une diminution de poids de 500 g. L'autopsie de l'animal

dénote la présence d'une forte intoxication (engorgement du système lymphatique, reins agrandis et hyperhémisés, de même que les capsules surrénales etc.). La plèvre et le péritoine étaient normaux. Comme dans les autopsies des autres animaux morts à la suite des injections intrapéritonéales et contrairement aux constatations de Scholtz et de Wildbolz, nous n'avons pas retrouvé le gonocoque ni dans le liquide contenu dans la cavité abdominale ni dans le sang contenu dans le cœur.

La toxine produite par les cultures sur milieu Christmas peut être un poison violent pour le cobaye, injecté par voie intracérébrale, mais nous ne pouvons en dire de même pour nos lapins. Peut-on parler vraiment d'une toxine virulente quand les animaux ne réagissent qu'à une dose de 3 g. du toxique par kilog. de l'animal? Nos résultats ne confirment pas les données de de Christmas quoique nous ayons suivi une voie un peu différente. Nous avons été étonné de voir combien les animaux réagissaient différemment aux injections; la production de la toxine était tellement inégale, tellement peu sûre que nous avons dû renoncer à cette méthode d'immunisation. Un point capital, aussi, qui nous a obligé à rechercher une autre voie d'immunisation chez nos lapins est le fait que nous n'avons jamais pu obtenir un pouvoir agglutinant avec le sérum des animaux traités. Ceci est un fait important qui a une grande valeur pour estimer la qualité du sérum des animaux expérimentés. A notre avis, la méthode de de Christmas demande encore à être étudiée de près avant qu'on puisse la ranger parmi les méthodes utilisables dans la pratique.

Les expériences de de Christmas elles-mêmes ne prouvent pas qu'il ait travaillé avec une vraie gonotoxine; comme il le fait remarquer, ce que nous avons constaté aussi nous-même, c'est que cette dernière est sécrétée au plus haut degré vers le 20<sup>e</sup> jour de la culture. Or, on sait que dans les cultures qui ont un certain âge, il se forme des substances hétérogènes, de nature alcaloïde, qui peuvent produire des réactions que l'on peut confondre, si l'on n'est pas averti, avec l'effet de vraies toxines.

Les injections intraveineuses de cultures vivantes gonococciques ne nous ont pas donné de meilleurs résultats. On préparait des émulsions de gonocoques en ajoutant aux cultures sur ascite-*agr*, âgées de 2 jours, du bouillon ou de la solution physiologique. Les colonies gonococciques étaient détachées du milieu nutritif avec l'anse de platine et les coques de Neisser se trouvaient ainsi en suspension dans le liquide employé. On injecta aux lapins, par voie intraveineuse: 2, 3, 4 et 5 g. d'émulsion; nous n'avons observé que de très faibles réactions chez nos animaux, tellement insignifiantes, même avec 4 et 5 g. que nous avons dû rapidement renoncer à ce mode de procéder.

C'est alors que nous avons essayé une autre voie d'immunisation et que nous avons préparé de la nucléoprotéide gonococcique. On sait par les travaux de Cramer, de Nencki, sur le charbon (sang de rate), de Brieger, avec le pneumocoque, de Hammerschlag et de von Weizl (72) avec la tuberculose, que ce sont les substances protéiques qui prédominent dans le corps des bactéries. En 1896 Gino Galeotti (73) démontrait que le corps le plus fortement immunisant parmi les substances immunisantes des cultures de choléra était un corps riche en phosphore qui, par le fait de ses propriétés chimiques, se rangeait dans la classe de la nucléoprotéide. D'après Galeotti, celle-ci se compose de 3 éléments: l'albumine, l'acide phosphorique et les bases

xanthiques (Xanthinbasen). La combinaison des bases xanthiques et de l'acide phosphorique forme un acide phosphorique organique appelé aussi acide nucléinique. D'après Bendix (74), ce sont les pentoses qui sont l'élément caractéristique de la nucléoprotéide. Celle-ci ne se dissout pas dans l'eau, ni dans l'alcool ou l'éther, mais est légèrement soluble avec les alcalins, et contient beaucoup de phosphore.

L'action immunisante de la nucléoprotéide a été démontrée par Galeotti et Lustig (75), pour la peste, Galeotti (76), Tiberti (77) pour le sang de rate (Milzbrand), par Tavel, Krumbein et Glücksmann (78) pour la peste, par Schmitz (79) pour les vibrions de choléra et tout récemment, au printemps 1906, par Blell (80) pour le choléra aussi. Ce dernier réussit à immuniser des lapins avec de la nucléoprotéide de choléra complètement dissoute et séparée par filtration sur bougies de porcelaine de toutes traces de corps bactériens. Il obtint un sérum ayant un pouvoir agglutinant très élevé (jusqu'à 1:5000) et une action bactéricide très prononcée.

Pour la préparation de la nucléoprotéide gonococcique, nous avons procédé de la façon suivante: Dans de grands flacons Petruschky, de la contenance de 800—900 g., nous avons préparé nos milieux nutritifs (milieu de Lipschütz ou ascite-agar); une fois les terrains de culture terminés, nous avons inoculé nos flacons avec une culture sur milieu Christmas âgée de 2 jours. Les flacons sont mis à l'étuve pendant 4 à 5 jours jusqu'à ce qu'on ait une forte croissance de gonocoques, répandue sur toute la surface du milieu nutritif. Celui-ci est alors couvert d'une quantité de colonies gonococciques, présentant souvent aussi une couche uniforme grisâtre correspondant aux colonies qui se sont réunies. On verse alors dans chaque bouteille, en la secouant, une solution de potasse caustique à 1 % qu'on laisse agir sur la culture pendant 2 à 3 heures jusqu'à ce que celle-ci soit dissoute dans la potasse caustique. Le liquide est alors versé dans un bocal stérile et forme une masse gris-jaunâtre opalescente. On ajoute alors, tout en remuant le liquide avec un bâton de verre stérile, de l'acide acétique à 1 % qui précipite la nucléoprotéide et forme, au bout de quelques heures, une masse homogène reposant au fond du bocal. L'acide acétique qui surnage est alors décanté et remplacé à 2 ou 3 reprises par de l'eau stérilisée jusqu'à ce que le liquide ne présente plus qu'une légère réaction acide. Le précipité qui forme le dépôt au fond du vase est alors filtré à travers un filtre stérilisé et lavé à la solution physiologique jusqu'à ce que le liquide de filtration présente une réaction absolument neutre au papier tourne-sol. On recueille la nucléoprotéide, qui est restée attachée au papier à filtrer, dans une boîte Pétri et on la dessèche dans une cloche réunie à l'appareil pour faire le vide. Au bout de 24 heures, on obtient une poudre blanc-grisâtre qui est pulvérisée dans un mortier et qui est conservée à l'abri de la lumière. La nucléoprotéide, ainsi préparée, est dissoute dans une solution de carbonate de soude à 1 % et peut être injectée aux animaux.

L'avantage de ce procédé est qu'on peut peser très exactement la dose de nucléoprotéide que l'on veut employer; la poudre de nucléoprotéide, une fois dosée, est mélangée, en la broyant dans un mortier, avec la solution de carbonate de soude et se présente sous l'aspect d'un liquide blanc-laiteux.

Comme contrôle, nous avons examiné tout d'abord l'effet d'une injection intraveineuse de la solution de carbonate de soude; nous avons

injecté alors 1 g. du liquide à un lapin qui n'en a ressenti aucun malaise ni élévation de température, ni diminution de poids.

Pour déterminer l'effet toxique de notre nucléoprotéide, nous avons injecté par voie intraveineuse à des lapins 3 doses différentes: à un premier lapin: 0,001 g., à un deuxième: 0,009 g., à un troisième: 0,09 g.

Le tableau No. XIII nous montre l'effet de ces inoculations; comme on le voit, les réactions ont été très intenses, même avec 0,001 g. Le lapin No. III, injecté avec 0,09 g. du toxique, a présenté 2 minutes après l'injection une paralysie complète des membres antérieurs et

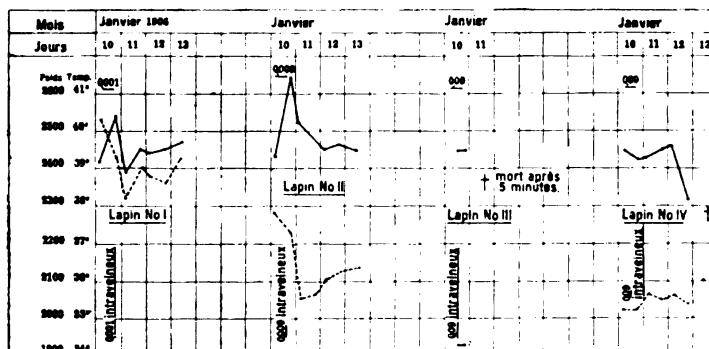


Tableau XIII.

postérieurs, puis des convulsions très violentes de tout le corps, une dilatation énorme de la pupille et meurt après 5 minutes. L'autopsie, pratiquée quelques heures après, a donné les résultats suivants: intestins et estomac distendus par des gaz; pas d'injection du péritoine; organes abdominaux sans cela normaux. Hyperhémie du poumon; cœur encore rempli de sang coagulé. Comme l'on pouvait supposer qu'une mort aussi foudroyante avait pu être occasionnée par d'autres causes, à nous inconnues, nous avons répété la même expérience sur un autre lapin; celui-ci reçoit aussi 0,09 g. de nucléoprotéide par voie intraveineuse; 2 minutes après l'injection, l'on observe de nouveau les mêmes phénomènes: parésie des membres antérieurs et postérieurs, dilatation énorme de la pupille, mais l'animal se remet un peu et ne meurt qu'au bout de 48 heures. Si l'on compare la marche de la température et du poids de ce lapin avec celles des lapins I et II, on remarque que ces derniers ont des élévations de température très fortes et des diminutions de poids très notables, tandis que le lapin inoculé avec la plus forte dose n'a presque pas de réaction, ni de la température, ni du poids du corps. L'autopsie a donné les mêmes résultats qu'avec le lapin No. III. Nous n'admettons nullement que cette mort si rapide chez le lapin No. III, moins foudroyante pour le lapin No. IV, ait été occasionnée par les toxines; car les vraies toxines, représentant les poisons spécifiques des bactéries, n'agissent jamais d'une manière si momentanée, même injectées à très fortes doses. Il s'agit, dans ce cas, très probablement de poisons très violents appartenant au groupe des alcaloïdes (comme la cadavérine, par exemple) contenus dans la nucléoprotéide, que l'on rencontre aussi dans presque toutes les vieilles cultures de bactéries.

Nous avons procédé ensuite à différentes séries d'injections pour déterminer la dose mortelle de la nucléoprotéide gonococcique et avons trouvé qu'elle varie entre 0,05 et 0,06 g.

Pour immuniser nos lapins avec la nucléoprotéide gonococcique, nous avons employé tantôt la voie intraveineuse, tantôt la voie sous-cutanée ou intrapéritonéale. Nous n'avons pas trouvé de grandes différences entre les 3 modes d'injection; cependant, les animaux réagissaient plus fortement avec les injections faites par les voies intraveineuses et intrapéritonéales qu'en les injectant sous la peau.

Nous n'avons jamais observé d'abcès ou de nécroses à la suite de nos injections, alors que Blell l'a remarqué plusieurs fois, spécialement pour les lapins traités par injections sous-cutanées.

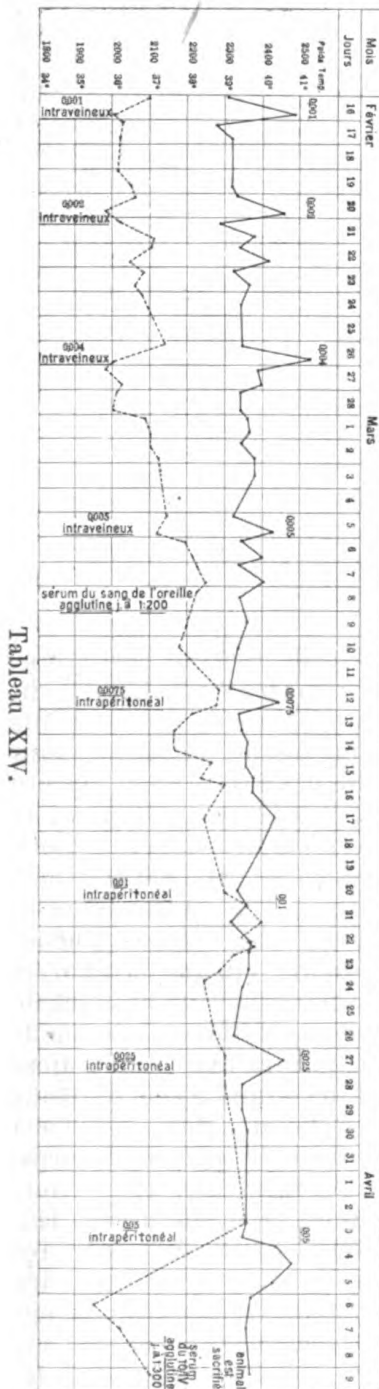
Naturellement, nous ne pouvons pas donner ici tous les tableaux de nos injections à nos lapins, ils se ressemblent du reste tous entr'eux; nous nous bornerons à indiquer la marche des températures et du poids du corps chez 3 de nos animaux.

Le tableau No. XIV nous montre les réactions d'un lapin traité du 16 février au 9 avril 1906 et qui a reçu en tout 0,1045 g. de nucléoprotéide, par voie intraveineuse d'abord, puis par voie intrapéritonéale. Nous voyons qu'il réagit très fortement aux injections des plus faibles doses de nucléoprotéide (0,001, 0,002 et 0,004). L'injection de la dose mortelle, soit 0,05 g. produit une élévation de température de 1 degré et une forte diminution du poids du corps, mais l'animal se rétablit assez rapidement et on le sacrifie le 9 avril pour en recueillir son sérum.

Le tableau No. XV correspond à la marche des réactions d'un lapin traité par des doses progressives de nucléoprotéide, injectée d'abord par voie sous-cutanée, puis par voie intraveineuse. Ce lapin a reçu en tout du 16 février au 17 mars 1906: 0,0195 g. de nucléoprotéide. Quoique les réactions fussent moins fortes, spécialement au début, que pour le précédent lapin, le sérum obtenu par cet animal a été tout aussi bon que celui du premier. Remarquons les fortes diminutions du poids du corps après les injections intraveineuses de 0,005 et 0,0075 et la faible élévation de température correspondante. L'animal a été sacrifié le 16 mars en recueillant le sang de la carotide.

Enfin, le tableau No. XVI nous montre les réactions d'un lapin traité par des doses progressives de nucléoprotéide injectée d'abord intrapéritonéalement, puis par voie intraveineuse.

Comme on le voit par la marche de la température et celle du



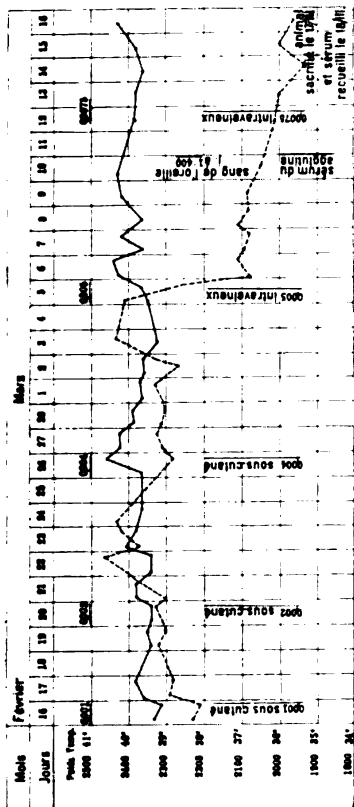


Tableau XV.

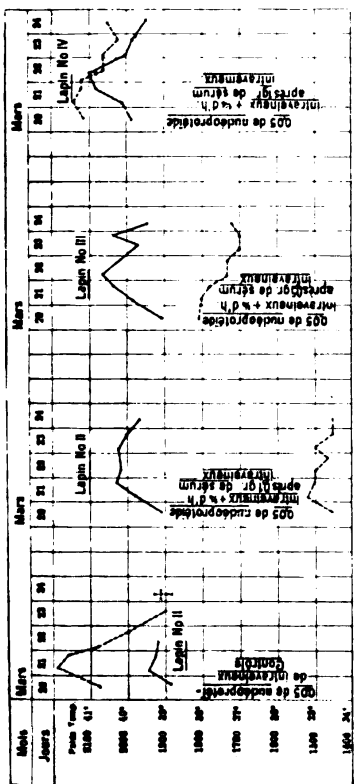


Tableau XVII.

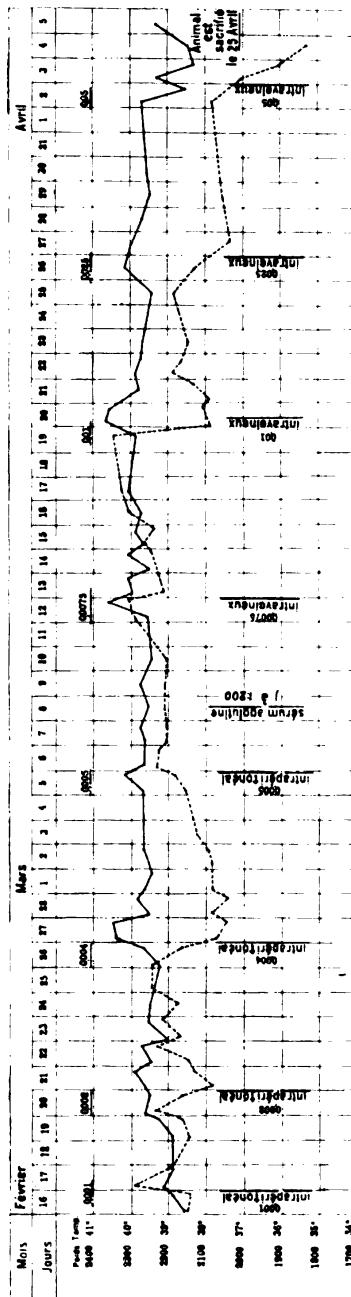


Tableau XVI.

poids du corps, l'animal a réagi plus violemment avec les injections intrapéritonéales qu'avec les injections sous-cutanées chez le lapin précédent.

L'animal a reçu en tout 0,1045 g. de nucléoprotéide.

Le 3 avril, on lui injecte 0,05 g. du toxique, soit la dose maximale; la température descend d'un degré environ, alors que pour les autres injections, elle avait toujours présenté des exacerbations; le poids du corps diminue aussi d'une façon notable, mais l'animal se remet parfaitement et est sacrifié le 14 avril pour en recueillir le sérum.

En général, nous nous sommes servi, pour les autres lapins, des injections par voie intraveineuse et nous avons toujours eu de bons résultats; nous n'avons jamais eu d'accidents avec nos animaux, ni embolies, ni abcès, ni nécroses.

Pour expérimenter la valeur du sérum obtenu à la suite des injections de nucléoprotéide gonococcique, nous avons pris des séries de lapins auxquels on injectait d'abord la dose mortelle de nucléoprotéide, soit 0,05 g., par voie intraveineuse, puis un  $\frac{1}{4}$  d'heure après, des doses variées de sérum.

Comme le tableau XVII le montre très nettement, notre sérum a parfaitement agi, et tous les animaux traités avec ce dernier sont restés en parfaite santé, après une légère réaction morbide de 2 à 3 jours, alors que les animaux auxquels on avait injecté la nucléoprotéide sans sérum consécutif ont tous succombé.

Nous n'avons pas essayé d'injecter le sérum avant l'inoculation du toxique.

Le sérum gonococcique n'est pas un vrai antitoxique, mais il a, comme le sérum antityphique et d'autres, une certaine action antitoxique; il occasionne une union avec l'endotoxine fournie par la nucléoprotéide et il la neutralise dans le corps de l'animal.

Comme de Christmas l'avait déjà observé avec des injections de gonotoxine, on ne réussit pas à sauver l'animal qui présente déjà des symptômes morbides après l'injection du toxique et auquel on inocule du sérum un peu tardivement; ainsi un lapin reçoit la dose mortelle de nucléoprotéide; après 2 heures, les premiers symptômes de l'intoxication se déclarent, on lui injecte alors une forte dose de sérum, celle-ci n'est plus efficace et l'animal meurt au bout de quelques heures.

#### IV. Valeur spécifique du sérum gonococcique.

Pour déterminer la valeur spécifique de notre sérum, nous avons examiné:

1° si notre sérum, mis en contact avec du gonocoque vivant, présentait le phénomène de l'agglutination;

2° si notre sérum contenait des ambocepteurs spécifiques pour le gonocoque.

##### 1° Agglutination.

D'après certains auteurs, l'agglutinine serait l'élément spécifique le plus important du sérum immunisant („Immuserum“). Aujourd'hui, nous savons que l'agglutination joue un rôle secondaire et qu'elle „accompagne“ généralement l'acte de l'immunisation.

Les cas observés d'agglutination avec du sérum gonococcique ne sont pas nombreux dans la littérature. En 1902, Wildbolz (81) constate que le sérum qu'il a obtenu en inoculant à des cobayes intrapéri-



tonéalement des cultures gonococciques sur sérum-bouillon, agglutine le gonocoque très rapidement, en quelques minutes seulement. En 1906, Brückner et Cristéanu (82) ont obtenu un sérum agglutinant en injectant des cultures pures de gonocoques à des chevaux. Macroscopiquement, le titre agglutinant s'élevait à 1:750 microscopiquement, la réaction était encore positive à la dilution 1:2000.

Pour obtenir l'agglutination de notre sérum, nous nous servions auparavant d'émulsions faites avec 5 ou 6 tubes de cultures gonococciques sur ascite-agar, dans lesquels on versait de la solution physiologique à 0,8 %. On répartissait dans des éprouvettes des doses variables de l'émulsion, puis le sérum à doses fractionnées, d'après le tableau suivant:

émulsion		sérum	
1,6	+	0,4	= 1:5
1,8	+	0,2	= 1:10
1,9	+	0,1	= 1:20
1,4	+	0,7 $\frac{1}{10}$	= 1:30
1,6	+	0,4 $\frac{1}{10}$	= 1:50
1,8	+	0,3 $\frac{1}{10}$	= 1:70
1,8	+	0,2 $\frac{1}{10}$	= 1:100
1,9	+	0,1 $\frac{1}{10}$	= 1:200
1,4	+	0,7 $\frac{1}{100}$	= 1:300
1,6	+	0,4 $\frac{1}{100}$	= 1:500
1,8	+	0,3 $\frac{1}{100}$	= 1:700
1,8	+	0,2 $\frac{1}{100}$	= 1:1000
1,8	+	0,1 $\frac{1}{100}$	= 1:2000
1,6	+	0,4 $\frac{1}{1000}$	= 1:5000

et ainsi de suite.

Nous avons procédé ensuite en employant la méthode du Prof. K o l l e, qui est la suivante:

Dans différents cylindres gradués, on fait avec la solution physiologique à 0,8 % des dilutions du sérum à expérimenter: 1:10, 1:20, 1:50, 1:100, 1:200, 1:500, 1:1000, etc., on obtient ainsi des quantités de dilution toujours égales. On prend, de chaque cylindre gradué, 1 c. c. de la dilution du sérum qu'on introduit dans une éprouvette stérile. On aura ainsi autant d'éprouvettes qu'il y a de dilutions du sérum. Dans chacune des éprouvettes on ajoute 1 anse de platine (2 milligrammes) d'une culture gonococcique sur sérum-agar de 24 heures, qu'on délaie petit à petit avec le sérum en frottant l'anse chargée de la culture sur la paroi des éprouvettes. Celles-ci sont placées pendant quelque temps à l'étuve à 37°, puis observées directement à l'œil ou avec une loupe à faible grossissement. La durée du séjour des éprouvettes à l'étuve est variable selon les différentes espèces de bactéries; pour celles qui se meuvent (choléra, typhus, par exemple), 1 heure suffit; pour les coques, il faut davantage. Le méningocoque, lui, demande 24 heures. Nous avons laissé nos gonocoques pendant 5 à 7 heures à l'étuve. La réaction est positive quand on voit se former nettement des grumeaux dans la dilution du sérum. On décante alors le liquide contenu dans les éprouvettes dans des petits tubes, comme ceux que l'on emploie pour la récolte des membranes diphtéritiques, et on les laisse pendant 12 à 16 heures dans un endroit frais. Quand on les observe ensuite, on constate qu'il s'est formé un dépôt au fond du tube; ce sont les grumeaux qui se sont déposés. Le limite de l'agglutination est déterminée par le premier tube qui ne contient pas de dépôt. L'intensité de l'agglutination est naturellement dépendante de la concentration du

sérum; par exemple, le dépôt doit être plus fort avec une dilution de 1:50 qu'avec une dilution de 1:100 et ainsi de suite. On doit signaler une cause d'erreur qui s'observe souvent dans les contrôles, spécialement chez les bactéries qui ne se meuvent pas: les contrôles présentent parfois des dépôts, mais ceux-ci se différencient de ceux produits par la vraie agglutination par le fait qu'en secouant les premiers, le dépôt se dilue et forme un liquide trouble d'une façon homogène, alors que pour les dépôts agglutinants, on voit les grumeaux nager dans le liquide, mais ne se dissolvent pas.

Nous avons toujours observé les réactions d'agglutination macroscopiquement; au point de vue pratique, ce procédé est plus important que l'examen microscopique, il est plus rapide et tout aussi sûr.

Nous avons naturellement chaque fois pris des tubes contrôles, contenant:

- 1° du sérum normal de lapin,
- 2° de la solution physiologique à 0,85 %,
- 3° du sérum immunisant non dilué et avons ajouté à chacun de ces tubes 1 anse de culture de gonocoques. Le résultat de nos recherches est le suivant:

Sérum No. II (lapin ayant reçu 4 injections intraveineuses et sous cutanées de nucléoprotéide).  
(Abréviations: agglutination très forte = +++, forte = ++, moyenne = +, faible = L, nulle = 0.)

après	con- trôle 1	con- trôle 2	con- trôle 3	1:10	1:20	1:30	1:50	1:100	1:200	1:400	1:500	1:700
5 h.	0	0	+++	+++	+++	++	++	+	L	0	0	0

Le sérum agglutine donc au bout de 5 h. jusqu'à 1:200.

Sérum No. III (lapin ayant reçu 4 injections sous cutanées et intraveineuses de nucléoprotéide).

après	con- trôle 1	con- trôle 2	con- trôle 3	1:10	1:20	1:30	1:50	1:100	1:200	1:400	1:500	1:700
1 h.	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 "	0	0	+++	+++	++	+	L	0	0	0	0	0
24 "	0	0	+++	+++	+++	+++	++	++	+	L	0	0

Le sérum agglutine au bout de 24 h. jusqu'à 1:400.

Sérum No. IV (lapin ayant reçu 4 injections intrapéritonéales de nucléoprotéide).

après	con- trôle 1	con- trôle 2	con- trôle 3	1:10	1:20	1:30	1:50	1:100	1:200	1:300	1:400
1 h.	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0
5 "	0	0	+++	+++	+++	+++	++	+	L	?	0

Ce sérum agglutine au bout de 5 heures entre 1:200 et 1:300.

Sérum No. X (après 8 injections intraveineuses de nucléoprotéide).

après	con- trôle 1	con- trôle 2	con- trôle 3	1:10	1:20	1:30	1:50	1:100	1:200	1:300	1:400	1:500	1:700
1 h.	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 "	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	L	L	0	0
24 "	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	L	L	0	0

## Sérum No. XI (après 5 injections intraveineuses de nucléoprotéide).

après	con- trôle 1	con- trôle 2	con- trôle 3	1:10	1:20	1:30	1:50	1:100	1:200	1:300	1:400
1 h.	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
6 „	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+	L	0	0
24 „	0	0	+++	+++	+++	+++	++	+	L	0	0

Le sérum du lapin No. XII, obtenu après 5 injections intraveineuses de nucléoprotéide, n'agglutinait au bout de 7 heures d'étuve que jusqu'à 1:100. L'animal reçut encore, dans l'espace de trois semaines, 3 injections intraveineuses de 0,01, 0,02 et 0,04 g. de nucléoprotéide: le titre agglutinant du sérum s'éleva alors jusqu'à 1:400.

Un exemple frappant d'élévation rapide du degré d'agglutinine du sérum s'observe pour le sérum du lapin No. XIII. Ce dernier a reçu du 19 juin au 8 août 1906 8 injections intraveineuses de nucléoprotéide (soit 0,001, 0,002, 0,003, 0,005, 0,0075, 0,01, 0,02, et 0,04), le degré d'agglutination ne s'élève qu'à 1:100. L'animal reçoit alors 2 injections intraveineuses, le 14 et le 21 août, de 0,05 g. de nucléoprotéide; le sérum de ce lapin agglutine le 23 août, au bout de 6 heures jusqu'à 1:1000.

## Sérum No. XIII (après 10 injections intraveineuses de nucléoprotéide).

après	con- trôle 1	con- trôle 2	con- trôle 3	1:10	1:20	1:30	1:50	1:100	1:200	1:300	1:400	1:500	1:700	1:1000
1 h.	0	0	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 „	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	L	traces
24 „	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	L	traces

Le sérum des animaux traités par la nucléoprotéide a toujours contenu de l'agglutinine, à dose plus ou moins élevée, variant en général entre 1:200 et 1:400, tandis que le sérum des animaux traités par la gonotoxine „Christmas“ n'a jamais montré une réaction positive. Lorsqu'un animal a été traité pendant un certain temps par une espèce de bactéries déterminée, on sait que seuls les récepteurs qui correspondent aux groupes analogues de ces bactéries entrent en activité. Il se forme ainsi une grande quantité d'anticorps homologues qui sont nommés agglutinines immunisantes („Immunagglutinin“ d'après Kolle). Celle-ci se compose d'une agglutinine principale („Hauptagglutinin“) qui correspond aux récepteurs spécifiques de la bactérie employée pour le traitement de l'animal et de nombreuses Agglutinines partielles („Partialagglutinine“ d'après Wassermann), qui correspondent aux différents récepteurs, peu nombreux, pour d'autres sortes de bactéries. On a observé en effet que certains séras immunisants n'agglutinent pas seulement les microorganismes avec lesquels l'animal a été traité, mais aussi, jusqu'à un certain point, d'autres sortes de bactéries très voisines. Ceci se remarque spécialement pour le groupe du typhus et du *Bacterium coli* (ce fait a été observé entre autre par Radzievsky, en 1900 pour le *Bacterium coli* (83) et on désigne ce phénomène sous le nom d'agglutination de familles ou de groupes. (Familien- oder Gruppenagglutination.)

Nous avons voulu contrôler la chose avec notre sérum gonococcique. Nous avons alors ajouté aux différentes dilutions de notre sérum une anse de platine:

- 1° d'une culture de staphylocoques,
- 2° d'une culture de streptocoques,
- 3° d'une culture de typhus.
- 4° de 3 cultures provenant de 3 souches de meningocoques.

Alors qu'avec les 3 premières, nous n'avons jamais observé d'agglutination, il n'en a pas été de même avec le *Meningococcus intracellularis*, le coque spécifique de la méningite cérébrospinale. Nous avons pris trois cultures différentes de ce microorganisme, correspondant à trois souches (Stämme) différentes. Le contrôle, soit le sérum normal du lapin, agglutinait le meningocoque, après 2 heures, jusqu'à 1:20 seulement. Alors que pour les cultures II et III, le titre agglutinant du sérum gonococcique s'élevait au bout de 2 heures à 1:300, la réaction étant observée macroscopiquement, la culture No. I agglutinait notre sérum jusqu'à 1:100. Le même phénomène avait été observé en juin 1906 par Brückner et Cristéanu (84) qui constataient que le sérum d'un cheval traité par des injections de cultures gonococciques agglutinait le meningocoque, après 1 heure d'étuve à 37° jusqu'à 1:100, à l'examen macroscopique et jusqu'à 1:750 à l'examen microscopique. Notre sérum gonococcique contient par conséquent une agglutinine principale pour le gonocoque et une agglutinine partielle pour le meningocoque; ce fait nous montre une fois de plus les liens de parenté si étroits qui existent entre le coque de Neisser et celui de Weichselbaum-Jäger.

L'action agglutinante du sérum gonococcique est plus grande pour nos cultures gonococciques que pour les cultures meningococciques, mais il y a des agglutinines dans le sérum gonococcique qui correspondent aux substances contenues dans les corps des meningocoques. C'est une agglutination de groupe.

Comme contr'épreuve, nous avons examiné l'action agglutinante pour le gonocoque de 6 espèces de sérum différentes, parmi lesquelles le sérum meningococcique.

Nous avons pris:

- 1° du sérum antitétanique,
- 2° du sérum antidiphthérique antitoxique,
- 3° du sérum antidiphthérique bactéricide,
- 4° du sérum antistreptococcique,
- 5° du sérum antityphique,
- 6° du sérum meningococcique.

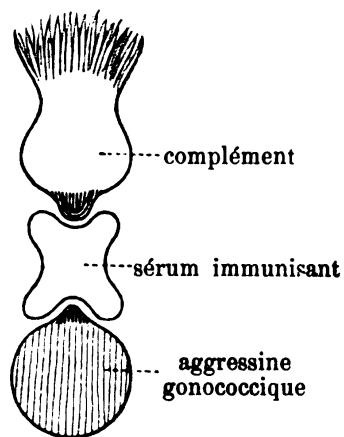
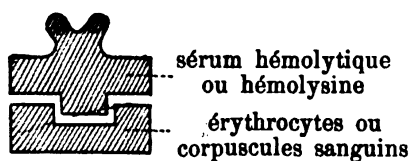
Les séra 1, 2, 3 et 5 donnèrent des résultats absolument négatifs, le sérum antistreptococcique présenta des traces d'agglutination du gonocoque avec une dilution de 1:10, après 2 heures d'étuve, tandis que le sérum meningococcique agglutina le gonocoque après 2 heures d'étuve à 37° jusqu'à 1:200. Ainsi, la contr'épreuve confirmait nos résultats précédents. Les agglutinines du sérum gonococcique doivent être utilisées pour différentier et identifier les cultures gonococciques, mais il faut considérer qu'il y a beaucoup d'agglutinations de groupes entre les différentes espèces de cocques et de séra correspondants.

## 2° Recherches des ambocepteurs.

C'est la méthode décrite par Wassermann et Bruck (85) et mise surtout en pratique par Kolle et Wassermann (86) pour la recherche des ambocepteurs dans le sérum meningococcique.

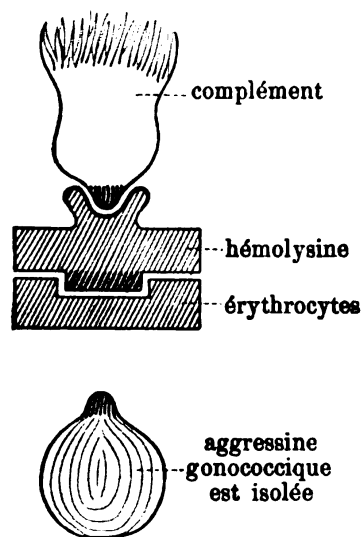
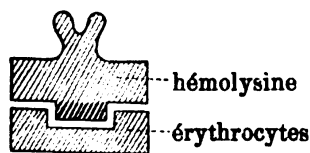
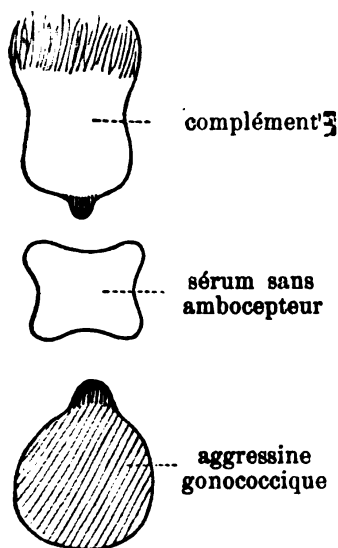
L'expérience est basée sur le principe suivant:

Si notre sérum gonococcique est immunisant et s'il possède des ambocepteurs ou „substance sensibilatrice“, d'après Bordet, il doit s'unir d'un côté à la substance gonococcique (émulsion de cultures ou extraits) et de l'autre au complément qu'on lui ajoute sous forme de sérum normal frais, contenant le complément ou alexine. Pour voir si le sérum est vraiment immunisant, s'il contient des ambocepteurs pour la substance gonococcique, on lui ajoute du sérum hémolytique (c'est à dire du sérum d'un lapin traité avec des corpuscules sanguins de mouton) et des corpuscules rouges (érythrocytes) de mouton, corpuscules défibrinés et lavés avec la solution physiologique. Les érythrocytes sont sensibilisés par le sérum hémolytique. Si le sérum contient des ambocepteurs, il s'unira d'un côté avec la substance gonococcique (émulsion ou extrait dit aggressine) et de l'autre avec le complément. On peut représenter schématiquement cette union de la façon suivante: Dans ce cas, il n'y aura pas d'hémolyse, le groupe du sérum hémolytique ou hémolysine + les érythrocytes est



libre. S'il n'y a pas d'ambocepteurs dans le sérum, le complément s'unira au groupe sérum hémolytique ou hémolysine + érythrocytes et il y aura hémolyse. La substance gonococcique sera isolée, sans groupe d'union; nous aurons ainsi, schématiquement, le groupement suivant:

ainsi, schématiquement,



Avant d'entrer dans les détails sur la façon de procéder, nous devons ajouter quelques mots sur la préparation de l'extrait gonococcique ou aggressine gonococcique. On prend un certain nombre

de grandes bouteilles Petruschky dans lesquelles on introduit les milieux nutritifs à gonocoques. On inocule les terrains avec une culture gonococcique âgée de 48 heures qu'on répartit sur toute la surface avec un Dally. On place les bouteilles pendant 2 jours à l'étuve à 37°; puis, on verse dans chacune d'elles 10 c. c. d'eau distillée stérile; la culture est ainsi émulsionnée en la séparant du milieu nutritif avec le Dally, puis le liquide est décanté dans une bouteille stérile. Admettons qu'on ait pris 8 flacons de culture, on aura ainsi 80 c. c. d'émulsion, qu'on agite pendant 2 jours dans l'appareil „le trembleur“ (Schüttelapparat), en enveloppant le flacon d'un drap noir pour le garantir de la lumière. On centrifuge ensuite le liquide jusqu'à ce qu'il soit devenu tout à fait clair et on le décante dans un autre flacon stérile en y ajoutant un  $\frac{1}{2}$  % de phénol. Le liquide, qui est donc une solution d'agressine gonococcique, est conservé à l'abri de la lumière.

Pour la préparation des corpuscules sanguins ou érythrocytes, on recueille du sang de la veine jugulaire d'un mouton. Le sang est défibriné en l'agitant dans un ballon contenant des perles de verre, puis est filtré. On le lave au centrifugeur avec la solution physiologique jusqu'à ce que celle-ci soit tout à fait claire et incolore, puis on recueille les globules sanguins qui sont déposés au fond du tube à centrifuger et on les sensibilise en y ajoutant du sérum hémolytique provenant d'un lapin traité pendant un certain temps avec du sang de mouton.

Pour la recherche des ambocepteurs, on procède, d'après Kolle, de la façon suivante:

Dans une série d'éprouvettes, (on se sert à l'institut de Berne des éprouvettes „Schott“) on introduit le sérum gonococcique qui a été inactivé auparavant en le chauffant pendant 1 heure à 60°; dans ce sérum, le complément est ainsi détruit; le sérum est réparti dans les éprouvettes en dilution progressive; dans chacune des éprouvettes, on ajoute 0,1 g. (4 gouttes) d'extrait de gonocoques ou agressine gonococcique, puis 0,1 g. de complément ou alexine, provenant du sang d'un cobaye sacrifié quelques heures auparavant et dont le sérum a été obtenu par centrifugation. Les éprouvettes sont agitées pour que les 3 différents liquides se mélangent bien et mises à l'étuve à 37° pendant 1 heure. Au bout de ce temps, on ajoute à chaque éprouvette la quantité nécessaire de solution physiologique, préparée fraîchement, pour que cela fasse en tout 1 c. c. Enfin, on introduit les corpuscules rouges et le sérum hémolytique; les éprouvettes sont mises de nouveau à l'étuve à 37° pendant 1 heure, puis placées dans un endroit frais (cave ou glacière) pendant 12 heures et on peut alors les observer.

Pour obtenir la dose de sérum hémolytique qu'il faut employer, on fait, avant le commencement de l'expérience des ambocepteurs proprement dite, le dosage du sérum de la façon suivante:

On prend dans une éprouvette 1 c. c. de corpuscules rouges, puis des doses différentes de sérum hémolytique, plus 0,1 g. de complément (provenant du sang normal de cobaye):

1 c. c. 5 %	corpusc. rouges de mouton	+ 0,01 sér. hémol.	+ 0,1 complém.
1 „ 5 „	„ „ „ „	+ 0,007 „	+ 0,1 „
1 „ 5 „	„ „ „ „	+ 0,004 „	+ 0,1 „
1 „ 5 „	„ „ „ „	+ 0,001 „	+ 0,1 „

Les 4 solutions obtenues par le mélange des 3 éléments susmentionnés sont mises à l'étuve pendant  $\frac{1}{2}$  h. à 1 h. et observées.

Sérum No. III.

(Abréviations: Sph. = solution physiologique; iaSg. = sérum gonococcique inactif; Ag. = agressive gonococcique; CCpl. = complément de cobaye; MCS. = Corpuscules rouges du mouton; SH. = sérum hémolytique.)  
Titre du sérum hémolytique = 0,02 ou 0,2  $\frac{1}{10}$ .

No. I.	1,0 iaSg.	+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c. c. à 5 % MCS.	+ 0,04 SH.	= pas d'hémolyse
" II.	0,7 "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,04 "	" "
" III.	0,3 "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,04 "	" "
" IV.	0,5 "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,04 "	" "
" V.	0,7 "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,04 "	" "
No. VI. } " VII. } " VIII. } " IX. } contrôle	0,8 Sph.	+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c. c. à 5 % MCS.	+ 0,04 SH.	= hémolyse complète
	0,4 "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,04 "	" "
	0,9 "	+ 0,1 "	" "	" 5 "	+ 0,04 "	" "

Sérum No. II.

Titre du sérum hémolytique = 0,004 ou 0,4 d'une solution de  $\frac{0,4}{10}$  ou 0,8 d'une solution de  $\frac{0,2}{10}$

No. I.	0,3 Sph.	+	0,5 iaSg.	+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c. c. à 5 % MCS.	+ 0,4 SH.	= légère hémolyse
" II.	0,5 "	+	0,3 "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,4 "	= pas d'hémolyse
" III.	0,7 "	+	0,1 "	+ 0,1 "	" "	" 5 "	+ 0,4 "	" "
" IV.	0,3 "	+	0,05 (0,5 $\frac{1}{10}$ ) "	+ 0,1 "	" "	" 5 "	+ 0,4 "	" "
" V.	0,7 "	+	0,01 (0,1 $\frac{1}{10}$ ) "	+ 0,1 "	" "	" 5 "	+ 0,4 "	" "
" VI.	0,3 "	+	0,005 (0,5 $\frac{1}{100}$ ) "	+ 0,1 "	" "	" 5 "	+ 0,4 "	" légère hémolyse
No. VII.	0,8 Sph.	+	0,5 iaSg.	+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c. c. à 5 % MCS.	+ 0,4 SH.	= hémolyse complète
" VIII.	0,4 "	+	" "	+ 0,1 "	" "	" 5 "	+ 0,4 "	" "
" IX.	0,9 "	"	" "	+ 0,1 "	" "	" 5 "	+ 0,4 "	" "
" X.	" "	"	" "	" "	" "	2 "	+ 0,8 "	= pas d'hémolyse

Le fait qu'on observe une légère hémolyse avec 0,5 g. de sérum immun a été constaté quelquefois pour d'autres séra par le Dr. Krumbein, sous-directeur de la division du sérum, lorsque la dose de sérum est très forte.

Sérum No. IV.  
Titre du sérum hémolytique = 0,004 ou 0,008 ou 0,8 d'une solution au  $\frac{1}{100}$ .

No. I.	0,3 Sph.	+	0,5 iaSg.	+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c.c. à 5% MCS.	+ 0,8 SH.	= pas d'hémolyse
" II.	0,5 "	+	0,3 "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" "
" III.	0,7 "	+	0,1 "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" "
" IV.	0,3 "	+	0,1 "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" "
" V.	0,55 "	+	0,05 (0,5 $\frac{1}{10}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" "
" VI.	0,7 "	+	0,025 (0,25 $\frac{1}{10}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" "
" VII.	0,3 "	+	0,01 (0,1 $\frac{1}{10}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" "
" VIII.	0,55 "	+	0,005 (0,5 $\frac{1}{100}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" "
" IX.	0,7 "	+	0,0025 (0,25 $\frac{1}{100}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" légère hémolyse
" X.	0,3 "	+	0,0005 (0,05 $\frac{1}{1000}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" "
No. XI.	0,8 Sph.	+		+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c.c. à 5% MCS.	+ 0,8 SH.	= hémolyse complète
" XII.	0,4 "	+	0,5 iaSg.	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" 5 "	+ 0,8 "	" "
" XIII.	0,9 "	"		+ 0,1 "	"	" 5 "	+ 0,8 "	" " pas d'hémolyse
" XIV.		"				2 "	+ 1,6 "	" "

Sérum No. X.  
Titre du sérum hémolytique: = 0,004 ou 0,008 ou 0,8 avec une solution au  $\frac{1}{100}$ .

No. I.	0,7 Sph.	+	0,1 iaSg.	+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c.c. MCS.	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) SH.	= pas d'hémolyse
" II.	0,3 "	+	0,5 (0,5 $\frac{1}{10}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" "	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	" "
" III.	0,55 "	+	0,025 (0,25 $\frac{1}{10}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" "	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	" "
" IV.	0,7 "	+	0,01 (0,1 $\frac{1}{10}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" "	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	" "
" V.	0,3 "	+	0,005 (0,5 $\frac{1}{100}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" "	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	" "
" VI.	0,55 "	+	0,0025 (0,25 $\frac{1}{100}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" "	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	" "
" VII.	0,7 "	+	0,001 (0,1 $\frac{1}{1000}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" "	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	" " légère hémolyse
" VIII.	0,3 "	+	0,0005 (0,5 $\frac{1}{1000}$ ) "	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" "	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	" "
No. IX.	0,8 Sph.	+		+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c.c. MCS.	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	= hémol. complète
" X.	0,4 "	+	0,5 iaSg.	+ 0,1 "	+ 0,1 "	" "	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	" "
" XI.	0,9 "	"		+ 0,1 "	"	" "	+ 0,008 (0,8 $\frac{1}{100}$ ) "	" " pas d'hémolyse
" XII.		"				2 "	+ 0,16 $\frac{1}{100}$ "	" "



Sérum No. XIII.  
Titre du sérum hémolytique = 0,004 ou 0,4 au 1/100°.

No. I.	0,7 Sph.	+	0,1	iaSg.	+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c.c. MCS.	+ 0,8 SH.	= pas d'hémolyse
" II.	0,3 "	+	0,05 (0,5 1/10)	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
" III.	0,55 "	+	0,025 (0,25 1/10)	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
" IV.	0,7 "	+	0,01 (0,1 1/10)	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
" V.	0,3 "	+	0,005 (0,5 1/100)	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" légère hémolyse
" VI.	0,55 "	+	0,0025 (0,25 1/100)	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" hémolyse complète
" VII.	0,7 "	+	0,001 (0,1 1/100)	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
" VIII.	0,3 "	+	0,0005 (0,5 1/1000)	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
No. IX.	0,8 Sph.	+			+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c.c. MCS.	+ 0,8 SH.	= hémolyse complète
" X.	0,4 "	+	0,5	iaSg.	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
" XI.	0,9 "	"			+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 2 "	+ 1,6 "	= pas d'hémolyse
" XII.									

Comme contrôle, nous avons pris au lieu de notre sérum gonococcique immun, du sérum normal de lapin inactif, pour voir s'il posséderait aussi des ambocepteurs pour le gonocoque.

Sérum normal de lapin.  
Titre du sérum hémolytique = 0,004 ou 0,4 au 1/100°.

No. I.	0,7 Sph.	+	0,1	iaS. norm.	+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c.c. MCS.	+ 0,8 SH.	= hémolyse complète
" II.	0,3 "	+	0,5 1/10	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
" III.	0,6 "	+	0,2 1/10	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
" IV.	0,7 "	+	0,1 1/100	"	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
No. V.	0,8 Sph.	+			+ 0,1 Ag.	+ 0,1 CCpl.	+ 1 c.c. MCS.	+ 0,8 SH.	= hémolyse complète
" VI.	0,4 "	+	0,5	iaS. norm.	+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 1 "	+ 0,8 "	" "
" VII.	0,9 "	"			+ 0,1 "	+ 0,1 "	+ 2 "	+ 1,6 "	= pas d'hémolyse
" VIII.									

Le titre du sérum hémolytique est déterminé par la plus faible dose de sérum nécessaire pour obtenir l'hémolyse. Admettons, dans notre cas, que ce soit avec 0,004, le titre du sérum hémolytique sera de 0,004 ou plutôt de 0,008, car on prend toujours le double du titre obtenu de la façon décrite.

On prend en outre 4 contrôles :

1 contrôle ne contient pas le sérum immunisant,

1 " " " " d'extrait gonococcique,

1 " " " " ni sérum immunisant, ni extrait,

enfin le 4<sup>e</sup> contrôle consiste simplement en corpuscules rouges + sérum hémolytique.

Les premiers qui aient employé la méthode de Bruck et Wassermann avec le gonocoque sont Müller et Oppenheim (87), de Vienne, en juillet 1906, qui ont décelé la présence d'ambocepteurs spécifiques par le coque de Neisser dans le sérum sanguin d'un malade atteint de complications gonorrhéiques.

Dans le No. 34 de la „Deutsche med. Wochenschr.“ (août 1906), Bruck (88) signale, en employant sa méthode, la présence des ambocepteurs dans le sang de malades atteints aussi de complications gonorrhéiques (femmes atteintes d'inflammation des annexes, hommes souffrant pour la IX<sup>e</sup> fois de gonorrhée compliquée d'iritis et d'épididymite) et de même dans le sérum d'animaux immunisés avec des cultures gonococciques. Il insiste sur le fait que c'est lui, le premier, qui démontre la présence des ambocepteurs dans le sérum du sang des animaux immunisés. Sans vouloir contester ses conclusions, nous tenons cependant à déclarer que nos expériences, arrivant aux mêmes résultats que Bruck, avaient déjà été exécutées, et absolument indépendamment des travaux de l'assistant du Prof. Neisser, quand ceux-ci ont paru.

Le but de nos expériences était de démontrer, par la méthode de Bruck et Wassermann, in vitro la présence des ambocepteurs, „Immunkörper“ spécifiques, dans notre sérum gonococcique et d'examiner si ce dernier en contenait aussi pour le méningocoque et réciproquement pour le sérum méningococcique avec le gonocoque. La question s'imposait après la réciprocité si éclatante du phénomène de l'agglutination entre sérum gonococcique et méningocoque et réciproquement entre sérum méningococcique et gonocoque. Les tableaux qui suivent montrent les résultats de ces expériences (voir tableaux p. 129—131).

Les tableaux prouvent d'une façon absolument concluante que notre sérum contient des ambocepteurs pour le gonocoque. Les limites correspondant à l'apparition de l'hémolyse sont variables selon la qualité des différents séra. Nous ne sommes pas d'accord avec Bruck quand il dit que la formation de l'agglutinine dans le sérum gonococcique est tout à fait indépendante de celle des ambocepteurs spécifiques des gonocoques. Nos expériences prouvent au contraire que dans notre sérum immunisant, les deux corps spécifiques, agglutinine et ambocepteurs, se forment simultanément. Nous ne dirons pas que leur apparition, que le degré de leur formation dans le sérum est parallèle, le sérum No. XIII nous prouve le contraire: ainsi ce sérum agglutine jusqu'à 1:1000, le plus fort titre agglutinant que nous ayons observé et la limite de l'hémolyse est inférieure aux autres séra, c'est à dire que l'apparition de celle-ci survient avec une dilution du sérum inférieure aux autres séra examinés. Mais nos différents séra gonococci-

Sérum No. X + Aggressive méningococcique.  
Titre du sérum hémolytique = 0,004 ou 0,4 au  $\frac{1}{1000}$ .

No. I.	0,7	Sph.	+	0,1	iaSg.	+ 0,1	Méning. Ag.	+ 0,1	CCpl.	+ 1	c. c. MCS.	+ 0,8	SH.	=	hémolyse complète
" II.	0,3	"	+	0,05 (0,5 $\frac{1}{10}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" III.	0,55	"	+	0,025 (0,25 $\frac{1}{10}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" IV.	0,7	"	+	0,01 (0,1 $\frac{1}{10}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" V.	0,3	"	+	0,005 (0,5 $\frac{1}{10}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" VI.	0,55	"	+	0,0025 (0,25 $\frac{1}{100}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" VII.	0,7	"	+	0,001 (0,1 $\frac{1}{100}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" VIII.	0,3	"	+	0,0005 (0,5 $\frac{1}{1000}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
No. IX.	0,8	Sph.	+	0,5	iaSg.	+ 0,1	Méning. Ag.	+ 0,1	CCpl.	+ 1	c. c. MCS.	+ 0,8	SH.	=	hémolyse complète
" X.	0,4	"	"			+ 0,1	"		"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" XI.	0,9	"	"						"	+ 2	"	+ 1,6	"	=	pas d'hémolyse
" XII.															

Sérum méningococcique + Aggressive gonococcique.  
Titre du sérum hémolytique = 0,004 ou 0,4 au  $\frac{1}{1000}$ .

No. I.	0,7	Sph.	+	0,1	iaMS.	+ 0,1	GAG.	+ 0,1	CCpl.	+ 1	c. c. MCS.	+ 0,8	SH.	=	hémolyse complète
" II.	0,3	"	+	0,05 (0,5 $\frac{1}{10}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" III.	0,55	"	+	0,025 (0,25 $\frac{1}{10}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" IV.	0,7	"	+	0,01 (0,1 $\frac{1}{10}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" V.	0,3	"	+	0,005 (0,5 $\frac{1}{10}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" VI.	0,55	"	+	0,0025 (0,25 $\frac{1}{100}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" VII.	0,7	"	+	0,001 (0,1 $\frac{1}{100}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" VIII.	0,3	"	+	0,0005 (0,5 $\frac{1}{1000}$ )	"	+ 0,1	"	+ 0,1	"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
No. IX.	0,8	Sph.	+	0,5	iaMS.	+ 0,1	GAG.	+ 0,1	CCpl.	+ 1	c. c. MCS.	+ 0,8	SH.	=	hémolyse complète
" X.	0,4	"	"			+ 0,1	"		"	+ 1	"	+ 0,8	"	=	"
" XI.	0,9	"	"						"	+ 2	"	+ 1,6	"	=	pas d'hémolyse
" XII.															

ques ont tous présenté un pouvoir agglutinant et ont montré la présence d'ambocepteurs pour le gonocoque.

Nous avons vu que le sérum gonococcique agglutinait le méningocoque et que le sérum méningococcique en faisait de même pour le gonocoque. Nous avons alors examiné si notre sérum gonococcique contenait des ambocepteurs pour le méningocoque et inversement le sérum méningococcique pour le gonocoque.

Nous avons remplacé alors l'agressine gonococcique par l'agressine méningococcique pour la première expérience et le sérum gonococcique par le sérum méningococcique inactivé pour la 2<sup>e</sup> expérience (voir tableau p. 133).

Ces dernières expériences ont une grande valeur pour la démonstration de la spécificité de notre sérum gonococcique. Ce dernier ne contient des ambocepteurs que pour le gonocoque. L'agressine méningococcique ajoutée à notre sérum n'empêche nullement l'apparition de l'hémolyse et réciproquement pour le sérum méningococcique avec l'agressine gonococcique. Si nous insistons sur ces résultats, c'est qu'ils ont une grande importance pour le diagnostic différentiel entre le gonocoque et le méningocoque.

Qu'il nous soit permis, en terminant, d'exprimer notre profonde gratitude à Mr. le Prof. Tavel, ancien Directeur de l'Institut pour la recherche des maladies infectieuses de l'Université de Berne, à Mr. le Prof. Dr. Kolle, le Directeur actuel, ainsi qu'à Mr. le Dr. Heller, 1<sup>er</sup> assistant de l'Institut, pour les conseils précieux qu'ils nous ont prodigués et l'empressement qu'ils nous ont témoigné en dirigeant et contrôlant nos travaux.

#### Ouvrages consultés.

- 1) Legrain, Les microbes des écoulements de l'urèthre. [Thèse.] Nancy 1888/89.
- 2) Bokai, A., Ueber das Kontagium der akuten Blennorrhöe. (Allg. med. Centralzeitung. 1881. No. 74.)
- 3) Finkelstein, cité dans le travail de Patellani Rosa.
- 4) Krause, Die Mikrokokken der Blennorrhoea neonator. (Centralbl. f. prakt. Augenheilk. 1882.)
- 5) Leistikow, Ueber Bakterien bei den venerischen Krankheiten. (Charité-Annalen. VII. Jahrg. 1882.)
- 6) Bockhardt, Beitrag zur Aetiologie und Pathologie des Harnröhrentrippers. (Vierteljahrsschr. f. Dermatol. u. Syph. 1883.)
- 7) Bumm, Beitrag zur Kenntnis der Gonorrhöe (Arch. f. Gyn. 1884) und des Gonococcus Neisser. Wiesbaden (F. Bergmann) 1885. — Menschliches Blutserum als Nährboden für pathogene Mikroorganismen. (Deutsche med. Wochenschr. 1885.) — Der Mikroorganismus der gonorrhöischen Schleimhautrekrankungen, „Gonococcus Neisser“. 1887.
- 8) Wertheim, Reinzüchtung des Gonococcus Neisser mittels des Plattenverfahrens. (Deutsche med. Wochenschr. Bd. XVII. 1891.) — Die ascendierende Gonorrhöe beim Weibe. (Arch. f. Gynäk. Bd. XLII. 1892.)
- 9) Menge und Krönig, Bakteriologie des weiblichen Genitalkanals. (Centralbl. f. Gynäk. Bd. XXV. 1893.)
- 10) Jadassohn, Ueber Immunität und Superinfektion bei chronischer Gonorrhöe. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. XLIII. 1892.)
- 11) Finger, Ghon und Schlagenhauser, Beiträge zur Biologie des Gonococcus. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1894.)
- 12) Gebhard, Der Gonococcus Neisser auf der Platte und in Reinkultur. (Berl. klin. Wochenschr. Bd. XXIX. 1892.)
- 13) Krönig, Vorläufige Mitteilung über die Gonorrhöe im Wochenbette. (Centralbl. f. Gynäk. 1883. No. 8.)
- 14) Steinschneider, Ueber die Kultur der Gonokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1893. No. 29.)
- 15) Schäffer, Zur Biologie der Gonokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1895.)

- 16) Wertheim, déjà cité.
- 17) Finger, Ghon et Schlagenhauer, déjà cité. — Beitrag zur Züchtung des Gonococcus Neisser. (Wien. klin. Wochenschr. 1893. No. 34.)
- 18) Steinschneider, Ueber die Differenzierung der Gonokokken durch das Züchtungsverfahren und das Färbungsverfahren. (Wien. med. Wochenschr. 1897.)
- 19) Schäffer, Beitrag zur Frage der Gonokokkentoxine. (Fortschritte der Medizin. 1897.)
- 20) Wassermann, A., Ueber Gonokokkenkultur und Gonokokkengifte. (Berl. klin. Wochenschr. 1897. No. 32.)
- 21) Scholtz, Beiträge zur Biologie des Gonococcus. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. XLIX. 1899.)
- 22) Thalmann, Züchtung der Gonokokken auf einfachen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900.)
- 23) Steinschneider, déjà cité.
- 24) Dexter Chadwick, H., The gonococcus. (Boston med. and surg. Journ. 1895. No. 14.)
- 25) Heimann, A further study of the biology of the Gonococcus Neisser. (Medical Record. 1896.)
- 26) Menge, Ein Beitrag zur Kultur des Gonococcus. (Centralbl. f. Gynäk. 1893.)
- 27) Krönig et Hammer, Beitrag zur Kultur des Gonococcus. 1895.
- 28) Csillag et Rosa, cités dans le travail de Patellani Rosa.
- 29) Ghon, déjà cité.
- 30) Kiefer, Zur Kultur des Gonococcus Neisser. (Berl. klin. Wochenschr. u. Beiträge z. Geburtsh. u. Gynäk. 1895.)
- 31) Schultz, voir Deutsche med. Wochenschr. 1897.
- 32) Schäffer, déjà cité.
- 33) Galli-Valerio, Notes helminthologiques et bactériologiques. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898.)
- 34) Scholtz, déjà cité.
- 35) de Christmas, Contribution à l'étude du gonocoque et de sa toxine. (Annales de l'Inst. Pasteur. 1897.)
- 36) Nicolaysen, Zur Pathogenität und Giftigkeit des Gonococcus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. 1897.)
- 37) Busch, Cultivation of the Gonococcus. (Medical News. Vol. LXXII. 1898.)
- 38) Scholtz, déjà cité.
- 39) Wertheim, déjà cité.
- 40) Finger, Ghon et Schlagenhauer, déjà cité.
- 41) Hammer, Beitrag zur Kultur des Gonococcus. (Deutsche med. Wochenschr. 1895. No. 51.)
- 42) Hagner, cité dans le travail de Patellani Rosa.
- 43) van Hest, Zur bakteriologischen Technik. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895.)
- 44) Thalmann, déjà cité.
- 45) Csillag, déjà cité.
- 46) Patellani Rosa, Beitrag zur Bereitung einiger kultureller bakteriologischer Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1900.)
- 47) Fischer, Ueber Kindergonorrhöe. (Deutsche med. Wochenschr. 1895. No. 51.)
- 48) Wildbolz, Bakteriologische Studien über Gonococcus Neisser. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1902.)
- 49) Lipschütz, Ueber einen einfachen Gonokokkennährboden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1904.)
- 50) Kiefer, déjà cité (No. 30).
- 51) Wassermann, déjà cité (No. 20).
- 52) Lipschütz, déjà cité (No. 49).
- 53) Finger, Ghon et Schlagenhauer, déjà cité.
- 54) Thalmann, déjà cité (No. 22). — Zur Biologie der Gonokokken. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902.)
- 55) Wildbolz, Zur Biologie der Gonokokken. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902.) — Erwiderung auf die Mitteilung von Dr. Thalmann „Zur Biologie der Gonokokken“. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. 1902.)
- 56) Vannod, L'agar ordinaire, comme milieu de culture du gonocoque. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. 1905.)
- 57) Bumm, déjà cité (No. 7).
- 58) Krause et Leistikow, déjà cité (No. 4 et 5).
- 59) Wertheim, déjà cité (No. 8).
- 60) Busch, déjà cité (No. 37).

- 61) Nicolaysen, Bemerkungen über das Verhalten des Gonococcus zum Agar. (Ref. Münchn. med. Wochenschr. 1901.)
- 62) Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. Bd. III. 1903. p. 166.
- 63) Bärmann, Ueber Züchtung von Gonokokken auf Thalmann'schem bezw. gewöhnlichem Agar. (Zeitschr. f. Hyg. 1903.)
- 64) Schanz, Ueber die Variabilität der Gonokokken. (Deutsche med. Wochenschr. 1904.)
- 65) de Christmas, Contribution à l'étude du gonocoque et de sa toxine. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XIV. 1900.)
- 66) Lingelsheim  
Weichselbaum  
Wassermann  
Kolle } voir Klin. Jahrbuch. 1906.
- 67) Wassermann, Berl. klin. Wochenschr. 1896. p. 675; Zeitschr. f. Hygiene. 1898. p. 27.
- 68) Nicolaysen, Centralbl. f. Bakt. etc. 1896. p. 305.
- 69) Scholtz, Arch. f. Dermatol. 1899.
- 70) de Christmas, déjà cité (No. 35 et 65).
- 71) Wildbolz, déjà cité (No. 48).
- 72) Cramer, Nencki, Brieger, cités dans le travail de Blell, Hammerschlag, von Weizl.
- 73) Galeotti, Beitrag zur Kenntnis der bakteriellen Nucleoproteide. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXV. 1898.)
- 74) Bendix, Zur Chemie der Bakterien. (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXVII. 1901.)
- 75) Galeotti und Lustig, Versuche mit Pestschutzimpfungen bei Tieren. (Deutsche med. Wochenschr. 1897. No. 15 u. 19.) — Intorno l'azione del nucleoproteide estratto dai bacilli della pesta bubbonica, sul sistema circolatoria. (Lo sperimentale. 1898.)
- 76) Galeotti, G., Sul potere vaccinante dei nucleoproteidi estratti dagli organi di animali immunizzati. (Primo congresso dei Patologie italiani. Turin 1902.)
- 77) Tiberti, Ueber die immunisierende Wirkung des aus dem Milzbrandbacillus extrahierten Nucleoproteids. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904.)
- 78) Tavel, Krumbein und Glücksmann, Ueber Pestschutzmaßregeln. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XL. 1902.)
- 79) Schmitz, Untersuchungen über das nach der Lustigschen Methode bereitete Choleraserum. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LII. 1905.)
- 80) Blell, Experimentelles über Immunisierung mit Choleranucleoproteid. [Inaugural-Dissertation] 1906.
- 81) Wildbolz, déjà cité (No. 48. p. 38).
- 82) Brückner, J. et Cristéanu, C., Sur l'agglutination du gonocoque par un sérum spécifique. (Compt. rend. des séances de la Soc. de biol. 1906. No. 18.)
- 83) Radziewsky, A., Beitrag zur Kenntnis des Bacterium coli. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXXIV. 1900.)
- 84) Brückner et Cristéanu, Sur l'agglutination du méningocoque par un sérum gonococcique. (Compt. rend. des séances de la Soc. de biol. 1906. No. 19.)
- 85) Wassermann und Bruck, Med. Klinik. 1905. No. 55.
- 86) Kolle und Wassermann, Versuche zur Gewinnung und Wertbestimmung eines Meningokokkenserums. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 16.)
- 87) Müller und Oppenheim, Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 29.
- 88) Bruck, Ueber spezifische Immunkörper gegen Gonokokken. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 34.)

*Nachdruck verboten.*

## Bemerkungen über die Nomenklatur und Bestimmung der brasilianischen Tabaniden.

Von Dr. **Adolph Lutz**,

Direktor des staatlichen bakteriologischen Institutes in São Paulo, Brasilien.

Seit einer Reihe von Jahren befaße ich mich mit der Klassifikation der Tabaniden Brasiliens und einiger Nachbarländer und bin dabei auf bedeutende Schwierigkeiten gestoßen, die teils in der Natur des Gegenstandes, teils in Eigentümlichkeiten der darüber bereits vorliegenden Literatur begründet sind. Was den ersten Punkt anbetrifft, so wäre anzuführen, daß erstens die Zahl der ähnlichen Arten eine überaus große ist und deren Unterschiede oft nur an ganz perfekten Exemplaren hervortreten, welche indessen bei der großen Hinfälligkeit der Haarbekleidung selbst unter frisch gefangenen Exemplaren durchaus nicht die Regel bilden. Ungenügend ausgefärbte, abgeblaßte, abgeriebene und mit Blut gefüllte Exemplare können unter sich und perfekten Individuen gegenüber so verschieden erscheinen, daß sie kaum wiederzuerkennen sind. Dazu kommt noch ein, den Arten nach verschiedenes, oft ziemlich beträchtliches Maß individueller Variation, die sich selbst auf anatomische Merkmale erstrecken kann. Es wäre deswegen sehr wünschenswert, bei jedem Exemplare eine genaue Fundortsangabe zu haben, da die Kenntnis desselben nach einiger Erfahrung oft genügt, um verschiedene ähnliche Arten auszuschließen. Leider haben sich frühere Autoren von fundamentaler Bedeutung oft mit solch vagen Angaben, wie „Südamerika“, „Brasilien“, begnügt; nicht ganz selten ist der Fundort unsicher oder ganz unbekannt. Auch die höchst nötigen Abbildungen existieren nur in geringer Anzahl und es fehlt ganz an farbigen Tafeln; liegen dagegen selbst ganz einfache Zeichnungen und genauere Fundortsangaben vor, so wird die Aufgabe ganz ungemein erleichtert. Dasselbe ist natürlich der Fall, wenn die Typen vergleichbar sind; dieselben sind aber meist schon sehr alt und über die europäischen Museen zerstreut; einige befinden sich auch in den Vereinigten Staaten, während in Brasilien keine existieren; manche sind natürlich defekt und andere gar nicht mehr nachzuweisen. Auch sonst findet sich in den Museums-sammlungen ein Material, das zwar offenbar mit Fleiß gesammelt ist, aber zur Aufklärung nicht ausreicht, da manche Exemplare, darunter einige unbeschriebene Arten, gar nicht und andere zum Teil sicher unrichtig bestimmt sind.

Was nun die Literatur anbetrifft, so war es früher schon ziemlich schwer, auch nur die Titel der nötigen Quellen zu beschaffen. Heute findet sie der Leser leicht in dem vorzüglichen, 1900 erschienenen Kataloge von Kertész (Catalogus tabanidarum orbis terrarum universi. Budapestini 1900). Schwieriger ist es allerdings, außerhalb von wissenschaftlichen Bibliotheken die Bücher selbst aufzutreiben, da dieselben 25—100 Jahre alt und teilweise auch antiquarisch nicht zu beschaffen sind. Gelingt es aber, die Literatur zu erhalten, so findet man — trotzdem manche Autoren recht sorgfältig gearbeitet haben — die, meist nach einem oder wenigen, schon lange toten Exemplaren gemachten, Beschreibungen wenig befriedigend, da oft eine vollständige Identifikation, trotz weitgehender Uebereinstimmung, nicht zu erzielen ist, so daß man sich immer wieder

genötigt sieht, die über hundert zählenden Beschreibungen der einschlägigen Arten zu studieren und zu vergleichen. Es gibt zwar kurze Speciesdiagnosen, aber keine Schlüssel der vorhandenen Arten.

Durch ein längeres Studium gelingt es nun zwar, sich einigermaßen über die Herkunft der beschriebenen Arten zu orientieren; für den Anfänger ist dieses aber kaum möglich. Ich mache daher hier einige diesbezügliche Angaben, welche das Resultat längerer Studien sind.

Die Wiedemannschen Arten, welche mit „aus Brasilien“ bezeichnet sind, wurden fast ausnahmslos in den Staaten Rio de Janeiro und São Paulo wiedergefunden und kommen daher sicher aus den mittleren Staaten der brasilianischen Ostküste, wohl zumeist aus der Umgegend von Rio und den benachbarten Bergketten bei Petropolis und Neu-Freiburg. Cassapava in Brasilien ist wohl der in Rio Grande, nicht der in São Paulo gelegene Ort. Drei als von Montevideo angegebene Arten habe ich hier, zum Teil recht häufig, gefunden, während ich sie von dort nicht erhalten habe. (Daß er den Ort noch zu Brasilien rechnet, zeigt, daß Wiedemann vor 1828 schrieb.) Die aus Südamerika bezeichneten Species wurden nur teilweise in Brasilien gefunden, wobei es sich meist um Arten handelt, deren Verbreitungsgebiet über dieses Land hinausreicht. Wohl sicher aus dem Gebiete von Montevideo stammen die anderen von dort angeführten Arten, von denen indessen *Tabanus varius* auch in Rio Grande vorkommt. Ueberhaupt haben diese benachbarten Gebiete viele Arten gemeinsam, während einige Species sogar von Rio de Janeiro bis zur La Platamündung reichen.

Guérins beide Arten stammen fast sicher aus der nächsten Umgebung von Rio de Janeiro, wo sie mehrfach gefangen wurden, während andere Fundorte nicht bekannt sind.

Macquarts Arten sind in verschiedenen Teilen Brasiliens gesammelt und haben teilweise Angaben über den Fundort, die sich noch heute bewähren und sehr nützlich erweisen. Von den nicht näher bezeichneten und von mir wiedergefundenen Arten scheinen die meisten aus, von der Hauptstadt entfernten, Landesteilen herzuführen; von den anderen Species mögen manche aus dem Amazonasgebiete stammen. Die „du Cap“? bezeichneten *Tabanus macrodonta* und *fuscinevris* stimmen mit hiesigen Formen gut überein und sind zweifellos nicht afrikanisch.

Walkers Arten stammen wohl zum Teil aus der Umgegend von Rio de Janeiro, da sie daselbst und in São Paulo wiedergefunden wurden; namentlich gilt dies für einen Teil der „Diptera Saundersiana“. Der größte Teil stammt aber aus dem Amazonasgebiete; diese haben meistens genügende Fundortsangaben. Von den „aus Südamerika“ und „Fundort unbekannt“ bezeichneten sind einige brasilianisch.

Bigots Arten, die größtenteils nicht neu sind, stammen wohl alle aus der Umgegend von Rio und größtenteils aus dem Orgelgebirge, das heißt wohl aus der Umgegend von Theresopolis.

Auch die von Rondani als neu beschriebenen Arten stammen wohl alle aus den Staaten Rio de Janeiro und São Paulo.

Schiners Arten entsprechen ebenfalls diesen Staaten, soweit sie aus Brasilien stammen. Die „aus Südamerika“ bezeichneten wurden von mir größtenteils unter Arten aus Venezuela wiedergefunden.

Für die Vergleichung der Beschreibungen und Bestimmung der Arten mögen folgende Bemerkungen berücksichtigt werden:

Während im allgemeinen in der Systematik die Details der Färbung



und Zeichnung als weniger zuverlässig gelten, werden die anatomischen Merkmale als ziemlich beständig angesehen. Indessen finden sich bei den Tabaniden auch in Strukturverhältnissen ziemlich Schwankungen und zwar nicht nur bei Gattungen derselben Gruppe, sondern auch bei Individuen derselben Art. Auch kann derselbe Charakter, der in einer Gruppe ein gutes Speciesmerkmal abgibt, in einer anderen weniger brauchbar oder sogar ganz wertlos sein, so daß auch hier der Gegensatz von natürlichem und künstlichem Systeme sich geltend macht. Ich gehe nun noch etwas näher auf die Verwendung der einzelnen Merkmale ein:

Die Anwesenheit von Sporen an den Hinterschienen ist ein konstantes und gut verwertbares Kennzeichen, kommt aber mehreren, sonst nicht näher verwandten Gattungen, resp. Unterfamilien zu, die auch in der Form der Antennen, der Zeichnung der Augen und anderen Kennzeichen deutlich voneinander abweichen, während jede, einzeln für sich, ganz natürlich erscheint. Unter den ungespornten Tabaniden (*Tabaninae*) sind wieder durch die Bildung der Antennen, die Zeichnung der Augen und den allgemeinen Habitus einige sehr natürliche Gruppen auszu-sondern. Wenn bei solchen Formen das letzte Antennenglied deutlich gegabelt erscheint, so ist dieser, nahezu ausschließlich auf amerikanische Arten beschränkte, Charakter ebenso konstant wie wertvoll, und harmoniert auch mit anderen natürlichen Merkmalen. Ausnahmsweise findet sich aber die eine oder andere zugehörige Species, bei der der obere Zahn oder Dorn verhältnismäßig klein, schwach und kaum gebogen ist. Dies trifft z. B. bei dem sonst so natürlichen Genus *Acanthocera* zu und darf uns sicher nicht dazu verleiten, die betreffenden Arten auszuschließen. Im Innern derselben Art ist dieser Charakter nur geringen Schwankungen unterworfen, wohl noch am meisten bei *Dichelacera januarii* Wied.

Die Bildung der anderen Antennenglieder ist weniger wichtig, indessen doch gelegentlich als Kennzeichen verwertbar.

Die Färbung und Zeichnung der Augen ist, wo sie Eigentümlichkeiten aufweist, ein äußerst wertvoller Charakter, der eine sehr natürliche Gruppierung gestattet und absolut nicht vernachlässigt werden darf, trotzdem er bei alten Museumsexemplaren auch durch Aufweichen nicht mehr nachweisbar sein kann. Diese Kennzeichen sollten daher, wie bei Tierbälgen, durch eine Skizze oder kurze Beschreibung festgelegt werden, die an die Nadel selbst gesteckt werden kann. Uebrigens harmoniert dieser Charakter immer mit dem allgemeinen Habitus, so daß eine ernstliche Bestimmungsschwierigkeit durch sein Fehlen bei guten Exemplaren nicht entsteht. Individuelle Schwankungen desselben bewegen sich in engen Grenzen; wo sie einer ganzen Species zukommen, wirken sie keineswegs störend, sondern gestatten die Unterscheidung nahestehender Arten in leichter und sicherer Weise. — Die Behaarung der Augen ist oft sehr fein und ziemlich hinfällig und, wenn auch systematisch verwendbar, doch als Hauptcharakter ganz ungenügend.

Letzteres gilt auch von der Bildung der Stirnschwienel und Ocellenhöcker, soweit es sich nicht um sehr ausgeprägte Unterschiede handelt. Die Form der Stirne ist oft von derjenigen der Stirnschwiele abhängig und innerhalb der Species konstant, zuweilen auch als Gruppencharakter verwendbar. Dasselbe gilt von den Schwienel des Gesichts.

Der Gesamthabitus ist oft sehr charakteristisch und einzelne Genera lassen sich dadurch auf den ersten Blick erkennen. Dabei spielen in erster Linie die verschiedenen Proportionen eine Rolle, neben der auch die Hauptfarben und deren Anordnung zur Geltung kommen. Dabei

ist auch die Verdickung, Behaarung und Zeichnung einzelner Teile der Beine von Bedeutung und oft für kleinere Gruppen systematisch verwendbar. Von der Abreibung der Haare abgesehen, wird man diese Merkmale ziemlich konstant finden.

Das Flügelgeäder ist bei der ganzen Tabanidengruppe sehr gleichmäßig, von kleineren Schwankungen abgesehen. Letztere beziehen sich unter anderem auf die 1. und 4. Hinderrandszelle, die Bildung der ersteren ist nicht nur bei einzelnen Unterabteilungen verschieden, sondern sogar bei den Individuen bestimmter Arten eine schwankende. Von solchen Ausnahmen abgesehen, ist das Merkmal für die Beschreibung und Bestimmung ganz gut verwertbar, ein Verhältnis, das sich auch sonst in der Systematik der Tabaniden wiederholt. So gilt ungefähr dasselbe für den Aderstumpf, der sich von der 1. Zinke der Gabelader basalwärts erstreckt. Ist derselbe kurz, so kann man mit seiner Konstanz als Speciescharakter nicht rechnen und er kann sogar bei demselben Individuum auf der einen Seite vorhanden sein und auf der anderen fehlen. Ist er dagegen lang, so ist er (wenn auch nicht immer ganz gleich entwickelt) doch ziemlich konstant und für die Systematik verwendbar. Ein Anhängsel in der Discoidalzelle ist ein seltener, aber guter Charakter.

Als ganz seltene individuelle Variation beobachtete ich einmal das Fehlen eines Stückes aus der Kontinuität einer Längsader.

Die Länge der Rüsselscheide ist nur für grobe Unterschiede sicher verwendbar, da sie in verschiedener Länge ausstreckbar ist, was namentlich für die Pangonien mit kegelförmigem Gesichte gilt, wo sich das Hinterende in der Mundhöhle aufrollt. Schwankt auch scheinbar die Länge des Rüssels, so ist doch die Länge der Stechborsten eine konstante, wie schon Macquart angibt.

Die Gesamtlänge des Körpers ist, von kleinen Schwankungen abgesehen, für die Speciesdiagnose recht wertvoll. Ab und zu kommen, besonders bei einzelnen Arten, Riesen- und Zwergexemplare vor. So macht sich bei *Tabanus potato* Wied. ein auffallender Unterschied geltend, indem die Exemplare von São Paulo durchweg weit kleiner sind, als diejenigen von Petropolis und Theresopolis, welche letzteren Bigot unnötigerweise zwei neue Namen gegeben hat, weil kleine Unterschiede in der Stirnswiele existieren. Ueberhaupt sind einzelne Arten, und zwar besonders gemeine oder weit verbreitete, viel variabler als andere. Als Beispiele dafür wären besonders anzuführen: *Dichelacera januarii* Wied. und *Tabanus quadripunctatus* Fabr. Die sehr seltenen Männchen sind dagegen (vielleicht mit Ausnahme der Chrysopinen, von denen ich keine besitze), trotz abweichender Geschlechtscharaktere, fast immer den Weibchen so ähnlich, daß sie ohne besonderen Schlüssel zu bestimmen sind. Bei *Pangonia sorbens* haben die Männchen von São Paulo keinen kegelförmigen Gesichtsfortsatz, wie er den Weibchen eigentümlich ist; dagegen besitze ich ein sonst ganz übereinstimmendes Männchen aus Espirito Santo, bei dem er ganz deutlich vorhanden ist.

Die Flügelzeichnung besteht meist aus gelben, braunen oder schwarzen Flecken und Binden auf hellerem Grunde und ist im ganzen recht konstant, so daß sie zur Unterscheidung ähnlicher Arten dienen kann. Vereinzelt Ausnahmen kommen vor, z. B. bei *Dichelacera januarii*. Eine häufige und belanglose Variation ist die Aufhellung einzelner oder aller Zellen in der Art, daß die dunklen Zeichnungen nur die Adern als mehr oder weniger breite Säume begleiten, z. B. bei *D. januarii*, *Tabanus litigiosus* Walker und konstant bei der von Walker als *D. intereuns*

beschriebenen Art. Auch bei ganz verdunkelten Flügeln findet sich diese Abänderung, z. B. bei *Tabanus impressus* Wied., seltener bei *Pangonia venosa*, wo Wiedemann die Ausnahme als Hauptform beschrieb. Auch bei der ziemlich variablen *Pangonia fuscipennis* Wied. kommt sie vor, während bei *Pangonia lugubris* Macquart nur diese Form bekannt ist. (Beide Arten gehören übrigens zu einem anderen Genus.)

Wo die Flügelbasis eine besondere Färbung hat, kann die Ausdehnung derselben in einigen Fällen variieren; andererseits findet sich bei Chrysopinen auch eine mehr oder weniger intensive und ausgedehnte Verdunkelung der Flügelspitze mit dem Charakter einer bloßen Variation.

Die dunkle Säumung oder Schattierung der Queradern oder des distalen Endes einiger Längsadern ist, wenn ausgesprochen, ein wertvoller Charakter, der nicht übersehen werden darf und eine leichte Unterscheidung sonst sehr ähnlicher Arten gestattet. Ist die Schattierung wenig ausgebildet, so kann mit ihrer Konstanz nicht gerechnet werden, so z. B. bei *Tabanus mexicanus* L. und mehreren Pangonien. An der Zeichnung des Körpers beteiligen sich zwei Faktoren: die Färbung des chitinösen Untergrundes und das darüber liegende Haarkleid. Zwischen beiden besteht wohl öfters eine allgemeine Uebereinstimmung, indem sich hellere und dunklere Stellen entsprechen; doch sind die Zeichnungen auch dann durchaus nicht kongruent. In anderen Fällen stehen dunkle Haare auf hellem oder helle auf dunklem Grunde.

Beide Faktoren sind Schwankungen unterworfen; doch gilt dies namentlich für gewisse variable Arten, wie *T. quadrimaculatus* Fabr., während sie in anderen Fällen ziemlich konstant sind. Die größte Veränderlichkeit ist dadurch bedingt, daß das Haarkleid äußerst hingällig ist, wodurch einzelne Partien, je nachdem sie von Haaren bedeckt oder mehr oder weniger entblößt sind, ein außerordentlich wechselndes Aussehen darbieten. Beim Thorax kann man die unterliegenden Striemen durch die Behaarung erkennen, wenn man dieselbe mit Alkohol befeuchtet, was dem Exemplare nicht schadet. Andererseits kann man aus hellen Flecken in der dorsalen Mittellinie des abdominalen Chitinpanzers auf früher vorhandene helle Streifen oder Fleckenreihen schließen, von denen sich öfter unter dem Mikroskope noch einzelne hellgefärbte Haare zeigen. Manche sehr charakteristische Haarmakeln sind äußerst hingällig, wenn sie nicht sogar von vornherein fehlen; man kann dann oft viele Exemplare durchsuchen, bevor man ein vollständiges findet. Als Beispiele nenne ich *T. scutellatus* Macq. (ohne Fleck), von demselben Autor mit Fleck als *T. macula* beschrieben, ferner *Pangonia Beschii* Wied. und *T. macrodonta* Macq., welche eine dorsale Fleckenreihe haben.

Die Gesamtfärbung des Körpers kann eine hellere oder dunklere sein. Im letzteren Falle kann rot in rotbraun oder schwarz übergehen, sei es an Antennen und Extremitäten, sei es am Körper selbst. Die helle Farbe, wie sie an den Palpen, den Schwingern und einzelnen Partien der Schienen beobachtet wird, ist bald mehr weißlich, bald mehr gelb. Stirnschwielen erscheinen in manchen Arten bald hell rotbraun, bald kastanienbraun, bald schwarz. Die grüne Farbe mancher Arten verblaßt nicht nur leicht nach dem Tode, sondern zeigt sich auch während des Lebens in sehr verschiedener Ausdehnung. Bei jeder Art kommen gelegentlich unausgefärbte Exemplare zur Beobachtung; merkwürdigerweise bilden dieselben aber bei *Tabanus limpidapex* Wied. die Regel und nur ein kleiner Teil der erbeuteten Individuen zeigt die ganze Farbenpracht und unterscheidet sich auffallend von den anderen.

Im allgemeinen genügt es auch hier, die Möglichkeit solcher Variationen zu kennen, und kann man darauf rechnen, daß auffallende Differenzen, z. B. in der Färbung einzelner Fühler- oder Extremitätsenteile auch in den Variationen zur Geltung kommen. Es ist aber immer mißlich, eine Beschreibung oder Bestimmung nur mit einem Exemplare vorzunehmen, wo es sich um variable Arten handelt. Rechnet man noch dazu, daß, wie bereits erwähnt, durch schlechte Behandlung, Feuchtigkeit, Ausbleichen am Lichte, Einwirkung von Chemikalien und die Füllung des Magens mit Blut ganz auffallende Veränderungen herbeigeführt werden, daß z. B. total abgeriebene Exemplare mancher Arten kaum wiederzuerkennen sind, so wird man verstehen, warum man so oft bei Vergleichung eines Exemplares mit einer Beschreibung zu keinem sicheren Entschlusse gelangen kann.

Ich hoffe später einen Atlas der hiesigen Tabaniden mit farbigen Abbildungen sämtlicher Arten zu veröffentlichen, nachdem es mir gelungen ist, mit Hilfe eines sehr großen Materiales und mehrjähriger Studien den größten Teil der vorhandenen Beschreibungen zu identifizieren. Unterdessen möchte ich einen Teil der Schwierigkeiten wegräumen, indem ich eine Liste der von mir erkannten Synonymieen gebe. Es hat sich gezeigt, daß es selbst einem so guten Autor, wie Wiedemann, passiert ist, eine Tabanine als *Pangonia* oder dieselbe Art unter zwei Namen zu beschreiben und daß überhaupt eine große Zahl von Arten zwei oder mehrere Namen erhalten hat. Bei einzelnen Arten bedarf der Fundort der Richtigstellung.

Ich gebe nun eine Liste der Synonyma nach der Reihenfolge der Autoren. ? bedeutet, daß die Identität sehr wahrscheinlich, aber nicht sicher erwiesen, ?? daß sie unsicher ist (wegen einiger Abweichungen) und eine Untersuchung des Typus nötig wäre.

#### 1. Wiedemannsche Arten:

*Pangonia furcata* = *T. macrodonta* Macq., also keine *Pangonia*,  
*Tabanus apicalis* = *T. limpidapex* Wied., eine etwas variable Art,  
*T. albibarbis* = *T. sorbillans* mit abgeriebenen Flecken ?,  
*Haematopota coarctata* ist nicht das Männchen von *Extincta*, sondern eine gute Art aus meinem Gebiete. (*Extincta* findet sich bei Montevideo),  
*Silvius vulpes* und *Esenbeckii* gehören zum schlecht definierten Genus *Esenbeckia* Rondani = *Dyspangonia* Lutz. Aechte *Silvius*-Arten gibt es wohl in Brasilien nicht,  
*T. fervens*, *ferugatus*, *curvipes*, *bicinctus*, *glaber*, *bivittatus* gehören zu *Diachlorus*, *fumatus* aber nicht. *T. globicornis* gehört vielleicht zu *Bolbodimyia*, sonst in ein eigenes Genus.

#### 2. Von den Guérinschen Arten ist *thoracica* = *fulvithorax* Wied.

#### 3. Macquartsche Arten:

*Pangonia lingens* Wied. ♂ = *P. nigripennis* Guérin ♂,  
*P. fasciata* = *Silvius Esenbeckii* Wied. = *Esenbeckia pangonina* Rond.,  
*P. nigrivittata* = *P. marginalis* Wied. ?,  
*Silvius marginatus* (*Sylveirii*) = *Acanthocera coarctata* Wied.,  
*Diabasis ataenia* = *Diachlorus curvipes* F.,  
*T. clausus* = *T. fuscus* Wied. ? *T. sulphureus* = abgeblaßter *T. mexicanus* L.,  
*T. dorsovittatus* = *trilineatus* Latr. ?,  
*T. macula* = *scutellatus* ohne Fleck.

## 4. Walkersche Arten.

- Pangonia cornuta* = *Tabanus planiventris* Wied. (keine *Pangonia*),  
*P. piceohirta* ♂, *badia* ♂, *rufohirta* ♀ und *nigrohirta* ♀ sind lauter Exemplare von *P. nigripennis* Guérin (2 ♂, 2 ♀),  
*T. ferreus* = *Dichelacera rufipennis* Macq. ??,  
*T. confinis* = *T. taeniotes* Wied.,  
*T. primitivus* = *T. trivittatus* Latr.  
*T. lativitta* = kleines Exemplar von *T. obsoletus* Wied. ?,  
*Chrysops inornatus* = *Diachlorus bivittatus* F.,  
*Hadrus cyaneus* = *Selasoma tibiale* Wied. ?,  
*T. viridiflavus* = *T. mexicanus* L.,  
*T. pudens* = *occidentalis* Wied.,  
*T. subsenex* = *T. triangulum* Wied.,  
*T. manifestus* = dorsiger nach Schiners Beschreibung, *T. connexus* ditto ?,  
*T. honestus* = *fuscofasciatus* Macq. ?,  
*D. multifascia* = *cervicornis* Wied. ?,  
*D. praetereuns* = *fascipennis* Macq.,  
*D. vacillans* = *potator* Wied.,  
*D. sparsa* = *guttipennis* Wied.

## 5. Bigotsche Arten:

Die als *Mycteromyia* und *Atylotus* angeführten Arten entsprechen den Gattungen nicht; erstere weil sie behaarte Augen haben. *M. albarbis* scheint nur ausnahmsweise Aderanhängsel zu haben; von meinen vielen Exemplaren hat sie keines auf beiden Seiten.

- Dichelacera satanica* = *T. scutellatus* und *macula* Macq.,  
*D. castanea* = *rufipennis* Macq.,  
*D. albopicta* und *marmorata* = *T. potator* Wied.,  
*Atylotus aurisquammatum* = *T. unicolor* Wied.,  
*A. eutaeniatus* erinnert an *T. ditaenia* Wied. und *callicera* an *T. rubri-thorax* Macq.

## 6. Rondanische Arten:

- Tabanus brasiliensis* = *Dichelacera rufa* Macq. = *D. Januarii* Wied. var. ?,  
*T. punctum* = Varietät von *T. mexicanus* ??.

## 7. Schinersche Arten:

*T. histrio* ist eine Form aus Venezuela und von der Wiedemannschen verschieden.

## 8. Willistonsche Arten:

- Pangonia unicolor* Will. dürfte von Macquarts Species verschieden sein,  
*P. diaphana* Schiner stammt aus Columbien, nicht aus Chili,  
*Hadrus parvus* = *albipes* Macquart,  
*T. cyaneus* Wied. halte ich nicht für identisch mit *Selasoma tibiale*, sondern für eine ähnliche Art aus Queensland (Australien).

Das von Williston beobachtete *Stibasoma*-Männchen gehört zu einer neuen Art, die ich *Stibasoma willistonii* nenne und von der ich viele Weibchen besitze (aus Rio de Janeiro, São Paulo und Santa Catharina). Das Männchen von *thiotaenia* Wied. liegt mir vor und stimmt mit dem Weibchen, bis auf die Geschlechtsdifferenzen, überein. *Theotaenia* muß ein Druckfehler sein, es handelt sich um eine schwefelgelbe Binde, nicht um eine „Gottes“- oder „Götter“-Binde.

*Tabanus nigrum* ist eine Art vom Norden, die in Rio nicht vorkommt; in Rio findet sich eine Varietät von *Dichelacera januarii*, die

sich von der Beschreibung von *T. (Dichelacera) T. nigrum* wenig unterscheidet, obgleich sie in Wirklichkeit ganz verschieden ist.

#### 9. Ricardosche Arten:

Frl. Ricardo hat über die reiche Tabanidensammlung im British Museum eine Serie von Mitteilungen gemacht<sup>1)</sup>; in derselben finden sich einige neue Arten beschrieben. Es sind dieses *P. auripes*, *fulvotibialis* und *flavescens*; erstere beiden sind neu, die letztere vielleicht identisch mit *Esenbeckia (Silvius) vulpes* Wied. In der Sammlung finden sich noch zwei Species mit neuen Namen bezeichnet, nämlich: *Erephopsis* (irrtümlich *Erephrosis*) *fusca* und *Diatomineura seminigra*; ich halte dieselben für *winthemi* Wied. und *tabanipennis* Macq.

Dieselbe Autorin führt eine Reihe von Synonymen Walkers an, von deren Richtigkeit ich mich größtenteils durch eigene Ansicht überzeugt habe. Durch diesen wertvollen Beitrag wird wieder eine Anzahl von Schwierigkeiten aus der Welt geschafft. Ich gebe hier eine Liste im Zusammenhang.

*Chrysops convergens* und *approximans* = *Diachlorus ferrugatus*,

*Chrysops varipes* = *Diachlorus curvipes*,

*Chrysops inornatus* = *Diachlorus bivittatus* Wied.,

*Dichelacera fasciata* und *multifascia* = *D. cervicornis* Wied.,

*D. hinnulus* = *marginata* Macq.,

*Acanthocera marginalis* ist, wie ich bestätigen kann, verschieden von *extincta* und wird neu beschrieben.

Unter dem Namen *Pangonia basalis* Walker stecken, wie ich bestätige, zwei Species. Eine (vielleicht neu) stammt vom Amazonas; die andere ist *P. basilaris* Wied., wie ich mich überzeugen konnte und stammt wohl aus der Gegend von Rio de Janeiro.

Als Synonym wird noch angeführt: *T. Rondanii Bellardi* = *Diachlorus ferrugatus* und vermutungsweise *Chrysops oculatus* Bigot mit *molestus* Wied. Die Richtigkeit dieser Vermutung ergibt sich mir durch den Vergleich der Neubeschreibung Ricardos mit zahlreichen Exemplaren aus dem hiesigen Gebiete.

Da das Genus *Tabanus* der angeführten Sammlung noch nicht bearbeitet ist, dürfen wir noch manchen Aufschluß über die zugehörigen, namentlich Walkerschen Arten erwarten.

Ich gedenke diese Mitteilungen gelegentlich zu ergänzen.

Nachdruck verboten.

## Ueber die löslichen Giftstoffe der Ruhrbacillen.

[Aus dem bakteriologischen Institute in Kiew. Abteilung von Prof. W. Wysokowicz.]

Von Dr. B. Klein, Assistenten am Institut.

Conradi (1), Neisser und Shiga (2) haben zuerst gezeigt, daß es möglich ist, aus Dysenteriebacillen ein lösliches Gift darzustellen. Nach Neisser und Shiga wird dieses Gift aus den in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten und durch Erwärmung bei 60° getöteten Agarkulturen der Dysenteriebacillen, also auf einem künstlichen

1) S. Annales and Magazine of Natural History 1900—1905.

Wege gewonnen. Andererseits haben Rosenthal (3) und Todd (4) ein anderes, auf natürlichem Wege gewonnenes Gift, ein „Dysenterietoxin“, dargestellt, welches in 2—3 Wochen alten Bouillonkulturen zu konstatieren ist. Es wurden also aus ein und demselben Mikroorganismus zwei Gifte gewonnen: Das erste kann nach der Art seiner Entstehung als Endotoxin bezeichnet werden, das andere als Toxin (Exotoxin). Natürlich stellt sich dabei die Frage ein, ob diese Gifte nicht identisch sind.

Vom Jahre 1904 an haben wir uns im Laboratorium des Herrn Prof. W. Wysokowicz, dem wir die wissenschaftliche Leitung verdanken, mit der Gewinnung des Dysenterieserums beschäftigt, und einige Versuche zur Lösung dieser Frage angestellt. Die erhaltenen Resultate wurden Anfang vorigen Jahres in „Russkij Wracz“ veröffentlicht (5), und die in unserer Abhandlung beschriebenen Versuche berechtigten dazu, die Meinung zu äußern, daß es sich in den giftigen Bouillonfiltraten der Ruhrbacillen nicht um ein echtes Toxin, sondern vielmehr um ausgelaugte Bakterienkörper, also um ein Endotoxin handelt. Zu dieser Annahme führten die folgenden Versuche, welche hier kurz beschrieben seien<sup>1)</sup>.

Wir immunisierten ein Pferd mit den nach Neisser und Shiga hergestellten Extrakten und mit lebenden Bakterien und konnten dabei konstatieren, daß das erhaltene Serum neben agglutinierenden und schützenden Substanzen auch die Fähigkeit, die Gifte nach Neisser und Shiga zu neutralisieren, besaß.

Zur Gewinnung der Gifte nach Neisser und Shiga wurden Ruhrbacillen auf gewöhnlichem 2-proz. Agar in breiten Flaschen verimpft; 24—48-stündige Agarkulturen wurden mit Kochsalzlösung (0,7-proz.) abgespült (80 ccm pro Flasche, welche beinahe 8 Kulturen enthielt), und die Emulsion wurde 1 Stunde lang bei 60° erwärmt, dann im Brutschrank bei 37° 48 Stunden stehen gelassen und durch Chamberland-Filter (F) filtriert. Auf diese Weise wurden zu verschiedener Zeit Extrakte gewonnen, welche bei intravenöser Einspritzung von 0,1—0,5 ccm Kaninchen zu töten im stande waren. Nach den Einspritzungen wurden die Tiere matt, bekamen Lähmungen und gingen nach 2—3 Tagen ein. Der Gang der Immunisierung ist aus dem Folgenden ersichtlich:

Pferd 1. Vom 6. März bis 25. Mai 1904 bekam dasselbe subkutan steigende Mengen von Extrakten nach Neisser und Shiga (von 1 bis 20 ccm, im ganzen 126 ccm). Die Temperaturschwankungen waren 38,3—38,9°, bisweilen 39°. An der Injektionsstelle zuerst kleineres, dann ausgedehntes Oedem. Agglutination nach dieser Behandlung 1:100. Vom 25. Mai bis 2. Juli intravenöse Einspritzungen abwechselnd bald mit lebenden Bakterien (bis 7 ccm), bald mit Extrakten. Temperatursteigerung nach den Einspritzungen von Bakterien 37,6—38,7°, bisweilen 39—39,7°.

Das Serum dieses Pferdes besaß nach der letzten Einspritzung die folgenden Eigenschaften: Agglutination 1:1000. 0,02 ccm dieses Serums neutralisierten die 10-fache tödliche Dosis der Extrakte nach Neisser und Shiga (0,1 ccm) bei intravenöser Einspritzung des Gemisches. Die schützende Kraft des Serums wurde damit bewiesen, daß 1 ccm des Serums, intravenös injiziert, Kaninchen vor einer gleichzeitigen Infizierung mit 2 Oesen lebender Ruhrbacillen zu schützen vermochte.

1) Diese Versuche sind in unserer russischen Arbeit ausführlich beschrieben.

Außerdem haben wir Pferde nach der Methode von Gabri-tschewsky-Rosenthal abwechselnd bald mit Bouillonfiltraten, bald mit lebenden Bakterien (intravenös) immunisiert, und wir konnten bemerken, daß 0,01 ccm des erhaltenen Heilserums die 10-fache tödliche Dosis der Extrakte nach Neisser und Shiga (sowie der giftigen Bouillonfiltrate) bei intravenöser Einspritzung zu neutralisieren vermochte (6).

Mit einem ähnlichen Antidysenterieserum ist es auch Besredka (7) gelungen, ein Endotoxin zu neutralisieren, welches aus getrockneten und mit Kochsalzlösung (in substantia) zerriebenen Agarkulturen der Ruhrbacillen erhalten wurde.

Im Jahre 1906 stellten wir eine Reihe von Versuchen an, welche den endotoxischen Charakter des sogenannten „Dysenterietoxins“ bestätigen dürften. Der Versuchsplan war der folgende: 1) ein rein antitoxisches Serum mittels Einspritzungen ausschließlich von Bouillonfiltraten der Ruhrbacillen zu gewinnen; 2) zwei kräftige Giftstoffe — ein Bouillonfiltrat und ein reines Endotoxin — zu gewinnen und vergleichende Versuche über ihre Giftigkeit anzustellen; 3) das Neutralisierungsvermögen des gewonnenen antitoxischen Serums gegen das Bouillonfiltrat und Endotoxin zu prüfen. Ein Pferd wurde ausschließlich mit Bouillonfiltraten von 14—20 Tage alten Bouillonkulturen des Dysenteriebacillus immunisiert, und im Sommer 1906 besaßen wir ein rein antitoxisches Serum, von welchem 0,01—0,02 ccm (bei verschiedenen Aderlässen) die 10-fache tödliche Dosis des Bouillonfiltrates zu neutralisieren vermochten. Als Kontrolltoxin diente ein Filtrat einer 14 Tage alten Bouillonkultur in Martinscher Bouillon, welches in der Dosis von 0,03 ccm bei intravenöser Einspritzung Kaninchen zu töten vermochte.

Was das Endotoxin betrifft, so können die nach Neisser und Shiga hergestellten Extrakte nicht für ein reines Endotoxin gehalten werden; in den Aufschwemmungen von 20—24 Stunden alten Agarkulturen handelt es sich nicht um bloße Bakterienleiber, sondern auch um lösliche Gifte, welche, obgleich in relativ unbedeutender Menge, doch schon in jungen Kulturen vorhanden sind. Wir beobachteten, daß Filtrate aus 20-stündigen Agarkulturen schon in der Dosis von 2—4 ccm Kaninchen zu töten im stande waren (bei intravenöser Einspritzung); die Kaninchen bekamen Lähmungen und verendeten nach 2—3 Tagen; bei der Sektion wurden die Organe und das Blut steril gefunden.

Um reine Bakterienleiber zu erhalten, müssen die Bakterien gut von den löslichen Giften abgewaschen werden. Das wurde durch zweimaliges Zentrifugieren und Auswaschen mit physiologischer Kochsalzlösung erzielt. Nach dem Zentrifugieren wurde die letzte klare Flüssigkeit von 4 Agarkulturen abpipettiert und einem Kaninchen intravenös eingespritzt; das Kaninchen blieb leben und zeigte keine Krankheitserscheinungen. Die reinen Bakterienleiber in der Menge von 14 Agarkulturen wurden mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, bei 60° 1½ Stunden lang abgetötet und im Brutschranke 48 Stunden stehen gelassen und dann durch Chamberland-Filter filtriert. Wir erhielten auf diesem Wege ein kräftiges Endotoxin. Die Giftigkeit dieses Endotoxins ist hier mit derjenigen des Bouillonfiltrates zusammengestellt:



Endotoxin.	Exotoxin (Bouillonfiltrat).
<b>Kaninchen 1.</b> 1105 g. 25. Nov. 0,2 ccm intravenös. 26. Nov. tot. Obduktion: Der Dünn- und Dickdarm normal, keine Hyperämie, im Rectum geballter Kot. Organe und Blut steril.	—
<b>Kaninchen 2.</b> 1055 g. 25. Nov. 0,1 ccm intravenös. 26. Nov. Lähmungen und Tod, keine Diarrhöe. Obduktion: Wie bei Kaninchen 1. Organe und Blut steril.	—
<b>Kaninchen 3.</b> 1150 g. 25. Nov. 0,05 ccm intravenös. 26. Nov. tot. Obduktion: Der Dick- und Dünndarm stark aufgebläht, im Rectum geballter Kot. Organe und Blut steril.	<b>Kaninchen 7.</b> 1115 g. 25. Nov. 0,05 ccm intravenös. 26. Nov. Lähmungen und Tod. Obduktion: Der Dickdarm aufgebläht, der Dünndarm hyperämisiert. Organe und Blut steril.
<b>Kaninchen 4.</b> 1055 g. 27. Nov. 0,03 ccm intravenös. 28. Nov. Mattigkeit und Lähmungen, kein Durchfall, Tod nach 28—30 Stunden. Obduktion: Der Dickdarm aufgebläht, der Dünndarm schwach hyperämisiert. Organe und Blut steril.	<b>Kaninchen 8.</b> 1300 g. 28. Nov. 0,03 ccm intravenös. 29. Nov. Mattigkeit, Parese, kein Durchfall. 30. Nov. tot. Obduktion: Der Dickdarm aufgebläht, keine Hyperämie. Im Rectum gut geballter Kot.
<b>Kaninchen 5.</b> 1450 g. 1. Dez. 0,02 ccm intravenös. 2. Dez. gesund. 3. Dez. Lähmungen und Tod, keine Durchfälle. Obduktion: Der Dickdarm normal, der Dünndarm schwach hyperämisiert. Im blassen Rectum gut geballter Kot.	<b>Kaninchen 9.</b> 1120 g. 38. Nov. 0,02 ccm intravenös. 1. Dez. gesund. 2. „ „ 3. „ „ matt, Parese. 6. „ „ gesund.
<b>Kaninchen 6.</b> 1020 g. 1. Dez. 0,01 ccm intravenös. 2. Dez. gesund. 3. „ „ 5. „ „ leichte Parese. 6. „ „ gesund. Blieb leben.	—

Die einzig konstanten Krankheitssymptome, die sich bei den intravenösen Einspritzungen des Endotoxins sowie des Bouillonfiltrates zeigten, waren Lähmungen. Zur Serumgewinnung von Pferden wurden im bakteriologischen Institute in Kiew während 3 Jahren mehr als 30 Kaninchen mit verschiedenen Dosen des Bouillonfiltrates der Ruhrbacillen intravenös infiziert, und die Krankheitssymptome sowie der Obduktionsbefund waren immer dieselben. Bei der Obduktion konnten nur selten Hyperämie des Dick- oder Dünndarmes konstatiert werden, sonst waren keine bedeutenden Aenderungen zu bemerken; nicht selten waren der Dick- und Dünndarm blaß, und im Rectum fand sich gut geballter Kot. Es konnte also kein nennenswerter Unterschied zwischen dem Krankheitsbilde und dem Obduktionsbefunde einerseits bei den mit Bouillonfiltraten, andererseits bei den mit Endotoxin infizierten Tieren konstatiert werden.

Unsere anderen Versuche bestanden darin, daß das oben erwähnte rein antitoxische, durch Einspritzungen von Bouillonfiltraten gewonnene Serum gegen das Bouillonfiltrat und Endotoxin geprüft wurde. Es wurden

die 10-fachen tödlichen Dosen des Bouillonfiltrates oder Endotoxins mit verschiedenen Serumengen versetzt und Kaninchen intravenös eingespritzt. Die Resultate sind aus dem Folgenden ersichtlich:

Endotoxin.	Exotoxin (Bouillonfiltrat).
Kaninchen 8. 1120 g. 30. Nov. 0,2 ccm (die 10-fache tödliche Dosis) des Endotoxins mit 0,04 ccm des antitoxischen Ruhrserums gemischt, 1 Stunde bei Zimmertemperatur gehalten und dann intravenös injiziert.	—
1. Dez. gesund. 1030 g.	
2. " " 965 "	
4. " " 990 "	
9. " " Blieb leben.	
Kaninchen 9. 1230 g. 4. Dez. 0,2 ccm des Endotoxins mit 0,03 ccm des antitoxischen Serums gemischt, 1 Stunde bei Zimmertemperatur gehalten und dann intravenös injiziert.	—
5. Dez. gesund. 1190 g.	
6. " " 1155 "	
9. " " 1140 "	
10. " " 1100 "	
Blieb leben.	
Kaninchen 10. 1230 g. 4. Dez. 0,2 ccm des Endotoxins mit 0,02 ccm des antitoxischen Serums gemischt und intravenös injiziert.	Kaninchen 11. 1230 g. 4. Dez. 0,3 ccm des Bouillonfiltrates (die 10-fache tödliche Dosis) mit 0,02 ccm des antitoxischen Serums gemischt und intravenös injiziert.
5. Dez. gesund. 1170 g.	5. Dez. gesund. 1170 g.
7. " " 1150 "	7. " " 1120 "
10. " " 1120 "	10. " " 1135 "
Blieb leben.	Blieb leben.

Auf der Titergrenze des Serums haben wir diesmal keine konstanten Resultate erhalten können: Von 2 Kaninchen, welche intravenös ein Gemisch von 0,2 ccm (die 10-fache tödliche Dosis) des Endotoxins mit 0,01 des Serums bekamen, ist nur eines leben geblieben; von 3 Kaninchen, welche intravenös ein Gemisch von 0,3 ccm (die 10-fache tödliche Dosis) des Bouillonfiltrates mit 0,01 ccm des Serums bekamen, sind zwei leben geblieben.

Es zeigte sich also bei diesen Versuchen, daß 0,04, 0,03, 0,02 ccm des antitoxischen Serums die 10-fache tödliche Dosis des Endotoxins zu neutralisieren vermochten; andererseits betrug die sichere Dosis, in welcher das Serum das Bouillonfiltrat neutralisierte, 0,02 ccm (0,01 ccm?). Jedenfalls halten wir diese Versuche noch nicht für abgeschlossen; es werden von uns jetzt genauere quantitative Bestimmungen des neutralisierenden Vermögens des Serums gegen das Bouillonfiltrat und Endotoxin bis zur Titergrenze mit Tieren von gleichem Gewicht unternommen, und selbstverständlich bleibt die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß bei genaueren Versuchen sich irgendwelche Differenzen zeigen können. Aber in groben Zügen war bei unseren Vorversuchen eine Uebereinstimmung zwischen dem Neutralisierungsvermögen des mittels Einspritzungen von Bouillonfiltraten gewonnenen Serums gegen das Bouillonfiltrat einerseits und gegen das Endotoxin andererseits zu bemerken.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit begründen Kraus und Dörr (8) die ganze Serumtherapie bei der Ruhr auf die antitoxischen Eigenschaften des Serums und nehmen an, daß die Ruhrbacillen ein

echtes Toxin in Bouillon zu sezernieren im stande sind. Die oben angeführten Versuche zeigen, daß ein mittels Einspritzungen von Bouillonfiltraten gewonnenes Serum ein hohes Neutralisierungsvermögen auch gegen das Endotoxin besitzt; es handelt sich also in den Bouillonfiltraten in erster Linie um ausgelaugte Bakterienleiber, um ein Endotoxin. Was die löslichen Gifte anbelangt, welche sich in jungen Agarkulturen, nach den Beobachtungen von Kraus und Dörr und unseren, vorfinden, so bleibt die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß auch in diesen Kulturen genug tote und ausgelaugte Bakterienkörper vorhanden sind, um die Giftigkeit der Filtrate in großen Dosen (2—4 ccm) zu erklären.

Zwischen den giftigen Bouillonfiltraten und denjenigen Giften, welche nach der Art ihrer Herstellung als Endotoxin bezeichnet werden können (die Extrakte nach Neisser und Shiga, die Extrakte aus ausgewaschenen und getöteten Bakterienleibern), zeigt sich also eine Uebereinstimmung in folgenden Punkten: 1) eine hohe Giftigkeit für Kaninchen in beinahe denselben Dosen (0,02—0,03 ccm); 2) ähnliche Krankheitssymptome (Mattigkeit und Lähmungen) und Obduktionsbefund; 3) die Möglichkeit, durch Einspritzungen von Extrakten nach Neisser und Shiga (abwechselnd mit lebenden Bakterien) ein agglutinierendes, schützendes und antitoxisches Serum herzustellen; 4) das Neutralisierungsvermögen eines mittels Einspritzungen von giftigen Bouillonfiltraten gewonnenen Serums gegen das aus ausgewaschenen und dann getöteten Bakterien gewonnene Endotoxin. Alles zusammen führt zu der Annahme, daß die ausgelaugten Bakterienkörper (Endotoxine) eine wichtige Rolle bei der Erzeugung des antitoxischen Dysenterieserums spielen, und daß den Endotoxinen der Ruhrbacillen eine ganz sonderbare Stelle zwischen den schon bekannten Endotoxinen (Typhus, Cholera) gehört; von diesen letzteren unterscheidet sich das Dysenterieendotoxin dadurch, daß es im Tierkörper ein antitoxisches Serum wie die echten Toxine (Diphtherie, Tetanus) zu erzeugen im stande ist.

#### Literatur.

- 1) Conradi, Ueber lösliche durch aseptische Autolyse erhaltene Giftstoffe von Ruhr- und Typhusbacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 2.)
- 2) Neisser und Shiga, Ueber freie Rezeptoren von Typhus- und Dysenteriebacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.)
- 3) Rosenthal, Das Dysenterietoxin (auf natürlichem Wege gewonnen). (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 7.)  
— —, Aetiologie und Serumtherapie der Ruhr. [Russisch.] Moskau 1904.
- 4) Zitiert nach Rosenthal.
- 5) Klein, Zur Frage über die Immunisierung gegen die Ruhr. (Russkij Wracz. 1906. No. 4.)
- 6) — —, Ibidem.
- 7) Besredka, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1906. No. 4.
- 8) Kraus und Dörr, Die experimentelle Grundlage einer antitoxischen Therapie der bacillären Dysenterie. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LV. Heft 1.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Hämotoxine des Milzbrandbacillus und verwandter Bakterien.

[Aus dem pathol.-anat. Institut in Wien. Vorst.: Prof. Weichselbaum.]

Von Dr. **Hans Heyrovsky** und Dr. **Karl Landsteiner**.

Aus begrifflichen Gründen wurde viele Mühe darauf verwendet, Toxine des Milzbrandbacillus aufzufinden. Diese Bestrebungen waren bisher, was eigentliche Toxine anbelangt, ohne Erfolg, da eine Anzahl von angeblich gefundenen toxischen Wirkungen von Milzbrandkulturen und daraus hergestellten Präparaten, bei der Nachprüfung der Angaben nicht wieder beobachtet werden konnten. Die Literatur des Gegenstandes findet sich bis zum Jahre 1899 bei Conradi<sup>1)</sup> gesammelt.

Ein gewisser Fortschritt in dieser Frage ist darin zu sehen, wenn es gelingt, Hämotoxine nachzuweisen, da angesichts der Beziehung dieser Stoffe zu den übrigen Toxinen daraus möglicherweise Anhaltspunkte für die Beurteilung der Toxinbildung überhaupt erhalten werden könnten. Es sind nun die Mitteilungen über die Produktion von Hämotoxinen durch den Milzbrandbacillus nicht übereinstimmend.

Positive Angaben machte Casagrandi<sup>2)</sup>. Er fand, daß Chamberland-Filtrate von Bouillonkulturen (37° C) des Milzbrandbacillus nach 3—8 Tagen geringe hämolytische Wirkung auf Kaninchenblut zeigen. Ueber die Alkaleszenz der Bouillon und das verwendete Pepton macht Casagrandi keine Angaben. Casagrandi versuchte ferner aus den Bacillenleibern von Agarkulturen auf verschiedene Weise, durch Extraktion der zerriebenen Bacillen mit Kochsalzlösung, Lösungen von Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ferner durch Auspressen mit der Buchnerschen Presse und andere kompliziertere Methoden ein Hämolsin zu gewinnen ohne aber auf diese Weise zum Ziele zu kommen.

Ebenso blieb der Versuch, statt Bouillon andere Nährböden, z. B. serumhaltige, anzuwenden, ohne Erfolg. Auch Extrakte der Organe von mit Milzbrand infizierten Kaninchen, sowie deren Oedem- und Peritonealflüssigkeit hatten keine hämolytische Wirkung auf das Kaninchenblut. Hingegen soll, wie Casagrandi meint, der Kochsalzextrakt der Milz der infizierten, aber auch gesunden Kaninchen eine lösende Wirkung auf die Blutkörperchen milzbrandkranker Tiere haben, wenn die Infektion mindestens 18 Stunden alt ist, nicht aber auf normales Kaninchenblut<sup>3)</sup>.

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. 1899. Vergl. ferner Boidin, Thèse de Paris. 1906.

2) Annali d'igiene sperimentale. Vol. XII. Fasc. 4.

3) Diese Effekte könnten wohl darauf beruhen, daß den Milzextrakten ein hämolytisches und autolytisches Vermögen zukommen kann (Tarassevich, Korschun und Morgenroth, Donath und Landsteiner), und daß diese Wirkung begrifflicherweise bei geschädigten Blutkörperchen eine intensivere ist. Wenn nun ein von Casagrandi erhaltenes Immuserum (genauere Angaben über dessen Wirkungen fehlen) zwar das Hämotoxin der Bouillonkulturen, nicht aber die beschriebene Hämolyse durch Milzextrakt hemmt, so ist das nicht merkwürdig, weil das Toxin schon an die Blutkörperchen gebunden sein kann (s. u.); es beweist aber keineswegs, daß, wie C. daraus schließt, die hämolytische Substanz der Bouillonkulturen nichts mit der Hämolyse im infizierten Organismus zu tun hat. Demnach scheint uns die Beurteilung der Versuche v. Wunschheims im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (I. Ergänzungsband p. 34. Fischer, Jena) nicht zutreffend.

Diese hämolytische Wirkung soll nach Casagrandi keine Beziehung zu dem Hämolysin der Bouillonkulturen haben.

Wunschheim<sup>1)</sup> führte eine sorgfältige Untersuchung über die durch Milzbrandbacillen hervorgerufenen hämolytischen Vorgänge aus. Er fand, daß das Serum von an Milzbrandinfektion zu Grunde gegangenen Kaninchen häufig durch partielle Lösung der Blutkörperchen intensiv gerötet ist und er konnte die Erscheinung auch dann beobachten, wenn das Blut unmittelbar nach dem Tode entnommen wurde. Nimmt man die Blutprobe in den letzten Stunden vor dem Tode, so ist das Serum nicht rot, wird es aber beim Aufbewahren der Probe, ein Effekt, den Wunschheim wohl mit Recht darauf bezieht, daß das Toxin an die Blutkörperchen gebunden ist.

Wunschheim schließt aus seinen Versuchen, daß während der Infektion ein Lysin im Tierkörper von den Bacillen gebildet wurde.

Beim Wachstum von Milzbrandbacillen in Bouillon, der Blut zugesetzt war, beobachtete Wunschheim ähnlich wie Sobernheim, allerdings nicht konstant Erscheinungen von Hämolyse.

Eine hämolytische Wirkung bakterienfreier Kulturflüssigkeiten erhielt Wunschheim ausnahmsweise und in geringem Grade, und zwar bei 8—15 Tagen alten Kulturen. Eine einige Male auftretende Lösung unter schokoladenbrauner Verfärbung bezieht Wunschheim selbst mit Recht nicht auf ein Hämotoxin. Bezüglich des Einflusses der Alkalinität des Nährbodens auf die Lysinproduktion kam Wunschheim zu keinem eindeutigen Resultate.

Die angeführten, zum Teil widersprechenden Angaben lassen erkennen, daß die zur Herstellung des Anthraxlysin nötigen Bedingungen noch nicht genügend aufgeklärt sind. Wie die folgenden Versuche zeigen werden, läßt sich nur bei Berücksichtigung gewisser Kautelen das Hämotoxin mit hinreichender Sicherheit herstellen und untersuchen.

## I.

Da wir mit der gewöhnlich gebrauchten Nährbouillon keine hämolytisch wirkenden keimfreien Kulturflüssigkeiten erhielten, trotz Variationen der Temperatur, der Wachstumsdauer und der Alkaleszenz, so suchten wir in der Meinung, daß sich in der Bouillon eine störende Substanz befinde, nach anderen geeigneteren Nährmedien. Ein solches fanden wir zunächst in einer Nutrosebouillon von folgender Zusammensetzung: Fleischwasser, 0,5 Proz. Kochsalz, 1 Proz. Nutrose. Der Nährboden ist trübe. Alkaligehalt: 10—25 ccm Normalnatronlauge auf 1 l des Nährbodens. Vom Bodensatz wird nach dem Sterilisieren abgossen<sup>2)</sup>.

Wirklich konnten wir mit Hilfe eines derartig hergestellten Hämolytins nachweisen, daß das Wittesche Pepton unserer Bouillon die Wirkung des Hämotoxins beeinträchtigte. Eine ähnliche antihämolytische Wirkung hat Madsen für das Tetanolysin beschrieben und auch festgestellt, daß das Peptonpräparat von Chapoteaut der hemmenden Eigenschaft entbehre<sup>3)</sup>. Auch beim Anthraxlysin zeigte sich diese Dif-

1) Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. p. 185.

2) Man achte auf etwa in der Nutrose vorkommende resistente Sporen von Hämolyysin produzierenden Bacillen.

3) Nach Madsen und Walbum (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 409) sind es ätherlösliche Bestandteile des Witteschen Pepton, die auf das Tetanolysin einwirken; welcher Art die Substanzen sind, die in dem vorliegenden Fall die

ferenz im Verhalten der beiden Peptonpräparate und es erwies sich eine Bouillon von der folgenden Zusammensetzung als eine geeignete Nährlösung zur Herstellung des Hämotoxins, die wir gewöhnlich verwendeten. Fleischwasser, 0,5 Proz. Kochsalz, Chapoteaut-Pepton  $\frac{1}{4}$  oder  $\frac{1}{8}$  Proz. (Diese geringen Peptonkonzentrationen schienen uns für die Produktion des Lysins günstig zu sein.)

Einer besonderen Beachtung bedarf die Alkaleszenz des Nährbodens. Der Einfluß der Alkaleszenz wird durch folgende Tabelle I illustriert.

Tabelle I.

Kubikcentimeter normale Natronlauge auf 100 ccm einer $\frac{1}{8}$ -proz. Chapoteaut-Bouillon	Hämolyse <sup>1)</sup> der zentrif. Flüssigkeit nach 24-stünd. Wachstum des Anthraxbacillus
1,0	ϕ
1,1	Spur
1,2	ϕ
1,3	Spur
1,4	ϕ
1,5	ϕ
1,6	Spur
1,7	schwach
1,8	deutlich
1,9	ϕ
2,0	deutlich
2,1	stark
2,2	deutlich
2,3	stark
2,4	stark
2,5	stark
2,6	stark
2,7	schwach
2,8	Spur
2,9	deutlich

Die Wirkung des Witteschen Peptons auf das Hämotoxin ergibt sich aus folgenden Versuchen (Tabelle II).

Da der notwendige Alkaligehalt vielleicht je nach dem Nährmaterial variiert, so haben wir es in der Regel für zweckmäßig gefunden, im Bereiche der ungefähr entsprechenden Alkaleszenz eine Reihe von Nährlösungen mit feiner Abstufung des Alkalizusatzes herzustellen. Was die Dauer des Wachstums in den bei etwa 35° C gehaltenen Eprouvetten anlangt, so haben wir meistens Hämotoxine benützt, die aus 24 bis 48 Stunden alten Kulturen bereitet waren, da bei längerer Wachstumsdauer der Hämotoxingehalt nicht zunimmt und in alten Kulturen nach unseren Beobachtungen schwindet, auch dann, wenn noch Wachstum stattfindet (Alkaleszenzveränderung?).

Nach diesen Angaben wird es ohne Schwierigkeit gelingen, wirksame Flüssigkeiten zu erhalten, namentlich wenn man die Bakterien nicht durch Filtrieren, sondern durch Zentrifugieren entfernt. Die hämolytische Wirkung erreicht keine hohen Grade, da ein Volumen des keimfreien Filtrates höchstens ein gleiches Volumen einer gewaschenen 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung löst.

Hemmung bewirken, wurde noch nicht untersucht (vergl. über hemmende Wirkungen von Peptonen gegenüber der Agglutination Landsteiner, Centralbl. f. Physiol. Bd. XX. No. 24.)

1) Lysin 1 ccm + 1 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung von gewaschenen Kaninchenblutkörperchen. Ablesung nach  $\frac{1}{2}$  Stunde 37° C und 24 Stunden Eiskasten.

Tabelle II.

Anthraxlysin 0,9 ccm (1/4-proz. Nurosebouillon 6×24 Stunden alte Kultur zentrifugiert)	+ 0,1 ccm NaCl 1%	Pepton Witte				Pepton Chapoteaut			
		+ 0,1 ccm 10-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 1-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 0,1-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 0,01-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 10-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 1-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 0,1-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 0,01-proz. Lösung
Hämolyse (1 ccm 5-proz. gewaschener Kaninchenblut- aufschwemmung.)	stark	⊕	⊕	schwach	stark	stark	stark	stark	stark

Anthraxlysin 0,9 ccm (1/4-proz. Chapoteaut- Bouillonkultur- filtrat)	+ 0,1 ccm NaCl 1%	Pepton Witte				Pepton Chapoteaut					
		+ 0,1 ccm 10-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 1-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 0,1-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 0,01-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 10-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 1-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 0,1-proz. Lösung	+ 0,1 ccm 0,01-proz. Lösung		
Hämolyse (1 ccm 5-proz. gewaschener Kaninchenblut- aufschwemmung.)	deutl.	⊕	⊕	schwach	schwach	schwach	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.

Tabelle III.

5 Teile Anthraxlysin + 5 Teile 5-proz. Blut- aufschwemmung von	Lyse	Kontrolle inaktiv
Kaninchen	stark	⊕
Meerschweinchen	schwach	⊕
Maus	schwach	⊕
Rind	deutlich	⊕
Mensch	stark	⊕

Tabelle IV.

Inaktivierung des Anthraxlysin durch Erwärmen.

	Aktiv Lyse 1)	Erwärmt		
		Zeit	Temp.	Lyse
Zentrifugat einer 24-stünd. 1/8-proz. Chapoteaut- Bouillonkultur	stark	2 Std.	37° C	deutlich
		1/4 "	46° C	⊕
Pukall-Filtrat einer 24-stünd. 1/8-proz. Chapoteaut- Bouillonkultur	deutlich	2 "	37° C	schwach
Filtrat einer 3×24-stünd. 1/4-proz. Chapoteaut- Bouillonkultur	deutlich	5 Min.	45° C	schwach
		10 "	45° C	⊕
		20 "	45° C	⊕
Zentrifugat einer 5×24-stünd. 1/4-proz. Chapoteaut- Bouillonkultur	stark	10 "	50° C	⊕
		25 "	50° C	⊕
		40 "	50° C	⊕
Zentrifugat einer 6×24-stünd. 1/4-proz. Chapoteaut- Bouillonkultur	fast komplet	15 "	45° C	Spur
		60 "	45° C	⊕
		90 "	45° C	⊕

1) 1 ccm Lysin + 1 ccm einer 5-proz. gewaschenen Kaninchenblutaufschwemmung.

Die Wirkung des Lysins auf verschiedene Blutarten zeigt die Tabelle III.

Das Hämotoxin des Anthraxbacillus ist in hohem Grade thermolabil, wie die vorstehenden Versuche lehren (Tabelle IV).

Es ist demnach sehr wahrscheinlich, daß das in den Kulturflüssigkeiten gefundene Hämolsin nur den Rest einer viel größeren im ganzen gebildeten Menge darstellt.

Bemerkenswert ist die Empfindlichkeit des Hämolsins gegen das Cholesterin, die so groß ist, daß sie der des Tetanolysins an die Seite zu stellen ist (Tabelle V).

Tabelle V.  
Einwirkung von Cholesterin auf Anthrax- und Subtilisysin.

Lysin	Zusatz von 0,1 ccm		Lyse <sup>1)</sup>
Anthrax 0,9 ccm	NaCl	1-proz.	stark
	Cholesterinaufschwemmung	1-prom.	+
		0,1-prom.	+
		0,01-prom.	+
		0,001-prom.	+
		0,0001-prom.	+
0,00001-prom.		deutlich stark	
Subtilis 0,9 ccm	NaCl	1-proz.	komplett
	Cholesterinaufschwemmung	0,0001-prom.	deutlich
		0,00001-prom.	deutlich
		0,000001-prom.	sehr stark
		0,0000001-prom.	fast komplett
		0,00000001-prom.	komplett

Gleichzeitig mit der Untersuchung des Anthraxlysins haben wir Hämolsine einiger nicht pathogenen Bakterien der Anthraxgruppe hergestellt und zwar des *Bac. subtilis* (Institutssammlung), *mycoides* (bezogen von Král), *Bac. megatherium* (von Král).

Das kulturelle Verhalten dieser Stämme war folgendes:

*Bac. subtilis*: Agar (schief): Saftiger weißer Belag mit gelapptem irisierendem Rand.

Bouillon: Leichte Trübung, später Häutchenbildung an der Oberfläche der Bouillon. Weißlicher, aus Häutchen bestehender Bodensatz.

Gelatine: Konische Verflüssigung, dentritische starre Aestchen in den tiefen Partien des Impfstiches.

Kartoffeln: Grauweißer matter Belag mit wellig ausgebuchtetem Rand.

*Bac. mycoides*: Agar (schief): Weißlicher Ueberzug mit netzförmiger Zeichnung; dichte Ausläufer in die Masse des Agars. Die Ränder zeigen der Fläche nach eine Ausstrahlung feiner Fäden, die zu Bündeln vereinigt sind.

Bouillon: Diffuse Trübung, flockiger Bodensatz.

Gelatine: Dichtes durchscheinendes Filzwerk feinsten Fädchen die Gelatine erfüllend, nahezu gleichmäßig im Stich. Flache cylindrische Verflüssigung, an der Oberfläche dicke Haut.

Kartoffeln: Saftiger grauweißer Belag.

*Bac. megatherium*: Agar (schief): Aehnlich wie der *Subtilis*-Stamm.

Bouillon: Diffuse Trübung, keine Häutchenbildung, ziemlich starker, zartflockiger Bodensatz.

Gelatine: Schlauchförmige, rasche Verflüssigung. Kultur krümelig in der verflüssigten Masse.

Kartoffeln: Saftiger grauweißer Belag.

1) Gleiches Volumen einer 5-proz. gewaschenen Aufschwemmung von Kaninchenblut.



Ein solches Lysin, nämlich das des *Bacillus megatherium*, wurde schon von Todd genauer untersucht<sup>1)</sup>. Todd gewann sein *Megatherium*-Lysin mit Hilfe von Witte-Peptonnährböden. Die verschiedenen Proben dieses Präparates schienen ihm nicht gleichwertig zu sein. Todd gibt ausdrücklich an, eine Reihe von dem *Bac. megatherium* verwandten Bacillen vergeblich auf Hämolysinproduktion untersucht zu haben und führt als solche z. B. *Bac. subtilis*, *mycoides*, *Bac. mesentericus* an. Die Differenz gegenüber unseren Resultaten ist möglicherweise durch die Verschiedenheit der verwendeten Nährböden verursacht. Es kann nach unseren Ergebnissen die Hämolysinproduktion als solche nicht zur Differenzierung des *Bac. megatherium* von den verwandten Arten verwendet werden, wie es Todd für möglich hält.

Es könnte aber sein, daß die besonderen Eigenschaften der einzelnen Lysine und die Bedingungen ihrer Entstehung diagnostisch verwertbar sind. So unterscheiden sich, wie wir bemerkten, die Lysine der einzelnen Arten im Verhalten gegen normales Serum.

Die Lysine des *Bac. subtilis*, *mycoides* und *megatherium* sind nach unseren Versuchen beträchtlich wirksamer als das Lysin des *Anthraxbacillus*, scheinen aber sonst in ihrem Verhalten dem Hämotoxin des Milzbrandbacillus recht verwandt zu sein. So ist das *Subtilis*-Lysin in hohem Grade thermolabil (Tabelle VI), empfindlich gegen Cholesterin (s. Tabelle V) und Witte-Pepton (Tabelle VII). Dementsprechend haben wir die Lysine mit Hilfe derselben Nährlösungen hergestellt wie bei dem Milzbrandbacillus.

Tabelle VI.  
Inaktivierung des Subtilisylsins durch Erwärmen.

	Aktiv Lyse	Erwärmt		
		Zeit	Temp.	Lyse
Filtrat einer 24-stünd. 1/4-proz. Chapoteaut-Bouillonkultur	komplett	1/4 Std.	46° C	fast komplett
		1/2 "	46° C	schwach
		3/4 "	46° C	Spur

Wirkung des Subtilisylsins auf verschiedene Blutarten.

5 Teile Subtilisylsin + 5 Teile 5-proz. Blut-aufschwemmung von	Lyse	Kontrolle inaktiv
Maus	komplett	+
Meerschweinchen	komplett	+
Kaninchen	komplett	+
Ziege	fast komplett	+
Schaf	komplett	+
Gans	komplett	+
Taube	komplett	+
Mensch	komplett	+

1) Transactions of the Patholog. Soc. of London. 53. 1902. p. 196.

**Tabelle VII.**  
Einwirkung des Pepton Witte und Pepton Chapoteaut auf  
Subtilis-, Mycoides- und Megatheriumlysin.

Lysin	Zusatz von 0,1 ccm	Lyse <sup>1)</sup>	
Subtilis	NaCl 1-proz. Lösung	stark	
	Chapoteaut- Peptonlösung	10- proz.	stark
		1- "	"
		0,1- "	"
0,01- "		"	
Witte- Peptonlösung	10- proz.	⊕	
	1- "	⊕	
	0,1- "	deutlich	
	0,01- "	stark	
Mycoides	NaCl 1-proz. Lösung	komplett	
	Chapoteaut- Peptonlösung	10- proz.	fast komplett
		1- "	komplett
		0,1- "	"
0,01- "		"	
Witte- Peptonlösung	10- proz.	deutlich	
	1- "	stark	
	0,1- "	komplett	
	0,01- "	"	
Megatherium	NaCl 1-proz. Lösung	komplett	
	Chapoteaut- Peptonlösung	10- proz.	komplett
		1- "	"
		0,1- "	"
0,01- "		"	
Witte- Peptonlösung	10- proz.	⊕	
	1- "	⊕	
	0,1- "	stark	
	0,01- "	komplett	

## II.

Die Hämotoxine des Milzbrandbacillus und seiner Verwandten werden von normalem Kaninchenserum in ihrer Wirkung gehemmt (Tabelle VIII, IX, X).

**Tabelle VIII<sup>2)</sup>.**  
Lyse durch Anthraxlysin (Filtrat) 0,5 ccm, Blutzusatz  $\frac{1}{2}$  Stunde nach der Mischung mit dem Serum.

Normal- serum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	Kontrolle	
									aktiv	inaktiv
Lyse	s. st.	f. k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	⊕

1) Gleiches Volumen einer 5-proz. gewaschenen Kaninchenblutaufschwemmung. Abgelesen nach  $\frac{1}{2}$  Stunde Brutofen.

2) Hier und in den folgenden Versuchen wurde zu der Lysinmenge von 0,5 ccm

Tabelle IX.

 Lyse durch Subtilislysin (Filtrat) 0,5 ccm, Blutzusatz  $\frac{1}{2}$  Stunde nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0001	Kontrolle	
								aktiv	inaktiv
Lyse	k.	k.	st. Kuppe	⊕	f. k.	k.	k.	k.	⊕

Tabelle X.

 Lyse durch Mycoideslysin (Filtrat) 0,5 ccm, Blutzusatz  $\frac{1}{2}$  Stunde nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	Kontrolle	
									aktiv	inaktiv
Lyse	s. st.	f. k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	⊕

Beim Subtilis-Lysin zeigte sich gewöhnlich ein Maximum der Hemmung durch normales Serum bei mittleren Mengen, ein Ausbleiben der Hemmung bei großen Serummengen (Tabelle IX).

Zur Prüfung des Verhaltens der Hämotoxine gegen Immunantily sine verwendeten wir Immunsera, die durch Injektionen von Kaninchen mit hämotoxischen Filtraten hergestellt waren. Da von dem Anthraxlysin große Mengen der relativ schwach wirkenden Filtrate zur Immunisierung wahrscheinlich nötig gewesen wären, begnügten wir uns mit Subtilis-Filtraten zu immunisieren. Es konnte ohne Schwierigkeiten ein wirksames Antitoxin erhalten werden. Die Immunsera zeigen die merkwürdige Eigenschaft, daß sie gar nicht oder nicht um vieles stärker wirken als normale Kaninchensera, wenn man die Wirksamkeit durch Verdünnen auswertet und die Mischung von Lysin und Antitoxin einige Zeit ( $\frac{1}{2}$  Stunde) stehen läßt. Bei diesem Vorgehen schien es zunächst, als wäre gar kein spezifischer Antikörper entstanden, und wir wurden nur dadurch auf den Erfolg der Immunisierung aufmerksam, daß beim Immunserum dem Subtilis-Lysin gegenüber ein Optimum der Hemmung fehlt und auch große Serumdosen die Hämolyse aufheben (s. Tabelle XI und XII). Die Immunstoffe, die beim Bac. subtilis unter den angegebenen Bedingungen die Eigentümlichkeit haben, nicht in wesentlich stärkeren Verdünnungen zu wirken als die normalen Antikörper, können aber leicht nachgewiesen werden, wenn man die Einwirkung des Antitoxins auf das Hämotoxin nur ganz kurze Zeit andauern läßt und gleich nach der Mischung Blutkörperchen zusetzt. Es zeigt sich dann das normale Serum fast unwirksam, während der Effekt der Immunsera ein beträchtlicher ist (Tabelle XII).

Tabelle XI.

Lyse durch Subtilislysin (Filtrat).

 A. Blutzusatz  $\frac{1}{2}$  Stunde nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	Kontrolle	
								aktiv	inaktiv
Lyse	st.	deutl.	schw.	schw.	st.	f. k.	k.	k.	⊕

die Serumverdünnung (mit 1-proz. Kochsalzlösung) im Volumen von 0,3 ccm, die gewaschene (10-proz.) Kaninchenblutkörperchenaufschwemmung im Volumen von 0,2 ccm zugesetzt. Abgelesen nach  $\frac{1}{2}$  Stunde Brutofen und 12 Stunden Eisschrank.

## B. Blutzusatz sofort nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	
Lyse	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	

Tabelle XII.

## Versuch I.

Lyse durch Subtilisysin (Filtrat).

A. Blutzusatz  $\frac{1}{2}$  Stunde nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0001	Kontrolle	
								aktiv	inaktiv
Lyse	k.	k.	schw.	ϕ	f. k.	k.	k.	k.	ϕ
Subtilis-serum ccm	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0001		
Lyse	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	f. k.	f. k.	k.		

## B. Blutzusatz sofort nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0001	
Lyse	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	
Subtilis-serum ccm	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0003	
Lyse	ϕ	ϕ	ϕ	st.	k.	k.	k.	

## Versuch II.

Lyse durch Subtilisysin (Filtrat).

A. Blutzusatz  $\frac{1}{4}$  Stunde nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	Kontrolle	
									aktiv	inaktiv
Lyse	st.	st.	deutl.	schw.	Sp.	deutl.	deutl.	f. k.	k.	ϕ
Subtilis-serum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001		
Lyse	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	schw.	stark	s.stark		

## B. Blutzusatz sofort nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	
Lyse	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	
Subtilis-serum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	
Lyse	Spur	Spur	Spur	st.	k.	k.	k.	k.	

Es ist also das Immenserum in diesem Falle durch große Reaktionsgeschwindigkeit im Vergleich zum Normalserum ausgezeichnet<sup>1)</sup>. Eine

1) Es liegt hier wieder eine Bestätigung für die Annahme der Verschiedenheit, der wirksamen Stoffe im Normal- und Immenserum vor. (Vergl. Landsteiner-Reich,

höhere Avidität des Immunantitoxins gegenüber dem normalen fand schon Kraus<sup>1)</sup> beim Toxin des *Vibrio Nasik*, nicht bei dessen Hämotoxin.

Bemerkenswert sind die Verhältnisse der Beeinflussung der verschiedenen untersuchten Hämolyse durch antitoxisches Immunserum. Die mit dem Lysin des *Bac. subtilis* hergestellten antitoxischen Immunsera wirken nicht nur auf das Hämotoxin des *Bac. subtilis*, sondern auch, wenngleich schwächer, auf die Hämolyse von *Bac. anthracis*, *mycoides* und *megatherium* (Tabelle XIII, XIV, XV).

Es konnte so mit Hilfe des *Subtilis*-Serum auch die Toxinnatur des Anthraxlysin bewiesen werden.

Dies erinnert an die Resultate, die bei der Untersuchung der Hämotoxine von Vibrionen durch Kraus und Příbram<sup>2)</sup> erhalten wurden. Als identisch sind die von uns erhaltenen Hämolyse nicht anzusehen, da sie, abgesehen von der nicht gleichen Beeinflussung durch das antitoxische Serum, auch dem normalen Serum gegenüber sich ungleich verhalten.

Tabelle XIII.  
Lyse durch Anthraxlysin (zentrif.).  
A. Blutzusatz  $\frac{1}{2}$  Stunde nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	Kontrolle	
									aktiv	inaktiv
Lyse	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	⊕
Subtilis-serum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001		
Lyse	⊕	⊕	⊕	Sp.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.		

B. Blutzusatz sofort nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001		
Lyse	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.		
Subtilis-serum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001		
Lyse	⊕	⊕	⊕	schw.	deutl.	deutl.	deutl.	deutl.		

Tabelle XIV.  
Lyse durch *Mycoides* (Král)-Lysin (Filtrat).  
A. Blutzusatz  $\frac{1}{2}$  Stunde nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	Kontrolle	
									aktiv	inaktiv
Lyse	s. st.	s. st.	f. k.	k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	⊕
Subtilis-serum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001		
Lyse	⊕	⊕	⊕	st.	k.	k.	k.	k.		

Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. Sitzung der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Berlin 1906.)

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1903. p. 488; Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI. 1904. p. 49.

2) Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI.

## B. Blutzusatz sofort nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001	
Lyse	s. st.	f. k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	
Subtilis-serum ccm	0,3	0,2	0,1	0,03	0,02	0,003	0,001	0,0001	
Lyse	ø	ø	st.	k.	k.	k.	k.	k.	

Tabelle XV.

Lyse durch Megatherium (Král)-Lysin (Filtrat).  
Blutzusatz  $\frac{1}{2}$  Stunde nach der Mischung mit dem Serum.

Normalserum ccm	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	Kontrolle	
						aktiv	inaktiv
Lyse	k.	k.	f. k.	f. k.	k.	k.	ø
Subtilis-serum ccm	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001		
Lyse	schw.	schw.	k.	f. k.	k.		

So ergab die erwähnte eigentümliche Absättigungskurve mit normalem Serum in ausgesprochener Weise nur das Lysin unseres Subtilis-Stammes.

Die Reaktionen mit dem Immuserum lassen auf die chemische Verwandtschaft gewisser Produkte des Milzbrandbacillus und der morphologisch ähnlichen saprophytischen Bakterien schließen.

*Nachdruck verboten.*

Ueber kleinste Mikroorganismen im menschlichen Speichel<sup>1)</sup>.

[Aus dem Kgl. Frederiks Hospital, Abt. A, in Kopenhagen.]

Von V. Ellermann, 1. Assistenten.

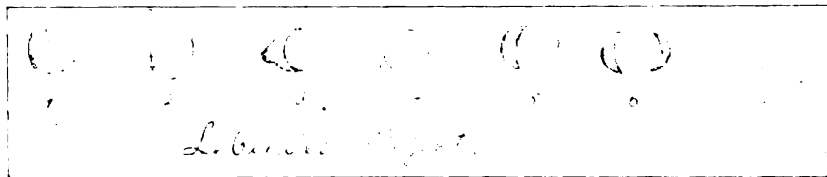
Mit Figuren.

Wenn man menschlichen Speichel untersucht, findet man darin konstant Leukocyten, Epithelien und Bakterien. Dieselben sind Kokken, Spindelbacillen, kommaförmige Stäbchen, Spirochäten u. a. Bei der Untersuchung der lebenden Mundspirochäten bin ich zufällig den kleinen Organismen begegnet, die ich hier kurz besprechen möchte. Es handelt sich um kleine, bewegliche Körperchen,  $\frac{1}{2}$ — $2 \mu$  groß, die bei flüchtiger Betrachtung Kokken vortäuschen können. Die kleinsten Formen sind kaum so groß wie die gewöhnlichen Staphylokokken, die größten ein wenig größer als die groben Diplokokken, die häufig im Speichel zu finden sind. Um sie deutlich zu sehen, ist starke Vergrößerung, etwa 1000mal, erforderlich, und es ist ferner notwendig, sich einer Apochromatimmersion zu bedienen, weil die Achromaten zu unscharfe Bilder

1) Nach einem Vortrag in der biologischen Gesellschaft in Kopenhagen am 28. Februar 1907.

geben. Die Untersuchung geschieht einfach so, daß man einen kleinen Tropfen Speichel im frischen Zustande mikroskopiert. Es ist nicht nötig, das Deckgläschen durch Füßchen zu unterstützen, im Gegenteil ist es am besten, daß die Schicht so dünn wie möglich ist, weil die kleinen Organismen sonst zu leicht aus dem optischen Plane verschwinden. Sucht man nun in den engen Zwischenräumen zwischen den Luftbläschen, so begegnet man gewöhnlich einigen wenigen Exemplaren, seltener sind sie in größerer Anzahl vorhanden. Sie sind an ihrer eigentümlichen Beweglichkeit leicht kenntlich. Sie beschreiben nämlich kleine Kreise von 20—30  $\mu$  im Diameter. Die Bewegung ist bald gleichmäßig, bald geschieht sie in unregelmäßigen Sprüngen. Oft liegen sie ganz still oder machen kleine rotierende Bewegungen. Bei längerer Beobachtung sieht man zuletzt nur Rotationsbewegungen. Ich bin ferner geneigt, anzunehmen, daß sie im Stande sind, ihre Körperform zu verändern. Wegen der Kleinheit des Objekts ist diese Gestaltsveränderung jedoch schwer zu sehen, und man muß sich vor Verwechslung mit Rotationsbewegungen hüten. Die Bewegungen sind am lebhaftesten bei einer Temperatur über 20° C, gehen jedoch auch im kalten Zimmer vor sich. Nach Verlauf einiger Stunden hat die Zahl der beweglichen Formen stark abgenommen. Hob ich den Speichel für den nächsten Tag in einem Schälchen auf, so waren keine darin zu finden. Dies war ebenfalls der Fall bei einer Temperatur von 37°; die Kokken nahmen bei dieser Temperatur stark an Zahl zu.

Was die Struktur der kleinen Körperchen betrifft, so ergab schon die Untersuchung des lebenden Objektes eine Sonderung in zwei Substanzen, nämlich einen dunkleren, lichtbrechenden und einen blasseren, matteren Teil. Das gegenseitige Größenverhältnis und die Anordnung dieser beiden Substanzen sind etwas wechselnd, wie aus den Fig. 1—6



Reihe A.

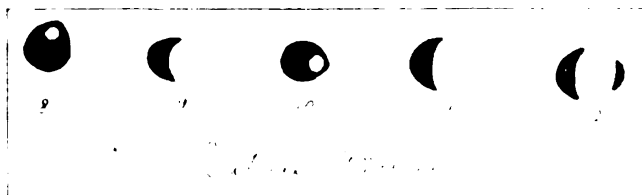
ersichtlich ist. Die Regel ist, daß die blasse Substanz von der lichtbrechenden Substanz mehr oder weniger schalenförmig umgeben wird. Die blasse Substanz hat zuweilen das Aussehen einer kleinen Vakuole, in anderen Fällen wieder übertrifft sie den dunkleren Teil an Größe. Man sieht niemals abwechselnde Vorwärts- und Rückwärtsbewegung wie bei den Bakterien und Spirochäten. Fast immer ist die lichtbrechende Substanz nach vorne gerichtet. Ein paarmal habe ich jedoch Individuen gesehen, die mit der blassen Substanz an dem Vorderende herumschwammen.

Im Gegensatz zu den Kokken, die haufenweise oder zu zweien in den Präparaten vorkommen, sind diese Organismen solitär. Ganz ausnahmsweise, in allem nur 3mal, bin ich Diploformen begegnet (Fig. 7). Man könnte meinen, es handle sich hier um eine Kopulation. Ein Zusammenfließen der beiden Individuen habe ich nun niemals beobachtet, und die Bilder lassen sich wohl ebenso gut als Teilungsbilder auffassen.

Man sieht auch gar nicht selten Bilder, die als beginnende Teilung aufgefaßt werden können, nämlich ovale Gebilde, die an beiden Enden lichtbrechende Substanz haben (Fig. 6).

Um zu sehen, was mit ihnen im Magen geschehen würde, habe ich die Einwirkung von Salzsäure (2 Prom.) versucht. Die Bewegung hat sofort aufgehört. Durch Einwirkung von Jod-Jodkali in dünner Lösung wurden sie ebenfalls gelähmt; es trat keine Gelbfärbung ein.

Die Vitalfärbung mit Neutralrot hat kein befriedigendes Resultat ergeben; die lichtbrechende Substanz färbte sich zwar rot, aber sie vertrugen anscheinend den Farbstoff schlecht, indem die Bewegung sehr träge war und bald ganz aufhörte. Weit bessere Resultate gab mir Methylenblau (1:10000) (Fig. 8—12). Der lichtbrechende Teil färbte



Reihe B.

sich kräftig blau, der blasse Teil blieb ganz ungefärbt. Die Bewegungen blieben während 10—15 Minuten gut erhalten. Diese Methode hat mir überhaupt gute Aufschlüsse gegeben. Meine Vermutung, die blasse Substanz sei als Vakuolenbildung aufzufassen, wurde durch diese Untersuchung bestätigt. Ich habe an den ungefärbten, lebenden Individuen keine Pulsation der Vakuole nachweisen können. Diese Untersuchung ist jedoch wegen der lebhaften Beweglichkeit etwas schwierig. Die Pulsation müßte jedenfalls ziemlich langsam sein.

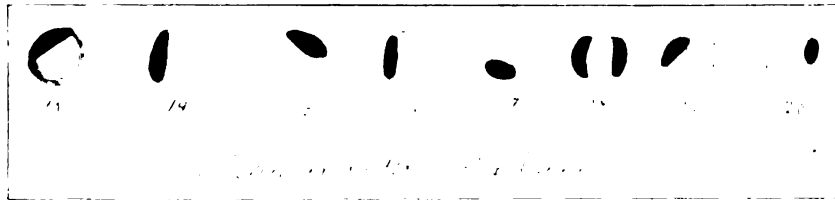
Wie kommt die Bewegung zu stande? Diese Frage habe ich nicht mit Sicherheit entscheiden können. Die Bewegungen erinnern oft an die Flagellaten. Zuweilen habe ich das Hinterende wie einen Fischschwanz schwirren gesehen. Flagella oder Cilien habe ich aber weder am lebenden Objekte noch in den gefärbten Präparaten sehen können. Angewandt wurden die Bungesche, die Ermengemsche Methode, sowie starke Giemsa-Färbung. Der Boden wurde immer ziemlich stark gefärbt, was vielleicht den Mißerfolg erklären kann.

Was ihr Verhalten gegenüber dem Sauerstoff betrifft, so sind sie nicht ausgesprochen aërob. Man findet sie sowohl in der Nähe der Luftblasen, wie an Stellen, wo keine solche vorhanden sind, in lebhafter Bewegung.

In den Trockenpräparaten sind sie oft schwer zu finden, da sie gewöhnlich spärlich vorhanden sind. Ferner vermißt man ja das beste Kennzeichen, die eigentümlichen Bewegungen. Oft erleiden sie durch das Eintrocknen Formveränderungen, indem die dünne Schale, die die Vakuole umgibt, berstet, wodurch sichelförmige Figuren zu stande kommen (Fig. 17, 19). Um Präparate mit zahlreicheren Exemplaren zu erhalten, habe ich einen Kunstgriff angewandt. Ich ließ nämlich einen Tropfen Speichel an der Luft etwas eintrocknen. Wenn der Tropfen bis auf ca.  $\frac{1}{4}$  seiner ursprünglichen Größe reduziert war, stellte ich mir die Trockenpräparate aus diesem letzten Teile her. Ich meinte, die be-



weglichen Formen müßten auf diese Weise konzentriert werden, und tatsächlich erhielt ich Präparate, die stellenweise dichte Haufen aufwiesen. Von Methylblau werden sie schwach blau gefärbt, weit schwächer als die Kokken. Bessere Bilder erhält man durch Romanowsky-Färbung.



Reihe C.

Giemsas und Leishmans Methode schienen gleich geeignet zu sein, die Färbedauer war ca. 10—15 Minuten. Man sieht dann ein blasses, graublaues Protoplasma, das einen relativ großen dunkelroten Chromatinklumpen einschließt. Die Vakuole ist ungefärbt (Fig. 13—20). Die Bilder erinnern etwas an kleinere Malariaparasiten. Sie entsprechen sehr gut den Befunden am lebenden Objekte und bei vitaler Färbung. Die Form des Chromatinklumpchens wechselt etwas, zuweilen sieht man Bilder, die Teilungsstadien gleichen (Fig. 18). Bei Fixierung mit Osmiumsäuredämpfen wird die Chromatinfärbung vereitelt.

Was die systematische Stellung dieser Mikroorganismen betrifft, so glaube ich, daß sie den Protozoen zugerechnet werden müssen. Um die Möglichkeit auszuschließen, es handle sich um bewegliche Kokken, so habe ich zum Vergleich eine Kultur von *Sarcina mobilis* (von Král bezogen) untersucht. Dieser Coccus erwies sich als vollständig unbeweglich, was übrigens nach Lehmann und Neumann auch mit den anderen beweglichen Kokken der Fall sein soll, indem die Beweglichkeit in der Kultur verloren geht. Es wird eine mäßig schnelle, rollende Bewegung beschrieben, die mit der blitzartigen Schnelligkeit und der typischen Manègebewegung der hier beschriebenen Organismen keine Ähnlichkeit hat. Auch die komplizierte Struktur spricht dagegen, daß es Bakterien sind.

Es erhebt sich jetzt die Frage, ob es sich um eine selbständige Art oder um Entwicklungsstufen anderer größerer Organismen handelt. Im Verdauungskanal des Menschen findet man bekanntlich oft verschiedene Flagellaten: *Cercomonas*, *Trichomonas*, *Lambliä*. So kleine Formen, wie die hier beschriebenen, habe ich jedoch nicht erwähnt gefunden. In der Entwicklung von Amöben hat man die Existenz sehr kleiner Formen angenommen, vorläufig ist aber hierüber so wenig bekannt, daß die Frage sich noch nicht diskutieren läßt. Ferner habe ich daran gedacht, daß es sich um Entwicklungsstadien von Spirochäten handeln könnte. Einen solchen Zusammenhang habe ich jedoch nicht nachweisen können. Zwar habe ich einigemal Spirochäten mit einer kugelförmigen Verdickung des einen Endes gesehen, wie öfters für die *Spirochaete pallida* nachgewiesen. Solche Bilder sind wohl als Involutionsformen zu erklären. Andererseits läßt sich auch die Ansicht, daß es sich um eine selbständige Art handelt, verteidigen: Die einzelnen Individuen sind sehr verschieden groß, während ein gewisses Maximum nicht überschritten wird. Man sieht Bilder, die als Teilungsfiguren aufgefaßt werden können.

Sie können lange Zeit, Monate hindurch, in derselben Mundhöhle gefunden werden, was auch für eine Vermehrung an dieser Stelle spricht.

Es scheint, daß sie sehr häufig beim Menschen vorkommen, indem ich sie 9mal bei 13 untersuchten Individuen gefunden habe. Von diesen 13 Versuchspersonen waren 3 gesunde Menschen, 10 hatten verschiedene Krankheiten. Einigemal habe ich Faeces und Mageninhalt untersucht, aber keine gefunden.

Die hier besprochenen Mikroorganismen sind meines Wissens bisher nicht beschrieben worden. Es ist wohl möglich, daß sie übersehen worden sind, weil sie so klein und lebhaft beweglich sind, und weil sie nur in spärlicher Anzahl gefunden werden. Da zurzeit den Protozoen ein reges Interesse gewidmet wird, habe ich gemeint, die vorliegende Mitteilung könnte auch etwas Interesse beanspruchen.

Für die freundliche Ueberlassung des Krankenmaterials bin ich Herrn Prof. Dr. Chr. Gram dankbar verpflichtet.

Anmerkung: Um die Einzelheiten deutlich zu zeigen, sind die Figuren ca. 3mal so groß gezeichnet, wie sie in Wirklichkeit aussehen.

*Nachdruck verboten.*

## Versuche über die Widerstandsfähigkeit bei intra-peritonealer Infektion.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag  
(Vorstand: Prof. Hueppe).]

Von Dr. Edmund Weil, Assistenten am Institute.

Die Widerstandsfähigkeit gegenüber der bakteriellen Infektion ist bei den verschiedenen Tierarten eine sehr verschiedene. Oft variiert dieselbe bei ein und demselben Tiere gegenüber demselben Keim bei wechselndem Infektionsort. Selbst für die virulentesten Mikroorganismen gelten diese Verhältnisse. So ist die graue Ratte gegenüber Milzbrand immun und das hochempfindliche Kaninchen scheint von der Subcutis aus sicherer der Milzbrandinfektion zugänglich zu sein als von der Blutbahn, die Empfänglichkeit des Meerschweinchens ist vom Peritoneum aus etwas geringer als von der Subcutis [van Leent (1)]. Die ganze Gruppe der Halbparasiten ist bei subkutaner Infektion sehr resistent, während die Widerstandsfähigkeit vom Peritoneum aus oft eine sehr geringe ist. Die Resistenz kann sich auf Mikroorganismen beziehen, die von den Körpersäften des betreffenden Tieres abgetötet und auf solche, welche nicht beeinflußt werden. Im ersteren Falle kann man die Widerstandsfähigkeit eventuell mit der Säftebakterizidie in Zusammenhang bringen.

Wenn man diese Umstände in Betracht zieht, muß man die Resistenz zunächst von einer bestimmten Infektionsstelle studieren und zwar von einer solchen, wo man den Verlauf resp. die Unterdrückung der Infektion leicht beobachten kann. Von Mikroorganismen kommen solche in Betracht, welche von den Körpersäften zerstört und solche, welche von den Säften nicht angegriffen werden. Gegen beide Bakteriengruppen muß das betreffende Tier resistent sein.

Als Versuchstier wurde das Meerschweinchen gewählt und von den Mikroorganismen zunächst ein solcher, der vom Serum stark abgetötet wird. Allen Vibrionen gegenüber zeigt das Meerschweinchen von der Bauchhöhle aus ziemlich starke Resistenz und zugleich wirkt das normale Meerschweinchenserum auf dieselben stark bakterizid. Der *Vibrio Metschnikoff*, den wir zu unseren Versuchen verwendeten, war nicht im stande, in der Menge von  $\frac{1}{2}$  Oese, intraperitoneal injiziert, ein Meerschweinchen von 250 g durch Vermehrung zu töten. Die beifolgenden Reagenzglasversuche zeigen die bakteriolytische Wirkung des normalen Meerschweinchensersums.

Tabelle I.  
Bakterizider Versuch mit *Vibrio Metschnikoff*.

Meerschw.- Serum I	nach 4 Stunden	Meerschw.- Serum II	nach 4 Stunden	Meerschw.- Serum III	nach 4 Stunden	Meerschw.- Serum IV	nach 4 Stunden	Meerschw.- Serum V	nach 4 Stunden	Meerschw.- Serum VI	nach 4 Stunden
0,5	⊕	0,5	4	0,5	⊕	0,5	2600	0,5	3 600	0,5	⊕
0,1	⊕	0,25	24	0,25	4			0,25	60 000	0,25	⊕
										0,1	⊕
Einsaat 200 000		Einsaat 30 000		Einsaat 39 000		Einsaat ∞		Einsaat ∞		Einsaat 25 000	

Man kann sich leicht vorstellen, daß bei derartig ausgesprochener Bakterizidie der Körpersäfte die Körperflüssigkeiten dort, wo sie die Bakterien angreifen können, auch zerstören und daß die Resistenz bei solchen Bakterien, welche der auflösenden Fähigkeit der Säfte im Tierkörper zugänglich sind, hierauf beruht. Wir sehen, daß dies, wie der beifolgende Versuch zeigt, auch der Fall ist.

Versuch 1.

Meerschweinchen 1. 240 g.  $\frac{1}{2}$  Oese *Vibrio Metschnikoff* in 1 ccm NaCl-Lösung intraperitoneal.

Nach 10 Minuten:  $\frac{2}{3}$  Granula,  $\frac{1}{3}$  Vibrionen.

Nach 20 Minuten: Wie vorher.

Nach 1 Stunde: Nur massenhaft Granula, wenige Leukocyten voll mit Granula.

Nach 2 Stunden: Starke Abnahme der Granula, Zuströmen von Leukocyten.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 2. 260 g.  $\frac{1}{2}$  Oese *Vibrio Metschnikoff* in 1 ccm NaCl-Lösung intraperitoneal.

Nach 10 Minuten:  $\frac{1}{3}$  Granula,  $\frac{2}{3}$  Vibrionen.

Nach 30 Minuten:  $\frac{2}{3}$  Granula,  $\frac{1}{3}$  Vibrionen.

Nach 1 Stunde: Nur zahlreiche Granula, starke Phagocytose der um Leukocyten agglutinierten Granula.

Nach 2 Stunden: Abnahme der Granula.

Nach 5 Stunden: Vereinzelte Granula, spärliche Leukocyten.

Stirbt nach 30 Stunden mit steriler, spärliche Leukocyten enthaltender Bauchhöhle.

Meerschweinchen 3. 245 g.  $\frac{1}{2}$  Oese *Vibrio Metschnikoff* intraperitoneal.

Nach 10 Minuten:  $\frac{2}{3}$  Granula,  $\frac{1}{3}$  Vibrionen.

Nach 20 Minuten: Zahlreiche Granula, spärliche Vibrionen.

Nach 1 Stunde: Nur Granula.

Nach 2 Stunden: Granula stark vermindert, Leukocyten mit Phagocytose von Granula (Tier krank).

Bleibt am Leben.

Der Zerfall in Granula ist hier in genau derselben charakteristischen Weise ausgesprochen wie bei dem durch spezifisch bakterizides Immunsorum erzeugten Pfeifferschen Phänomen. Nur ist auffällig, daß bereits

$\frac{1}{2}$  Oese, welche die Tiere glatt auflösen, den Tod an Vergiftung herbeiführt (Meerschweinchen 2), während das spezifische Immuneserum eine weit größere Menge ohne Schaden für das Tier auflösen kann. Ferner ist hier eine starke Anhäufung der Granula um und in den Leukocyten zu bemerken, so daß trotz der Auflösung in den freien Säften auch den Leukocyten für die Entfernung der Bakterienreste eine Bedeutung zukommt. Es soll jedoch hier nur festgestellt werden, daß bei der gewöhnlichen intraperitonealen Infektion mit der untertödlichen Menge die Vibrionen in der freien Bauchhöhlenflüssigkeit untergehen und die morphologisch erhaltenen Leukocyten<sup>1)</sup> hierbei eine untergeordnete Rolle spielen. Es beruht sonach ein großer Teil der Resistenz des Meerschweinchens gegenüber dem *Vibrio Metschnikoff* auf der bakteriziden Säftewirkung.

Die Verhältnisse komplizieren sich aber, wenn ein natürlich resistentes Tier keine bakteriziden Eigenschaften in seinen Säften gegen den betreffenden Mikroorganismus zeigt, wie bei der Milzbrandinfektion des Huhnes. Bail und Pettersson (3), welche diese Frage untersuchten, konnten zeigen, daß von allen Organen nur das Knochenmark den Milzbrandbacillus abtötet. Sie erklärten die natürliche Immunität des Huhnes so, daß sie annahmen, das Huhn verfüge über ein Komplement, das aus dem Knochenmark stammt, an das Blut abgegeben wird und so im Körper des Huhnes, das in seinen übrigen Säften Immunkörper hat, die Abtötung des Milzbrandbacillus ermöglicht.

In einer früheren Untersuchung (4) konnte festgestellt werden, daß die hohe natürliche Immunität des Meerschweinchens gegen den Heubacillus gebrochen werden kann, wenn man durch Aggressin die Leukocytenwirkung lähmt. Da hierbei in der Meerschweinchenbauchhöhle bakteriolytische Vorgänge am *Subtilis* nicht beobachtet wurden, so lag der Gedanke nahe, daß auch *in vitro* das Meerschweinchenserum den Heubacillus nicht abtötet. Eine Reihe daraufhin untersuchter Sera bestätigte diese Vermutung.

Tabelle II.  
Bakterizider Versuch mit *Subtilis*.

Meerschw.- Serum I	nach 4 Stdn.	Meerschw.- Serum II	nach 4 Stdn.	Meerschw.- Serum III	nach 4 Stdn.	Meerschw.- Serum IV	nach 4 Stdn.
0,5	∞	0,5	ca. 30 000	0,5	ca. 30 000	0,5	ca. 3 000
0,25	∞	0,25	ca. 30 000	0,25	ca. 30 000	0,25	ca. 10 000
0,1	∞	0,1	ca. 30 000	0,1	ca. 30 000	0,1	ca. 10 000
0,05	∞	0,05	ca. 30 000	0,05	ca. 30 000		
Einsatz ca. 10 000		Einsatz ca. 4000		Einsatz ca. 5000		Einsatz 563	

Da also das Meerschweinchenserum keine den Heubacillus abtötende Eigenschaften besitzt, so kann die Resistenz dieses Tieres nicht auf Säftewirkung beruhen, was auch mit der Beobachtung im Tiere übereinstimmt. Es ist nämlich der Verlauf der intraperitonealen Infektion etwa ein folgender. Ein Teil der in großer Menge eingespritzten Heubacillen wird sofort von den in der Bauchhöhle normalerweise angesammelten Leukocyten intensiv aufgenommen. Die übrigen Keime verschwinden

1) Es ist bekannt, daß *Metschnikoff* (2) annimmt, daß auch das *Pfeiffersche* Phänomen nur durch Leukocytenstoffe (*Mikrocytase*), welche bei der Zerstörung der Leukocyten durch den schädigenden Einfluß der Infektion frei werden, zu stande komme.

allmählich bis zu der Zeit, wo die Leukocyten in die Bauchhöhle einströmen. Mit dem Eintreten der Leukocytose verschwinden dann die übrigen Keime sehr rasch. Es ist also das Verschwinden der Bakterien, soweit es der Beobachtung zugänglich ist, der phagocytären Tätigkeit der Leukocyten zuzuschreiben, wobei sich noch die Phagocytenwirkung am Netz der Beobachtung entzieht. Nun ist von Interesse, die Leukocytenwirkung im Glase zu untersuchen, was schon in einer früheren mit Nakayama (5) ausgeführten Arbeit unternommen wurde. Es zeigte sich dabei, daß die Leukocyten besonders intensiv die Heubacillen aufnehmen, wenn erstere in Serum aufgeschwemmt wurden, daß die Leukocytenwirkung bedeutend schwächer in Kochsalzlösung war. Jetzt sollte untersucht werden, ob die Phagocytose mit einer Zerstörung der Bakterien verbunden ist, denn nur dann können die Glasversuche eventuell für den Tierkörper Gültigkeit haben. Nehmen die Leukocyten die Heubacillen auf, ohne sie abzutöten, dann sind sie bedeutungslos für den Tierkörper.

Schwemmt man Heubacillen in noch so geringer Menge in Kochsalzlösung, der man einige Tropfen Bouillon zusetzt, auf, und gibt eine selbst große Menge Leukocyten hinzu, so tritt eine bakterizide Wirkung nicht auf, indem sich die Heubacillen sehr intensiv vermehren.

Da jedoch die Leukocyten im Körper im Vereine mit den Säften wirken, so mußte dies im Reagenzglas derart nachgeahmt werden, daß dieselben nicht in Kochsalzlösung, sondern im entsprechenden Serum aufgeschwemmt wurden; denn wir wissen insbesondere durch die Untersuchungen von Wright (6), Löhlein (7), Gruber und Futaki (8), daß die normale Gewebsflüssigkeit die Phagocytose ungemein verstärkt. Auch in eigenen früheren Untersuchungen konnte diese Beobachtung beim Heubacillus bestätigt werden. Es wurden demnach die Versuche derart abgeändert, daß die Leukocyten statt in Kochsalzlösung in aktivem normalen Meerschweinchenserum aufgeschwemmt und ihre Wirkung auf die hierauf eingesäten Heubacillen beobachtet wurde.

Leukocyten wurden auf die Weise gewonnen, daß Meerschweinchen mit 5 ccm frischer Bouillon intraperitoneal injiziert, nach 18 Stunden entblutet und die Bauchhöhle mit Kochsalzlösung ausgespült wurde, da oft keine freie Exsudatflüssigkeit im Peritoneum vorhanden war. Nach Waschen in Kochsalzlösung wurden die Leukocyten zum Versuche verwendet. Leukocyten mit Beimischung von Blut sind ungünstig, da nur schlechte Resultate damit erzielt wurden. Wir können in der Hinsicht Pettersson (9) vollkommen bestätigen, der auch bei seinen Tierversuchen mit derartigen Leukocyten nur schlechte Resultate zu verzeichnen hatte. Das Blutserum stammte stets von dem die Leukocyten liefernden Tiere. Die Versuche wurden nun so ausgeführt, daß stets zu 1 ccm Serum Leukocyten in großer Menge hinzugefügt wurden, so daß eine dicke trübe Aufschwemmung zu stande kam. Verdünnung des Serums, und Leukocyten in geringer Zahl zugesetzt, beeinflussen die Resultate ungünstig. Die die Leukocyten enthaltenden Röhrchen müssen während der Versuchsdauer oft intensiv geschüttelt werden, damit es nicht zu einer isolierten Wirkung der am Boden befindlichen Leukocyten und der überstehenden Flüssigkeit kommt. Ferner muß stets der ganze Inhalt der Röhrchen zur Platte gegossen werden. Durch ein mikroskopisches Präparat muß man sich überzeugen, ob die zum Versuche verwendeten Leukocyten polynukleäre sind (Mikrophagen), was, wenn der Eiter nicht älter als 24 Stunden ist, wohl stets der Fall sein

wird. Als Einsaat ist Sporenmateriel möglichst zu vermeiden, was dadurch zu erreichen ist, daß man Bouillonkulturen verwendet, indem man nicht von der Oberflächenhaut, sondern von der übrigen Flüssigkeit mit der Pipette absaugt<sup>1)</sup>.

Tabelle III.

Meersch.-Serum	Leukocyten	Kochsalz-lösung	nach 4 Stunden
0,15	—	0,4	5000
0,05	—	0,45	4000
0,15	3 Tropfen	0,4	1432
0,05	3 Tropfen	0,45	800
—	3 Tropfen	0,5	5000
Einsaat ca. 3000 Heubacillen			

Die Resultate dieses Versuches sind nicht sehr in die Augen fallend, weil hier einige der oben erwähnten Versuchsmängel vorhanden sind, und zwar ist die Menge des verwendeten Serums zu gering, welches überdies noch mit Kochsalzlösung verdünnt ist, außerdem ist die Zahl der Leukocyten zu gering. Die folgenden Versuche bieten ungleich bessere Resultate.

Tabelle IV.

Meersch.-Serum	Leuko-cyten	nach 4 Stdn.	Meersch.-Serum	Leuko-cyten	nach 5 Stdn.	Meersch.-Serum	Leuko-cyten	nach 5 Stdn.
1 ccm	—	5 000	1 ccm	—	8000	1 ccm	—	8 000
1 ccm	10 Tropfen	4	1 ccm	10 Tropfen	36	1 ccm	10 Tropfen	1
—	10 Tropfen in 1 ccm NaCl mit 5 Tropfen Bouillon	20 000	—	10 Tropfen in 1 ccm NaCl	6000	—	10 Tropfen in 1 ccm NaCl + 5 Tropfen Bouillon	30 000
Einsaat ca. 900			Einsaat ca. 2000			Einsaat ca. 3500		

Tabelle V.

Meersch.-Serum aktiv	Meersch.-Serum 1/2 Stde 60°	Leuko-cyten	nach 5 Stdn.	Meersch.-Serum aktiv	Meersch.-Serum 1/2 Stde 60°	Leuko-cyten	nach 5 Stdn.
1 ccm	—	—	6 000	1 ccm	—	—	10 000
1 ccm	—	10 Tropfen	2	1 ccm	—	10 Tropfen	3
—	1 ccm	—	40 000	—	1 ccm	—	50 000
—	1 ccm	10 Tropfen	310	—	1 ccm	10 Tropfen	197
—	—	10 Tropfen in 1 ccm NaCl	2 500	—	—	10 Tropfen in 1 ccm NaCl + 5 Tropfen Bouillon	20 000
Einsaat ca. 2000				Einsaat ca. 3000			

1) Es ist notwendig, bei Plattenversuchen mit *Subtilis* dieselben Vorsichtsmaßregeln gegen das Kondenswasser anzuwenden wie bei Drigalski-Platten, damit nicht von wenigen Kolonien die ganze Platte überwuchert wird.

Tabelle VI.

Zu je 1 ccm Serum und 1 ccm Kochsalzlösung werden Heubacillen gegeben und 1 Stunde bei 37° gehalten.  $\frac{1}{10}$  Tropfen von beiden Mischungen werden nun in Leukocyten, die in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt sind, gegeben.

Heubacillen mit Serum behandelt	Leukocyten	nach 5 Stdn.	Heubacillen mit NaCl behandelt	Leukocyten	nach 5 Stdn.
A. $\frac{1}{10}$ Tropfen	10 Tropfen in 1 ccm NaCl + 5 Tropfen Bouillon Einsaat 6000	4000	$\frac{1}{10}$ Tropfen	10 Tropfen in 1 ccm NaCl + 5 Tropfen Bouillon Einsaat 5000	30 000
B. $\frac{1}{10}$ Tropfen	10 Tropfen in 1 ccm NaCl + 5 Tropfen Bouillon Einsaat ca. 1500	2000	$\frac{1}{10}$ Tropfen	10 Tropfen in 1 ccm NaCl + 5 Tropfen Bouillon Einsaat ca. 600	7 000

Diese Versuchsreihe bestätigt zunächst, was wir bereits aus den früheren Versuchen wissen, daß das Meerschweinchenserum den Heubacillus nicht abtötet, und zeigt ferner, daß die Leukocyten in Kochsalzlösung<sup>1)</sup> ebenfalls unwirksam sind, indem zumeist ein stärkeres Wachstum zu beobachten ist als im Serum. Die in ihrer gesonderten Einwirkung vollkommen wirkungslosen Leukocyten entfalten aber die stärkste bakterizide Kraft, wenn sie auf die Heubacillen im Vereine mit dem Serum einwirken, welches allein ebenfalls absolut unwirksam ist. Die Wirkung ist so stark, daß sie fast zur Sterilisierung der eingesäten Keime ausreicht. Selbst das durch Erhitzung seines Komplementgehaltes beraubte Serum wirkt, wenn es auch eine Abschwächung erleidet, doch noch ungemein stark abtötend vereint mit den Leukocyten (Tabelle V). Die Wirkung des normalen Serums bezieht sich wahrscheinlich auf die Bakterien, indem die mit Serum behandelten Heubacillen dann von den Leukocyten allein abgetötet oder in ihrem Wachstum gehemmt werden (Tabelle VI), jedenfalls aber bei weitem nicht so stark, als wenn das Serum dauernd auf die Heubacillen einwirkt.

Wenn wir nun die Resultate dieser Reagenzglasversuche auf den Körper übertragen, so ergibt sich daraus etwa folgendes: Die Resistenz des Meerschweinchens gegenüber dem Heubacillus läßt sich trotz bakteriolytischer Unwirksamkeit der Körpersäfte gut verstehen. Denn die an sich wirkungslosen Körpersäfte sind die unerläßliche Vorbedingung für die keimzerstörende Wirkung der Leukocyten, die an sich ebenfalls keine Wirkung ausüben. Da jedoch die Leukocyten in der Bauchhöhle im Vereine mit den Säften wirken, so sind sie befähigt, die Keimvernichtung, die uns auch direkt vor Augen geführt wird, zu bewerkstelligen. Die Leukocyten wirken in der Bauchhöhle durch Phagocytose. Wir wollen uns nicht auf Erörterungen einlassen, wie ihr Wirkungsmechanismus im Glase ist. Ob das Meerschweinchenserum als Immunkörper, die Leukocyten als Komplement wirken, ob die Leukocyten für den Heubacillus bakterizide Stoffe besitzen, welche sie im Serum, nicht aber in der Kochsalzlösung abgeben. Wir wollen vielmehr die ganz natürliche und einfache Erklärung wählen, daß die Leukocyten auch hier durch

1) Man muß der Kochsalzlösung einige Tropfen Bouillon zusetzen, damit die eingesäten Bacillen einen Nährstoff haben, damit nicht eine Wachstumshemmung vorgetäuscht wird, wie z. B. in Tabelle V.

Phagocytose wirken, in ihrem Innern die Heubacillen, die vom Serum opsonisch beeinflußt werden, zerstören. In der Kochsalzlösung versagen die Leukocyten aus dem Grunde, weil die Phagocytose durch Wegfall der opsonischen Serumfunktion spärlich ist und sich auf lange Zeit hinzieht, so daß eine Keimvernichtung nicht zu stande kommt. Der Umstand, daß die Opsonine für pathogene Bakterien schon bei kurzdauernder Einwirkung von 60° zerstört, hier aber nur unwesentlich abgeschwächt werden, findet vielleicht darin seine Erklärung, daß die Opsonine gegenüber so schwach virulenten Keimen viel resistenter und konzentrierter sind.

Hält man sich in gewissen Fällen berechtigt, Beobachtungen im Tierkörper durch bestätigende Reagenzglasversuche zu stützen, so muß es auch gelingen, die hierbei gewonnenen erweiterten Ergebnisse auf den Tierkörper zurückzuübertragen. Es müßte nach unseren Versuchen ebenso wie im Glase auch in der Bauchhöhle gelingen, den Heubacillus zum Wachstum zu bringen, wenn man entweder eine isolierte Leukocyten- oder Serumwirkung erzielen oder wenn man beide Komponenten ausschalten kann. Nun besitzen wir in der Tat Mittel, denen diese Fähigkeiten zukommen. Sogenannte komplementbindende Systeme sind, wie wir aus den Versuchen von Pfeiffer und Moreschi (10) und den eigenen Untersuchungen (11) wissen, im stande, die Wirkung eines bakteriziden Immunserums im Tierkörper zu unterdrücken. Wir konnten in weiteren Versuchen (12) zeigen, daß nicht nur für bakterizide Immunsera, sondern auch für solche, welche im Tierkörper sicher nicht bakterizid wirken, wie das Hühnercholeraimmunserum, die Mitwirkung des Komplementes unentbehrlich ist. Prettner (13) konnte unsere Versuche bei dem bakteriolytisch unwirksamen Schweinerotlaufserum bestätigen. Daraus haben wir den Schluß gezogen, daß das Komplement noch eine andere als bakterizide Funktion besitzen müsse. Aehnlich liegen die Verhältnisse beim Heubacillus, indem auch hier die Körperflüssigkeiten nicht bakterizid sind und es war zu erwarten, daß auch hier komplementbindende Mittel die Aktion der Körpersäfte beseitigen und zwar in einer solchen Art, daß den Leukocyten allein die Aufgabe bleibt, mit den eingebrachten Keimen fertig zu werden. Dies gelingt ihnen aber, wie wir vom Reagenzglase her wissen, nicht. Wir wählten zunächst, wie in den früheren Versuchen, das Rinderserumpräzipitat<sup>1)</sup> vom Choleraextrakt, welches wegen seiner Ungiftigkeit sehr angezeigt ist. Zur Infektion der Meerschweinchen wurde stets eine starke Oese Heubacillenagarkultur (18-stündig) gewählt, welche selbst kleinere Tiere weder durch Infektion noch durch Vergiftung tötet.

#### Versuch 2.

Meerschweinchen 4. 245 g. 2,5 ccm NaCl; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 50 Minuten: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Starke Abnahme der Bakterien. Spärliche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 2 Stunden: Vereinzelte Bakterien. Zahlreiche Leukocyten mit stärkster Phagocytose.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 5. 250 g. Präzipitat von 5 ccm Choleraextrakt in 2,5 ccm NaCl aufgeschwemmt, nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese *Subtilis* intraperitoneal.

Nach 30 Minuten: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

1) Choleraextrakt mit der gleichen Menge Rinderserum versetzt.



Nach 2 Stunden: Abnahme der Bakterien. Spärliche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Bleibt am Leben.

#### Versuch 3.

Meerschweinchen 6. 230 g. 2,5 ccm NaCl-Lösung, gleichzeitig 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 15 Minuten: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 30 Minuten: Abnahme der Bakterien.

Nach 1 Stunde: Starke Abnahme der Bakterien. Spärliche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 7. 220 g. Präzipitat von 5 ccm Choleraextrakt in 2,5 CaCl aufgeschwemmt, gleichzeitig 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 15 Minuten: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 30 Minuten: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Geringe Abnahme der Bakterien. Leukocyten mit Phagocytose.

Bleibt am Leben.

#### Versuch 4.

Meerschweinchen 8. 250 g. 4 ccm Kochsalzlösung, gleichzeitig 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 30 Minuten: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Abnahme der Bakterien.

Nach 2 Stunden: Keine Bakterien; zahlreiche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 9. 250 g. Präzipitat von 10 ccm Choleraextrakt in 4 ccm NaCl, gleichzeitig 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 2 Stunden: Noch zahlreiche Bakterien, spärliche Leukocyten mit Phagocytose.

Nach 4 Stunden: Weniger Bakterien aber immer zahlreich, daneben ziemlich zahlreiche Leukocyten mit Phagocytose.

Stirbt nach 30 Stunden: Zahlreiche Leukocyten in der Bauchhöhle, die starke Phagocytose aufweisen, vereinzelte freie Heubacillen.

Meerschweinchen 10. 150 g. Präzipitat von 10 ccm Choleraextrakt in 4 ccm NaCl intraperitoneal.

Bleibt am Leben.

Wir sehen, daß erst große Mengen von Präzipitat insofern einen Effekt erzielen, als sich die Bakterien längere Zeit in der Bauchhöhle halten (Meerschweinchen 9), dann aber schließlich den Leukocyten zum Opfer fallen, doch stirbt das Tier bereits an Vergiftung. Kleinere Mengen von Präzipitat sind fast wirkungslos (Versuch 2 und 3).

Man kann sich auch im Reagenzglase überzeugen, daß das verwendete Präzipitat an sich nur wenig Komplement bindet, daß aber, wie Moreschi (14) gezeigt hat, die spezifische Eiweißpräzipitation hierzu in hohem Maße befähigt ist, indem die allerstärksten Verdünnungen schon Komplement absorbieren. Wir verwendeten das Serum eines Kaninchens, welches mit Menschenserum vorbehandelt und bis zur Verdünnung 0,0001 ccm Menschenserum mit 0,1 ccm Kaninchenserum einen deutlichen Niederschlag gab. Da nach Moreschi das Optimum der Präzipitation mit der stärksten Komplementbindung zusammenfällt, so wendeten wir in unseren Versuchen 0,25 ccm Kaninchenserum + 0,025 ccm Menschenserum an, da im Glase ein Verhältnis von 0,1 : 0,01, das stärkste Präzipitat entstand.

#### Versuch 5.

Meerschweinchen 11. 235 g. 1 ccm NaCl, nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 30 Minuten: Ziemlich zahlreiche Bacillen.

Nach 1 Stunde: Ziemlich zahlreiche Bacillen.

Nach 2 Stunden: Vereinzelte Bakterien, zahlreiche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 3 Stunden: Eiter, keine Bakterien.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 12. 240 g. 0,25 ccm präzipit. Serum + 0,025 Menschen-serum; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 30 Minuten: Ziemlich zahlreiche Bakterien.

Nach 1 Stunde: Deutliche Vermehrung der Bakterien.

Nach 2 Stunden: Anhaltende Vermehrung der Bakterien.

Nach 3 Stunden: Noch zahlreiche Bakterien, ziemlich zahlreiche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 4 Stunden: Abnahme der Bakterien, spärliche Leukocyten mit Phagocytose (Tier krank).

Stirbt nach 19 Stunden mit spärlichen Leukocyten und vereinzelt Bakterien in der Bauchhöhle.

#### Versuch 6.

Meerschweinchen 13. 240 g. 1 ccm Kochsalzlösung; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach  $\frac{1}{4}$  Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Abnahme der Bakterien. Spärliche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 2 Stunden: Starke Abnahme der Bakterien. Zahlreiche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 3 Stunden: Keine Bakterien. Massenhaft Bacillen mit starker Phagocytose.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 14. 245 g. 0,25 ccm präzipit. Serum + 0,025 Menschen-serum; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach  $\frac{1}{4}$  Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Vermehrung der Bakterien.

Nach 2 Stunden: Deutliche Vermehrung der Bakterien, spärliche Leukocyten mit Phagocytose.

Nach 3 Stunden: Zahlreiche Bakterien gegen früher nicht vermindert, jedoch etwas mehr Leukocyten mit Phagocytose (Tier krank).

Stirbt nach 23 Stunden mit spärlichen Bacillen und spärlichen Zellen, die starke Phagocytose aufweisen, im Exsudate.

Hieraus geht hervor, daß stärker komplementbindende Mittel auch stärker wirksam sind. Die eingespritzten Bakterien vermehren sich, die Vermehrung dauert mehrere Stunden an, so daß die Tiere bereits nach der 3. Stunde schwer krank sind. Obgleich die Bakterien wieder abnehmen, indem Leukocyten auftreten, welche die Bauchhöhle von den Bakterien befreien, stirbt das Tier an Vergiftung. Es gelingt also, wenn man die eine Komponente, welche nach den Reagenzglasversuchen nötig ist, um die Heubacillen zu zerstören, nämlich die Serumwirkung, ausschaltet, eine, wenn auch nicht unbegrenzte Vermehrung der Bakterien in der Bauchhöhle zu ermöglichen. Diese erfolgt wahrscheinlich dadurch, daß die Leukocyten die nicht vom Serum opsonisch beeinflussten Bakterien nicht in genügender Menge aufnehmen. Mit dem frischen Ersatz der Körperflüssigkeit, welche ja in die Bauchhöhle stets zuströmt, und da das komplementbindende System nicht unerschöpflich ist, gelingt es dann den auch in geringer Menge anwesenden Leukocyten die Bakterien zu vernichten. Die mehrere Stunden anhaltende Bakterienvermehrung hat aber schon genügt, die Tiere zu vergiften; das komplementbindende System ist selbstverständlich ungiftig. Es läßt sich also der volle Effekt, nämlich die bis zum Tode anhaltende Vermehrung durch Paralysisierung der Körpersäfte allein nicht erreichen, was man in volle Uebereinstimmung mit den Glasversuchen bringen kann, indem sich dabei gezeigt hat, daß die Inaktivierung des Serums den Leukocyten nur einen Teil ihrer Wirksamkeit nimmt, sie aber nicht vollends aufhebt.

Wir müssen nun versuchen, die Aktion der Leukocyten zu unterdrücken oder wenigstens zu beeinträchtigen. Eine isolierte Schädigung der Leukocyten durch Bakteriengifte ist sehr schwer zu erzielen, da man hierbei dem Einwand nicht begegnen kann, daß man zugleich die Säftewirkung beeinträchtigt (Komplementbindung). Nun scheint aber das Subtilis-Aggressin ein geeignetes Mittel zu sein, welches die Leukocyten ziemlich isoliert beeinflusst. Weil und Nakayama (5) haben schon früher gezeigt, daß das Subtilis-Aggressin in der Epruvette die Phagocytose vollkommen verhindert. Wir möchten jedoch recht vorsichtig sein mit der Uebertragung dieser Versuche auf den Tierkörper; es ist immerhin möglich, daß das mit den Bacillen eingespritzte Aggressin die Phagocytose und die damit verbundene Keimvernichtung sehr beeinträchtigt; es muß aber zugegeben werden, daß bei den unter dem Einflusse des Aggressins gestorbenen Tieren, die im Exsudate vorhandenen spärlichen Leukocyten oft intensive Phagocytose zeigen, ein Umstand, auf den schon Kikuchi (15) bei Dysenterieinfektion hingewiesen hat. Wir möchten vielmehr die Wirkung des Aggressins so auffassen, daß es die Vitalität der eingespritzten Keime erhöht, welche sich sofort vermehren und dadurch die Leukocyten abhalten. Auf diese Weise ist ein unbeschränktes Wachstum der Bakterien ermöglicht.

#### Versuch 7.

Meerschweinchen 15. 200 g. 3 ccm NaCl + 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Ziemlich zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 2 Stunden: Starke Abnahme der Bakterien. Zahlreiche Zellen mit starker Phagocytose.

Nach 5 Stunden: Keine Bakterien; Eiter.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 16. 225 g. 3 ccm „künstliches“ Serumaggressin + 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 2 Stunden: Abnahme der Bakterien. Zahlreiche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 5 Stunden: Keine Bakterien, Eiter.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 17. 235 g. 3 ccm Aggressin<sup>1)</sup> + 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 2 Stunden: Starke Vermehrung der Bakterien, wenige Zellen.

Nach 5 Stunden: Massenhaft Bakterien. Spärliche Zellen.

Stirbt nach 6 $\frac{1}{2}$  Stunden: Im Bauchhöhlenexsudate zahlreiche Bacillen, keine Sporen, spärliche Zellen mit Phagocytose.

#### Versuch 8.

Meerschweinchen 18. 205 g. 3 ccm Kochsalzlösung + 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 $\frac{1}{2}$  Stunden: Abnahme der Bakterien.

Nach 2 Stunden: Spärliche Bakterien. Zahlreiche Leukocyten und Phagocytose.

Nach 18 Stunden: Dicker Eiter, keine Bakterien.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 19. 220 g. 4 ccm „künstliches“ Serumaggressin + 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 $\frac{1}{2}$  Stunden: Bakterien etwas vermindert. Ziemlich zahlreiche Leukocyten mit Phagocytose.

1) Exsudat von Meerschweinchen, die der intraperitonealen Infektion mit starker Bakterienvermehrung erlegen sind.

Nach 2 Stunden: Abnahme der Bakterien. Zahlreiche Leukocyten mit Phagocytose.

Nach 18 Stunden: Dicker Eiter, keine Bacillen.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 20. 245 g. 3 ccm Aggressin + 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach 1 Stunde: Vermehrung der Bakterien.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden: Starke Vermehrung der Bakterien.

Nach 2 Stunden: Zunehmende Vermehrung der Bakterien. Spärliche Leukocyten mit Phagocytose.

Stirbt nach 5 Stunden: Im Bauchhöhlenexsudate massenhaft Bacillen.

Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, daß das Subtilis-Aggressin in der Tat ein uneingeschränktes Wachstum der Heubacillen ermöglicht. Weiter verwendeten wir in diesen Versuchen einen Heubacillen-Serumextrakt, auf die Weise hergestellt, daß wir 8 Agarkulturen in 8 ccm aktives Meerschweinchenserum aufschwemmten und 24 Stunden bei Zimmertemperatur schüttelten. Hierbei waren die Bakterien ähnlichen Bedingungen wie im Körper ausgesetzt, indem sich die Bakterien beim Schütteln vermehrten, so daß, wie wir uns durch mikroskopische Präparate überzeugten, die Sporen zu Bakterien ausgewachsen waren. Dieser abzentrifugierte Extrakt (künstliches Aggressin) erweist sich im Versuche nur insofern wirksam, daß er sich wie ein schwach komplementbindendes Mittel verhält. Die Leukocytenwirkung des Aggressins nachzuahmen ist er nicht imstande.

Wir haben noch das Aggressin auf seine komplementbindende Fähigkeit im Glase untersucht.

Tabelle VII.

Subt.-Aggressin	Komplement (Meersch.-Ser.)		Ambozept. (Kan.-Serum)	Rinderblut 5-proz.	2 Stdn. bei 37° hierauf 24 Stdn. in der Kälte
0,1	0,1	1 Stunde bei 37°	0,01	1 ccm	komplett
0,25	0,1		0,01	1 "	"
0,5	0,1		0,01	1 "	"
0,1	—		0,01	1 "	θ
0,25	—		0,01	1 "	Spur
0,5	—		0,01	1 "	komplett
—	0,1		0,01	1 "	"
—	—		0,01	1 "	θ
—	0,1		—	1 "	θ

Wir ersehen daraus, daß das Subtilis-Aggressin nicht nur nicht Komplement bindet, sondern sogar in größerer Menge noch unverändertes Komplement besitzt. Auf die Ungiftigkeit des Aggressins in der zur Aggressinwirkung notwendigen Quantität haben wir schon früher hingewiesen, außerdem sehen wir aus diesen Versuchen, daß die dem Aggressin gleiche Menge Extrakt und überdies 1 Oese Heubacillen anstandslos vertragen werden. Die Extrakte sind aber, worauf alle Untersucher hingewiesen haben, viel giftiger als die analogen Aggressine. Die Aggressinwirkung würde also darauf beruhen, daß es mit den Bakterien zusammen die Leukocytenwirkung unterdrückt, denn wir wissen, daß es allein ebenso wie normales Meerschweinchenserum oder Kochsalzlösung Leukocyten anlockt; durch diese gemeinsame Wirkung läßt sich ja die Spezifität der Aggressinwirkung erklären.

Verbinden wir nun ein die Aktion der Leukocyten verhinderndes und ein die Körpersäfte ausschaltendes Mittel, d. h. unterdrücken wir

alle Schutzkräfte, die der Organismus gegenüber dem Heubacillus aufbringt, so muß es mit Leichtigkeit gelingen, ein schrankenloses Wachstum desselben zu erzielen. Der Choleraextrakt<sup>1)</sup> scheint uns zu diesem Zwecke aus folgenden Gründen sehr geeignet zu sein. Derselbe ist im stande, durch seine Giftigkeit, in der Menge von 3 ccm intraperitoneal injiziert, kleine Meerschweinchen (150—180 g) in 16—24 Stunden zu töten; die Peritonealflüssigkeit ist ungemein arm an Leukocyten, welche der giftige Extrakt ziemlich vollständig fernhält. Ferner wirkt derselbe sehr stark komplementbindend, indem er schon in der Menge von 0,05 ccm durch Komplementabsorption die Hämolyse verhindert, wie Axamit (16) gezeigt hat. Die komplementbindende Funktion kann man noch durch Zusatz von Choleraimmunserum erhöhen, wodurch die Bedingungen zur Präzipitation gegeben sind und die damit im Zusammenhang stehende stärkere Komplementbindung zu stande kommt.

#### Versuch 9.

Meerschweinchen 21. 200 g. 3 ccm Kochsalzlösung; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Ziemlich zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden: Abnahme der Bakterien. Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 2 Stunden: Vereinzelte Bacillen; zahlreiche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 4 Stunden: Keine Bacillen, Eiter.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 22. 230 g. 3 ccm Choleraextrakt + 0,1 Choleraimmunserum; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden: Vermehrung der Bakterien.

Nach 2 Stunden: Massenhaft Bacillen.

Nach 4 Stunden: Wimmelnd von Bacillen. (Schwer krank.)

Stirbt nach 6 Stunden mit massenhaft Bacillen und sehr spärlichen Leukocyten mit Phagocytose im Bauchhöhlenexsudat.

#### Versuch 10.

Meerschweinchen 23. 250 g. 3 ccm Kochsalzlösung; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Ziemlich zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden: Starke Abnahme der Bakterien, Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 2 Stunden: Vereinzelte Bakterien; zahlreiche Leukocyten mit starker Phagocytose.

Nach 4 Stunden: Eiter, keine Bakterien.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 24. 260 g. 3 ccm Choleraextrakt; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Bacillen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden: Vermehrung der Bakterien.

Nach 2 Stunden: Massenhaft Bakterien, einzelne Leukocyten mit Phagocytose.

Nach 4 Stunden: Massenhaft Bakterien.

Stirbt nach  $6\frac{1}{2}$  Stunden mit massenhaft Bacillen und spärlichen Zellen im Bauchhöhlenexsudate.

Meerschweinchen 25. 300 g. 3 ccm Choleraextrakt + 0,1 Choleraimmunserum; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Bacillen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden: Vermehrung der Bakterien.

Nach 2 Stunden: Zunehmende Vermehrung der Bakterien.

Nach 4 Stunden: Massenhaft Bakterien.

Stirbt nach  $6\frac{1}{2}$  Stunden mit zahlreichen Bacillen und spärlichen Zellen im Bauchhöhlenexsudate.

1) Choleraextrakt wurde in diesen Versuchen durch 24-stündiges Schütteln von Aufschwemmungen von Cholera vibriolen (1 Kollé-Schale mit 8 ccm abgespült) hergestellt und nach dem Zentrifugieren verwendet.

## Versuch 11.

**Meerschweinchen 26.** 195 g. 1,5 NaCl; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Ziemlich zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden: Starke Abnahme der Bakterien. Leukocyten mit Phagocytose.

Nach 3 Stunden: Einzelne Bakterien, zahlreiche Leukocyten mit Phagocytose.

Nach 4 Stunden: Keine Bakterien, Eiter.

Bleibt am Leben.

**Meerschweinchen 27.** 200 g. 1,5 ccm Choleraextrakt + 0,05 Choleraimmunserum; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Ziemlich zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden: Zahlreiche Bacillen, weniger Sporen.

Nach 3 Stunden: Massenhaft Bacillen. (Tier schwer krank.)

Nach 4 Stunden: Massenhaft Bacillen.

Stirbt nach 8 Stunden mit zahlreichen Bacillen und vereinzelt phagocytierten Leukocyten im Bauchhöhlenexsudate.

**Meerschweinchen 28.** 200 g. 0,5 ccm Choleraextrakt + 0,05 Choleraimmunserum; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1 Oese Heubacillen intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Ziemlich zahlreiche Bacillen und Sporen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden: Zahlreiche Bacillen, weniger Sporen.

Nach 3 Stunden: Nur massenhaft Bacillen. (Tier schwer krank.)

Nach 4 Stunden: Massenhaft Bacillen.

Stirbt nach 8 Stunden. Im Bauchhöhlenexsudate massenhaft Bacillen, spärliche Zellen.

Wir entnehmen diesen Versuchen, daß der Choleraextrakt in größerer und geringerer Menge, wo er für die Lebensgefährdung des Tieres schadlos ist, den Heubacillus sehr leicht zum Wachstum in der Meerschweinchenbauchhöhle befähigt<sup>1)</sup>. Diese intensive Wirkung beruht darauf, daß der Organismus aller ihm zu Gebote stehenden Schutzmittel beraubt ist. Durch seine Giftigkeit hält der Choleraextrakt die Leukocyten fern, und durch seinen Gehalt an gelösten Bakteriensubstanzen macht er durch Komplementbindung die Körpersäfte unwirksam.

Wir sehen also, daß es tatsächlich gelingt, auch Mikroorganismen, welche für das normale Tier sehr wenig virulent sind, infektiös zu machen, wenn man die Ursachen ergründet, welche die Wachstumsbehinderung im Körper bedingen. Hierbei kann, wie die vorliegende Untersuchung zeigt, die Beobachtung im Reagenzglase gute Dienste leisten. Besonders Versuche mit Leukocyten geben im Glase und Tierkörper ziemlich gute Uebereinstimmung, worauf auch Neufeld (17) hingewiesen hat. Denn es handelt sich bei den Leukocyten um lebende Zellen, welche auch außerhalb des Körpers ihre Lebensfähigkeit bewahren. An Intensität der Wirkung lassen sich allerdings die Versuche in der Epruvette nicht mit den Vorgängen im lebenden Organismus vergleichen, wie ebenfalls unsere Versuche zeigen. Denn gegenüber größeren Bakterienmengen sind selbst große Mengen von Leukocyten machtlos, während der Körper große Bakterienmassen bewältigt. Das darf aber nicht wunder nehmen, wenn man in Erwägung zieht, daß die Lebenstätigkeit der Zellen im lebenden Organismus eine viel intensivere ist, und wenn man bedenkt, daß im Körper stets ein Ersatz von Säften und Zellen eintritt.

Wenn wir die Ursachen der Keimvernichtung an sich ins Auge fassen, so haben wir nach unseren Versuchen zwei Grenzformen von Mikroorganismen zu unterscheiden, welche durch ihr Verhalten gegen-

1) Wir möchten diese Methode auch für andere wenig virulente Bakterien empfehlen, um sie im Tierkörper behufs Virulenzsteigerung zum Wachstum zu bringen. Dieselbe hat sich uns auch bei anderen Bakterien sehr bewährt, so insbesondere beim Meningococcus.

über den Körpersäften charakterisiert sind. Am einen Ende steht der *Vibrio Metschnikoff*, welcher der bakteriziden Fähigkeit der freien Säfte zum Opfer fällt, am anderen Ende der *Heubacillus*, gegen den die Körperflüssigkeiten nicht bakterizid wirken, sondern in einer anderen Richtung die phagozytierende Tätigkeit der Leukocyten unterstützen. Es ist wahrscheinlich, daß bei den verschiedenen Tierarten und Mikroorganismen sich zahllose Uebergänge finden, indem einmal die humoralen, das andere Mal die cellulären Schutzorgane des Organismus mehr in den Vordergrund treten. Vom teleologischen Standpunkt aus ist letzteres das viel günstigere; denn der von den Leukocyten aufgenommene Keim wird, wenn er im Innern der Zelle zerstört wird, auch seiner Giftigkeit beraubt, weil neben der bakteriziden Funktion der Leukocyten auch gleichzeitig ihre entgiftende Eigenschaft in Aktion treten kann. Der in der freien Flüssigkeit aufgelöste Mikroorganismus kann aber noch durch Resorption der freigewordenen Giftstoffe gefährlich werden, wenn nicht sekundär die Leukocyten das Gift unschädlich machen.

#### Zusammenfassung.

1) Das normale Meerschweinchenserum wirkt sehr stark bakterizid auf den *Vibrio Metschnikoff*.

2) Da die bakterizide Wirkung sich auch im Peritoneum nachweisen läßt, so kann die Resistenz des Meerschweinchens gegen den *Vibrio Metschnikoff* auf den bakteriolytischen Eigenschaften seiner Körpersäfte beruhen.

3) Weder das Meerschweinchenserum noch die Meerschweinchenseukocyten, wenn man sie isoliert wirken läßt, sind befähigt, den *Heubacillus* abzutöten.

4) Die kombinierte Wirkung von Meerschweinchenserum und Meerschweinchenseukocyten zerstört aber den *Heubacillus*.

5) Diese Reagenzglasversuche lassen sich auf die Meerschweinchenseukocyten übertragen; denn wenn man durch komplementbindende Mittel die Wirkung der Körpersäfte ausschaltet, kann man ein wenn auch nicht unbeschränktes Wachstum des *Subtilis* erzielen.

6) Wenn man ferner durch *Subtilis*-Aggressin die Leukocytenwirkung lähmt, kann man ein starkes Wachstum ermöglichen.

7) Wenn man weiter durch Choleraextrakt die Leukocyten- und Säftewirkung unterdrückt, ist ein unbeschränktes Wachstum des *Heubacillus* in der Meerschweinchenseukocytenhöhle zu erreichen.

8) Es ist also, im Gegensatz zur humoralen Resistenz beim *Vibrio Metschnikoff*, die natürliche Immunität des Meerschweinchens gegen den *Heubacillus* auf die cellulären Eigenschaften zurückzuführen, wobei der Gewebsflüssigkeit eine unterstützende Rolle zukommt.

#### Literatur.

- 1) van Leent, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII.* 1900.
- 2) Metschnikoff, *Immunität bei Infektionskrankheiten.*
- 3) Bail und Pettersson, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV.* 1903. Heft 1.
- 4) Weil, *Wien. klin. Wochenschr.* 1905. No. 25.
- 5) Weil und Nakayama, *Berl. klin. Wochenschr.* 1906. No. 3.
- 6) Wright, *Lancet.* 1904.
- 7) Löhlein, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Beil. Bd. XXXVIII.*
- 8) Gruber und Futaki, *Münch. med. Wochenschr.* 1906. p. 249.
- 9) Pettersson, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL.* 1906. Heft 4.

Erste Abt. Orig. Bd. XLIV.

Heft 2.

12

- 10) Pfeiffer und Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 2.
- 11) Weil, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 2.
- 12) —, Arch. f. Hygiene. 1907.
- 13) Prettner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 8.
- 14) Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 4.
- 15) Kikuchi, Arch. f. Hygiene. Bd. LII.
- 16) Axamit, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 4.
- 17) Neufeld, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Beil. Bd. XXXVIII.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Typhusbakteriämie und Agglutinationsvermögen im Verlaufe des Typhus abdominalis.

(Aus dem städtischen Obuchow-Krankenhaus für Männer in St. Petersburg  
[Chefarzt: A. A. Netschajew].)

Von **V. B. Stühlern.**

Mit 6 Kurven.

Die Bedeutung der Gallenkultur als Anreicherungsmittel zum Nachweis der Typhuserreger im Blute ist durch die Arbeiten von Conradi, Brion und Kayser, Kayser, Meyerstein, Fornet und Zeidler bewiesen und die Vorzüge dieser Methode müssen jetzt als allgemein anerkannt angesprochen werden.

Um einen weiteren Beitrag auf dem Typhusgebiete liefern zu können, legte ich mir folgende 3 Fragen vor, die ich durch möglichst systematische Blutuntersuchungen mittelst der Gallenkultur und gleichzeitiger Bestimmung des Agglutinationstiter zu beantworten suchte.

Die 3 Fragen sind folgende:

1) Kann ein Parallelismus zwischen Typhusbakteriämie und Schwere des Krankheitsfalles nachgewiesen werden?

2) Wie verhält sich im Verlaufe des Abdominaltyphus das Agglutinationsvermögen zur Bakteriämie?

3) Wie gestaltet sich die Bakteriämie beim Typhusrezidiv?

Die Methodik, die ich bei meinen Untersuchungen anwandte, war folgende:

Es wurden nach entsprechender Desinfektion der Haut 2 ccm Blut mittels Venenpunktion, oder wo dies nicht möglich war, aus dem Ohrfläppchen mittelst steriler Pipette (nach Conradi) entnommen und so gleich in Röhrchen gelassen, die 4,5—5,0 ccm steriler Rindergalle enthielten. Nach 8—24-stündigem Aufenthalte der Gallenblutkultur im Brutschranke bei 37° wurden Aussaaten gemacht, wobei 5—10 Platinösen auf einfachem Nähragar verrieben wurden; in den Fällen, wo das Blut aus dem Ohrfläppchen entnommen war, wurden Drigalsky-Conradi-Agarplatten benutzt. In allen Fällen wurde außerdem noch die Gallenblutkultur im hängenden Tropfen bakterioskopisch untersucht, wobei hierbei ein positiver Bacillenbefund schon nach 8—12 Stunden gemacht werden konnte. Diese Untersuchungsart ist als frühdiagnostisches Mittel sehr zu empfehlen; außerdem fällt ihr noch die Bedeutung zu, daß in manchen Fällen, wo die Aussaaten der Gallenblutkultur steril blieben, im hängenden Tropfen dagegen einzelne bewegliche, manchmal auch zusammengeballene (agglutinierte) oder fadenförmige Bacillen zu sehen waren, die als Typhusstäbchen angesprochen werden konnten,



welche vermutlich infolge abgeschwächter resp. erloschener Lebensfähigkeit auf Nähragar keine Kolonien gaben. Beiläufig will ich noch erwähnen, daß in vielen Fällen auch die Züchtung der Typhusbacillen aus dem Blutkuchen nach Fornet angewendet wurde, wobei im Vergleich zu der einfachen Gallenblutkultur in 75 Proz. der Fälle ein positiver Bacillenbefund erhalten wurde. Parallel mit der Blutkultur wurde der Titer der Agglutination der entsprechenden Sera bestimmt. Das Agglutinationsvermögen wurde in allen Fällen makroskopisch und quantitativ geprüft, wobei lebende 24-stündige Bouillonkulturen eines virulenten Typhusstammes zur Anwendung kamen; die erhaltenen Werte wurden erst nach 24-stündigem Aufenthalte bei Zimmertemperatur vermerkt.

Im ganzen habe ich 98 Typhusfälle untersucht und im folgenden will ich in Kürze über die dabei erhaltenen Resultate berichten. Um letztere übersichtlicher zu fassen, habe ich 47 Fälle mit wiederholter (2—8mal) bakteriologischer Blutuntersuchung in 3 Tabellen gruppiert.

Tabelle I enthält 27 Fälle, die mit Genesung endigten (8 Fälle schweren Typhus, 16 Fälle mittelschweren und 3 Fällen leichten Typhus).

Tabelle II enthält 12 Typhusfälle mit Rezidiv.

Tabelle III enthält 8 Fälle mit tödlichem Ausgange.

Außer diesen 47 Fällen habe ich noch in weiteren 51 Fällen die Blutkultur und Agglutinationsprobe je einmal machen können; 22mal ergab dabei die Blutkultur einen positiven und 29mal einen negativen Bacillenbefund.

Von 98 Typhusfällen mit 195 Blutuntersuchungen vermittelt der einfachen Gallenröhre konnten in 67 Fällen (d. h. in 68 Proz.) die Typhuserreger im Blute nachgewiesen werden.

Im Verlaufe der 1. Woche kamen 36 Fälle zur Untersuchung und in 34 Fällen war der Typhusbacillenbefund positiv (d. h. in 94,4 Proz.).

Im Verlaufe der 2. Woche wurden 87mal Blutkulturen gemacht, die in 60 Proz. Typhusbacillen ergaben.

Im Verlaufe der 3. Woche konnte bei 24 Fällen in 16 Proz. Typhusbakteriämie nachgewiesen werden.

Im Verlaufe der 4. Woche kamen 13 Fälle mit 7 Proz. positivem Typhusbacillenbefund zur Untersuchung.

Indem ich zur allgemeinen Charakteristik der Typhusbakteriämie in den untersuchten Fällen übergehe, will ich nochmals bemerken, daß in der 1. Krankheitswoche die Bacillen im Blute unabhängig von der Schwere der Erkrankung in 94,4 Proz. der Fälle nachgewiesen werden konnten; angefangen vor der 2. Woche konnte die Bakteriämie schon seltener konstatiert werden und zwar in 60 Proz.; während der 3. Woche gelang der Nachweis der Bacillen im Blute noch seltener und zwar nur in 16 Proz. der Fälle. Meine Ergebnisse bestätigen den Satz von Kayser: „wenn allerdings in der 3. und besonders 4. sowie 5. Woche auch in kleinen Blutquanten (0,5 ccm) Bacillen, zumal ohne Anreicherung, nachweisbar sind, so spricht dies für eine besondere Schwere der Erkrankung“; und zwar findet diese Beobachtung Kayzers ihre Bekräftigung darin, daß in meinen Fällen von leichtem Typhus die Bacillen im Blute nicht mehr angetroffen wurden zu Anfang der 2. Woche, bei Fällen von mittelschwerem Typhus in der Mitte oder zu Ende der 2. Woche und in schweren Fällen von unkompliziertem Typhus verschwanden die Bacillen aus dem Blute erst während der 3. Woche (s. Tabelle I). Zu bemerken ist hierbei, daß während der ganzen Untersuchungsperiode die Typhusepidemie in Petersburg einen recht gutartigen Charakter trug

Tabelle  
Typhusfälle

Krank- heitstag	No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Schwere Fälle	1					T -60				T 70					
	2					T -60									
	3							T 60	T 80						T 200
	4								T 60			T 60	T 250		
	5								T 80						T 200
	6									T -80					T 100
	7									T -80					
	8									T -60					
Mittel- schwere Fälle	9								T 60			T			
	10				T				T				0		
	11								T 60				T 200		
	12								T 120						
	13						T 80						0 400		
	14													0 200	
	15									T 80					0 200
	16							T 80		T 80					0 300
	17										T 100				
	18									T 60				0 200	
19												T 100			
20											T 100				
21										T 80					
22									T 80					3000	
23												T 100			
24												T 120		0 250	
Leichte Fälle	25							T 100			0 120			200	
	26						T 60				0 100				
	27					T 80					0 200				

Erklärung der Zeichen: T = positiver Typhusbacillenbefund im Blute (auf Agar zahlreiche Typhuskolonien). 0 = negativer Züchtungsbefund des Blutes. -60,

und dementsprechend der Verlauf der Krankheit gewöhnlich ein relativ leichter war. Fälle von sogenanntem hypertoxischen Typhus kamen nicht zur Untersuchung, und leider konnte auch die Bakteriämie in diesen Fällen nicht studiert werden; anzunehmen ist jedoch mit einiger Wahrscheinlichkeit, daß bei dieser Form die Bakteriämie in den Vordergrund tritt, und daß vielleicht hierbei ein Uebergang zur Septikämie vorliegt.

Auch der von Meyerstein ausgesprochene Satz: „während sich in der 1. Krankheitswoche Typhusbacillen im Blut mit Regelmäßigkeit durch die Anreicherungsmethode nachweisen lassen, beginnen die Resultate, worin wiederum alle neuen Beobachtungen übereinstimmen, von der 2. Woche an steigend negativ zu werden,“ findet auch durch meine Untersuchungen die entsprechende Bestätigung.

Auf Grund der Resultate, die in Tabelle I niedergelegt sind, kann ein deutlich ausgesprochener Parallelismus zwischen Dauer der Bakteriämie und Schwere des Typhusfalles nachgewiesen werden und zwar: je schwerer der Fall, desto länger sind die Bacillen im Blute vorhanden, und umgekehrt: je leichter der Fall, desto schneller werden sie aus dem Blut eliminiert.

Ferner ist zu bemerken, daß die Typhusbacillen im Blute nur während der Fieberperiode gefunden wurden und in keinem Falle ist ihr Nachweis in der Apyrexie gelungen, im Gegensatz zu der Beobachtung von

I.  
mit Genesung.

Krank- heitstag	No.	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Schwere Fälle	1					T 70									
	2					T 400							0 300		
	3	T									0 1000				120
	4		0 800			T 400			0 120						
	5					0 1000			0 500						
	6					0 200									
	7					0 200									
	8							0 300							
Mittel- schwere Fälle	9							0							
	10		0												
	11	0 500													
	12		0 600												
	13														
	14					250									
	15														
	16														
	17		0 200										500		
	18														
Leichte Fälle	19					0 300									
	20		0 300												
	21	0 300													
	22														
	23	0 250													
	24														
	25				300										
	26	0 120													
27				500											

— 80 = Agglutination 1 : 60; 1 : 80 negativ; 60, 80, 100 u. s. w. = Titer der Agglutination mit Typhusbacillen.

Conradi, welcher in 3 Fällen von Typhusrekoneszenz den Nachweis von Bacillen im Blute führen konnte.

Zur Frage der gegenseitigen Beziehung des Agglutinationsvermögens und der Bakteriämie übergehend, will ich zuerst bemerken, daß in 23,5 Proz. der Fälle, die in der 1. Krankheitswoche untersucht wurden, die Agglutinationsprobe (1 : 80) negativ ausfiel bei positivem Bacillenbefunde des Blutes. Auf Grund von systematischen Untersuchungen der Typhusbakteriämie und gleichzeitiger Bestimmung des Agglutinationstiter konnte ich folgende Beobachtung machen. Fast in allen Fällen wurde ein Ansteigen des Agglutinationsvermögens im Krankheitsverlauf konstatiert, wobei ein positiver Bacillenbefund des Blutes sich nur bei einem Agglutinationstiter bis 1 : 500 nachweisen ließ<sup>1)</sup>; häufiger jedoch wurden schon beim Ansteigen des Titer auf 1 : 200—300 die Bacillen im Blute nicht mehr gefunden. Der Bacillenschwund fällt also gewöhnlich mit dem Einsetzen hoher Agglutinationswerte zusammen. Wenn man

1) Auf Grund der Blutuntersuchungen, die jetzt in unserem Krankenhause weiter fortgesetzt werden, ergibt es sich jedoch, daß in Fällen sehr schweren Typhus auch bei einem Agglutinationstiter von über 1 : 500 Bakteriämie sich nachweisen läßt. Auch habe ich in der Arbeit von Müller und Gräf bei einem Agglutinationstiter bis 1 : 5000 (mikroskopisch?) positiven Typhusbacillenbefund im Blute verzeichnet gefunden; ob es schwere oder leichte Fälle waren, darüber fehlen die entsprechenden Angaben. Ich will noch bemerken, daß die Agglutinationswerte nur eine relative Bedeutung haben können, da sie vom Charakter des Typhusstammes sehr abhängen.

Tabelle II. Typhusfälle mit Rezidiv.

No.	Krankheitswoche	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
1	Typhus mit Rezidiv. Rezidivierende Bakteriämie	T 60	T 60	0 100	0 120	0 200	T 0	0 1000	2000		500	Am 3. Tage des Rezidivs negativer Bacillenbefund, am 6. positiver
2	Typhus- u. Paratyphus A-Infektion im 1. Typhus; im Rezidiv nur Paratyphus A-Infektion (Ta)	Ta 60	Ta 100	0 500	0 250					Ta (200) 50	0 40	Am 6. Tage des Rezidivs im Blute Paratyphus A-Bacillen. In Klammern 0 Agglut. mit Paratyphus A
3	Typhus mit Rezidiv. Rezidivierende Bakteriämie	T 100	T 100	0 0	0 0	T 120	T 200	0 0	0 0	0 300	0 100	Am 4. u. 8. Tage des Rezidivs Typhusbacillen im Blute
4	Typhus mit Nachschub. Rezidivierende Bakteriämie	T 60	T 60	0 200	0 1000	0 250	T 200	0 120	0 250	0 1000		Am 5. u. 8. Tage des Nachschubes im Blute negativer Bacillenbefund, am 11. positiver
5	Typhus mit Rezidiv. Untersucht nur das Rezidiv				0 250	T 500	0 600	0 2000				Am 3. Tage des Rezidivs im Blute Bacillenbefund negativ, am 6. positiv
6	Rezidivierende Bakteriämie im Rezidiv. Bacillenbefund nur im hängenden Tropfen		T 0	0 200	250	100				0 80	0 60	Am 3. Tage des Rezidivs im Blute Bacillenbefund negativ, am 5. positiv, am 8. negativ
7	Typhus mit 2 Rezidiven. Im 1. Rezidiv Bakteriämie, im 2. nicht									T 120	0 100	Am 7. Tage des 1. Rezidivs Bacillenbefund positiv, am 5. des 2. Rezidivs negativ
8	Typhus mit sehr leichtem Rezidiv	T 0	0 200	500	500	0 1000						Am 4. Tage des Rezidivs Bacillenbefund negativ
9	Typhus mit sehr leichtem Rezidiv in der 6. Woche	T 60	0 200	0	0	0 300	0 500	0 500				Am 4. Tage des Rezidivs Bacillenbefund negativ
10	Typhus mit 2 sehr leichten Rezidiven	T 80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Am 3. Tage des 1. Rezidivs und am 3. und 7. des 2. Bacillenbefund negativ
11	Typhus mit sehr leichtem Rezidiv									0 120	0 100	Am 5. Tage des Rezidivs Bacillenbefund negativ
12	Typhus mit 18-tägigem leichten Rezidiv					0 100	0 100	0 100	0 120	0 100	0 100	Am 6., 9., 11., 14. u. 18. Tage des Rezidivs Bacillenbefund negativ

Erklärung der Zeichen: Ta = Paratyphusbacillen A im Blute. (200), (120), (60) = Titer der Agglutination mit Paratyphusbacillen A.

den positiven und negativen Befund der Blutkultur einerseits und den Agglutinationstiter andererseits graphisch darstellt, so ergibt sich, daß die Agglutinationskurve ansteigt, die Kurve der Bakteriämie dagegen abfällt, wobei beide Kurven sich kreuzen, was bei leichten Fällen zu Anfang der 2. Woche, in Fällen mittlerer Schwere in der Mitte oder zu Ende der 2. Woche und in schweren Fällen während der 3. Woche stattfindet (s. Kurven I, II, III). Der Agglutinationstiter kann mithin gewissermaßen als Anzeichen für die Bakteriämie dienen; deshalb wird, je höher ersterer ist, letztere sich mit desto weniger Wahrscheinlichkeit nachweisen lassen.

Tabelle III.  
Typhusfälle mit tödlichem Ausgange.

No.	Krankheitswoche	1.	2.	3.	4.	5.	6.
1	Ileotyphus, Pneumonia catarrhalis, Parotitis purulenta, Pericarditis sero-purulenta	T	T	0 0		Tod	
2	Ileotyphus, Pneumonia catarrhalis, Gangraena pulmonum		T T 100	T 200	200	0 0 400 200	Tod
3	Ileotyphus, Pneumonia catarrhalis, Enterorrhagia, Peritonitis perforativa typhosa	T 100	Tod				
4	Typhus abdominalis, Pneumonia catarrhalis (sine obductione)	T 120		0 400	Tod		
5	Ileotyphus, Pneumonia catarrhalis, Pleuritis sero-purulenta		T T 120 120	0 200		0 200	Tod
6	Ileotyphus, Enterorrhagia, Pneumonia catarrhalis, Diphtheritis intestini crassi		T T — 60 200	Tod			
7	Ileotyphus, Pneumonia fibrinosa et catarrhalis, Parotitis purulenta, Infarctus multiplices haemorrhagicae lienis	T 80	T 300	T 0 400 500	0 T 500 400	Tod	
8	Ileotyphus (Paratyphus A?), Peritonitis perforativa typhosa. (120) = Agglutination mit Paratyphus A		0 — 30 (120)	Tod			

Schon a priori konnte man vermuten, ein solches Verhalten der Typhusbakteriämie zur Agglutination zu finden. Die Untersuchungen von Conradi, Kayser, Zeidler und anderen Forschern zeigen, daß, angefangen von der 2. Woche, der Bacillenbefund des Blutes steigend negativ wird. Andererseits ergibt sich aus den Arbeiten von Iversen, Jørgensen u. A., daß von der 2. Woche an der Agglutinationstiter steigend zunimmt, wobei er gewöhnlich in der 3. Woche seinen Höhepunkt erreicht, um dann wieder schnell zu fallen.

Nur in einigen wenigen Fällen konnte ich ein Ansteigen des Agglutinationstiters nicht beobachten, obgleich Bacillenschwund im Blute vorlag. In zwei von diesen Fällen habe ich parallel die Bakterizidie des Blutes (nach Stern) untersucht und habe hierbei konstatieren können, daß der Titer der Bakterizidie weit über 1 : 500 war bei gleichzeitigem Agglutinationstiter von 1 : 80 resp. 1 : 100. Es ist bekannt, daß nicht selten ein Parallelismus zwischen Bakterizidie und Agglutinationsvermögen nicht vorhanden ist. Wenn der Agglutinationstiter oft gewissermaßen als Anzeichen für die Bakteriämie dienen kann, so muß diese Rolle noch mehr dem Bakterizidietiter zufallen, da die Bakterizidie als Antagonist der Bakteriämie angesehen werden muß.

Es verdient Erwähnung, daß in 2 Fällen (siehe Tabelle I, Fall 4 und Tabelle III, Fall 7) mit schwerem Typhusverlaufe in der 3. Woche ein temporäres Verschwinden der Bakteriämie konstatiert wurde, welches einige Tage anhielt. In beiden Fällen wurde dieser Bacillenschwund im Blute durch einen merklichen Anstieg des Agglutinationstiters begleitet, und zwar das eine Mal von 1:250 bis auf 1:800 und das andere Mal von 1:400 bis auf 1:500. Beim nachfolgenden Abfall des Titers auf 1:400 konnte in beiden Fällen wiederum ein positiver Bacillenbefund im Blute gemacht werden.

Beiläufig will ich noch bemerken, daß es Dr. A. Genken gelungen ist, in meinen Fällen von Typhusbakteriämie einen gewissen Parallelismus zwischen letzterer und der Ehrlichschen Diazoreaktion zu finden.

Was die Typhusbakteriämie im Rezidiv anbetrifft, so habe ich in der einschlägigen Literatur keine systematischen Blutuntersuchungen verzeichnet gefunden. Kayser konnte in 2 Fällen auch im Rezidiv die Typhusbacillen aus dem Blute züchten, das eine Mal am 3., das andere Mal am 4. Tage. Poggenpohl und Zeidler konnten je einmal Typhusbakteriämie während des Rezidivs nachweisen, und zwar am 4. resp. 5. Krankheitstage.

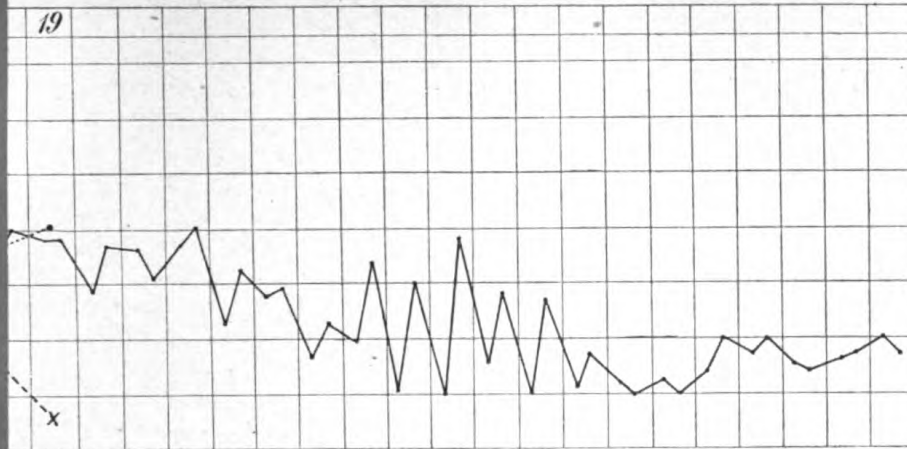
In 12 von mir untersuchten Fällen von Typhusrezidiv konnte ich in 7 einen positiven Bacillenbefund im Blute verzeichnen (s. Tabelle II). In 5 Fällen konnte sowohl im ersten Typhus als auch im Verlaufe des Rezidivs Typhusbakteriämie nachgewiesen werden, d. h. 5mal war ein Bakteriämierезidiv vorhanden. Es gelang mir frühestens am 4. Tage des Rezidivs die Bacillen im Blute nachzuweisen. Auch hier konnte ein deutlicher Parallelismus zwischen der Schwere des Rezidivverlaufes und der Dauer der Bakteriämie beobachtet werden, so zwar, daß bei sehr leichten Rezidiven überhaupt keine Bacillen im Blute gefunden werden konnten. Es hat den Anschein, daß die Dauer der Bakteriämie im Rezidiv eine recht kurze ist (s. Tabelle II u. Kurve 4 u. 5). Das Verhalten der Agglutination zur Bakteriämie im Rezidiv war meistens ungefähr dasselbe wie im ersten Typhus; in einigen Fällen jedoch konnte hier der Bacillenschwund im Blute bei niedrigem Agglutinationstiter beobachtet werden. Zu bemerken habe ich noch, daß niemals in der Inkubationsperiode des Typhusrezidivs ein positiver Blutzüchtungsbefund erhoben werden konnte und daß der früheste Termin des positiven Bacillenbefundes in meinen Fällen der 4. Tag war.

In Tabelle III sind 8 Fälle verzeichnet, die mit Tod endigten; letzterer war in allen Fällen durch hinzugetretene Komplikation bedingt (Pneumonien, Peritonitis, Pleuritis u. s. w.). In 7 Fällen war Typhusbakteriämie vorhanden; 2mal konnten die Bacillen 3 resp. 2 Tage ante mortem aus dem Blute gezüchtet werden; in einem von diesen beiden Fällen wurde zeitweiliger Bacillenschwund beobachtet (s. Kurve 6). Ich wiederhole nochmals, daß meine Untersuchungen in einer Zeitperiode gemacht wurden, in der die Typhusepidemie einen recht gutartigen Charakter hatte und Fälle von sehr schwerem unkomplizierten (hypertoxischem) Typhus nicht zur Beobachtung kamen<sup>1)</sup>.

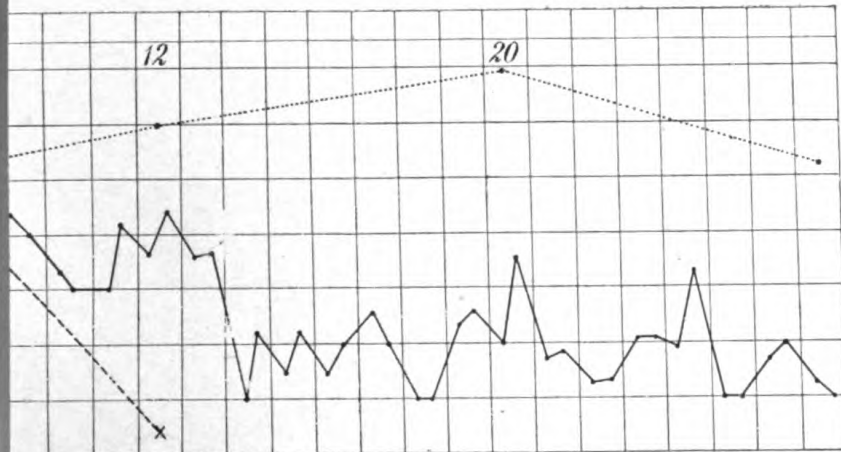
Zum Schluß will ich noch kurz erwähnen, daß von meinen 98 Fällen in 3 Fällen eine Paratyphusinfektion vorlag. Im ersten Falle war ver-

1) Im Jahre 1906 kamen im Obuchow-Krankenhaus zur Aufnahme 2600 Kranke mit Abdominaltyphus, von denen 189 starben (143 Sektionen). Die höchsten Erkrankungs-zahlen fallen auf die Sommermonate.

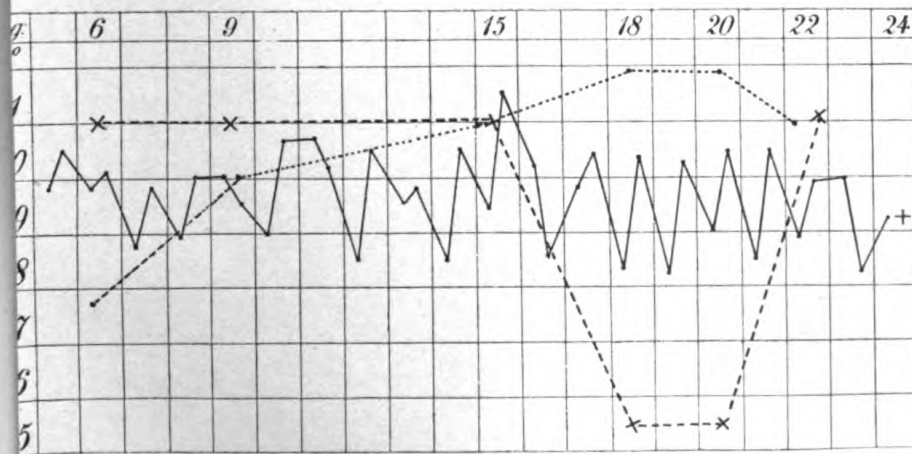
*Stühlern, Typhusbakteriämie.*



Mittelschwerer Typhus (Tabelle I, Fall 8).



II, Fall 1).



Kurve VI. Typhus mit tödlichem Ausgang (Tabelle III, Fall 7.)





mutlich eine Mischinfektion mit Typhus und Paratyphus A vorhanden (s. Tabelle II, Fall 2). Sowohl im ersten Typhus als auch im Rezidiv, das in diesem Falle beobachtet wurde, konnten aus dem Blute Bacillen des Paratyphus A gezüchtet werden. In den beiden anderen Fällen war der Züchtungsbefund des Blutes negativ und der Paratyphus A konnte hier auf Grund der Agglutinationsprobe, also nur mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit, diagnostiziert werden; in einem von diesen Fällen konnte eine perforative typhöse Peritonitis beobachtet werden, die sehr früh (d. h. zu Ende der 2. Woche) auftrat und innerhalb 12 Stunden tödlich verlief (s. Tabelle III, Fall 8).

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Typhusbakteriämie konnte in der 1. Woche in 95 Proz. konstatiert werden, ungeachtet der Schwere des Falles.

2) Von der 2. Woche an konnte der Nachweis der Typhuserreger im Blute schon seltener geführt werden und zwar in 60 Proz. der Fälle; während der 3. Woche wurde die Bakteriämie in 16 Proz. und in der 4. Woche nur in 7 Proz. beobachtet. Gewöhnlich findet man die Bacillen im Blute nicht mehr in leichten Fällen zu Anfang der 2. Woche, in mittelschweren Fällen in der Mitte oder zu Ende der 2. Woche und in schweren Fällen in der Mitte oder zu Ende der 3. Woche. Zwischen der Schwere des Typhusverlaufes und der Dauer der Bakteriämie existiert also ein deutlicher Parallelismus und zwar je schwerer der Fall, desto länger lassen sich die Bacillen im Blute nachweisen.

3) Der Bacillenschwund fällt gewöhnlich mit dem Einsetzen hoher Agglutinationswerte zusammen. Wenn man den positiven und negativen Befund der Blutkultur einerseits und den Agglutinationstiter andererseits graphisch darstellt, so ergibt sich, daß die Agglutinationskurve ansteigt, die Kurve der Bakteriämie dagegen abfällt, wobei beide Kurven sich kreuzen, was bei leichten Fällen zu Anfang der 2. Woche, in Fällen mittlerer Schwere zu Ende der 2. Woche und in schweren Fällen während der 3. Woche stattfindet. Der Agglutinationstiter kann mithin gewissermaßen als Anzeichen für die Bakteriämie dienen; deshalb wird, je höher ersterer ist, letztere sich mit desto weniger Wahrscheinlichkeit nachweisen lassen.

4) Bei Typhusrezidiven konnten die Bacillen im Blute erst vom 4. Tage an nachgewiesen werden. Desgleichen ergibt sich aus meinen Blutuntersuchungen ein deutlicher Parallelismus zwischen der Schwere des Rezidivverlaufes und der Dauer der dabei beobachteten Bakteriämie, so zwar, daß bei sehr leichten Rezidiven überhaupt keine Bacillen im Blute gefunden werden konnten. Beim Typhusrezidiv kann der Bacillenbefund negativ werden, bevor die Agglutinationskurve ansteigt.

5) Als frühdiagnostisches Mittel kann die Untersuchung der Gallenblutkultur im hängenden Tropfen mit gutem Erfolge angewendet werden; schon nach 8—12 Stunden kann hierbei die Diagnose „Typhus abdominalis“ in der

1. Woche mit großer Wahrscheinlichkeit gestellt werden. Die endgültige Diagnose kann jedoch nur nach Aussaat auf entsprechende Nährböden fixiert werden.

#### Literatur.

- Brion u. Kayser, Dtschs Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXV. 1906. Heft 5/6.  
 Conradi, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 2. Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 34 u. 49.  
 Fornet, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 22.  
 Genken, Russkij Wratsch. 1907. No. 10. [Russisch.]  
 Jörgensen, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 4, 5. 6.  
 Iversen, Zeitschr. f. Hygiene. 1905.  
 Kayser, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 2. Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 17 u. 40.  
 Müller u. Gräf, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2.  
 Meyerstein, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 38 u. 44.  
 Poggenpohl, Russkij Wratsch. 1905. No. 41. [Russisch.]  
 Stern, Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 4.  
 Stühlern, Russkij Wratsch. 1907. No. 10. [Russisch.]  
 Zeidler, Russkij Wratsch. 1907. No. 10. [Russisch.]

*Nachdruck verboten.*

## Widerspruch zwischen den Resultaten der Bacillenzüchtung und der Widalschen Reaktion bei Typhus und Paratyphus.

[Mitteilung aus dem Pathologischen Laboratorium (Prof. Ruitinga) der Universität Amsterdam.]

Von Dr. J. J. van Loghem, Amsterdam.

Aus dem Blute eines Kranken züchtete ich Typhusbacillen; das Serum agglutinierte weder in niedrigen noch in höheren Verdünnungen lebende Typhusbacillen; Paratyphus B-Bacillen aber wurden bis 1:50 agglutiniert. Wäre nichts weiteres herausgekommen, der Fall würde in die schon ziemlich lange Reihe derartiger Fälle, in welchen Widerspruch zwischen der ätiologischen Diagnose und dem Resultate der Agglutinationsreaktion beobachtet worden ist, aufgenommen sein.

Dasselbe Serum zeigte aber außerdem die Eigenschaft, die Bacillen des Fickerschen Typhusdiagnostikums stark zu beeinflussen; die Agglutination mit demselben war bis 1:500 positiv. Typhusagglutinine waren also tatsächlich vorhanden.

Weil es mir scheint, daß ein solcher Unterschied zwischen dem Ausfall der Reaktion mit den lebenden und mit den nach Ficker behandelten Bacillen — in der Literatur bis jetzt wohl noch nicht beschrieben — eine gewisse praktische Bedeutung hat, insbesondere aber vom theoretischen Standpunkte aus Interesse verdient (vergl. z. B. die Arbeiten von Eisenberg, Porges und Prantschoff und Shibayama in den Bdn. XLI u. XLII dieser Zeitschr.), finden hier die Details dieser Blutuntersuchung eine Stelle.

Mit gütigster Zustimmung des Herrn Dr. van Spanje, Direktor des „O. L. Vrouwegasthuis“ in Amsterdam, bekam ich in den letzten Monaten regelmäßig Material von Kranken der Typhusabteilung dieses

Krankenhauses zur Untersuchung. So empfing ich am 18. Juni 1906 — wieder durch die freundliche Mitwirkung des Herrn Dr. P. C. W. M. Busch, I. Arzt des „O. L. Vrouwegasthuis“ — etwa 1½ ccm Blut, am selben Tage dem Patienten Kl. entnommen. Der Kranke, ein kräftiger junger Mann, hatte schon seit 14 Tagen ein allgemeines Unwohlsein gespürt und war seit 4 Tagen bettlägerig.

Beim Empfang war das Blut vollständig koaguliert; nachdem das Serum vom Koagulum getrennt war, wurde das letztere mit 5 ccm Galle etwa 24 Stunden im Brutschranke gehalten; aus der Blutgalle konnten mittels Endo-Platten Typhusbacillen gezüchtet werden<sup>1)</sup>.

Mit dem Serum sind am selben Abend nachstehende Versuche gemacht worden; bezüglich der Technik sei bemerkt, daß eine 24-stündige Agarkultur in physiologischer Kochsalzlösung verrieben wird, bis die gewünschte Trübung erreicht ist; diese Suspension wird mit einer Tropfpipette in kleine Röhrchen verteilt u. s. w.

Tabelle 1.

a) Frisches Serum (Kl.) mit lebenden Typhus-Bacillen (Stamm [S]).

Verdünnung	25	50	100	500	1000
nach 2 Stunden 37°	0	0	0	0	0
nach 12 Stunden Z.T.	Klarifikation ohne Flocken		0	0	0
nach 24 Stunden Z.T.	oder Sediment		0	0	0

b) Dasselbe Serum mit lebenden Paratyphus B-Bacillen.

nach 2 Stunden 37°	0	0	0	0	0
nach 12 Stunden Z.T.	+	+	0	0	0
nach 24 Stunden Z.T.	+	+	0	0	0

Am folgenden Morgen wurde das Serum auch mit dem Fickerschen Typhusdiagnostikum, mit welchem ich, um den Wert desselben kennen zu lernen, regelmäßig Kontrollversuche zu machen gewohnt bin, in mehreren Verdünnungen untersucht.

Tabelle 2.

20 Stunden altes Serum Kl. mit dem Fickerschen Typhusdiagnostikum.

Verdünnung	25	50	100	200	500	1000
nach wenigen Minuten	+	+	0	0	0	0
nach ½ Stunde Z.T.	+	+	+	+	0	0
nach 1½ Stunden Z.T.	+	+	+	+	+	0
nach 24 Stunden Z.T.	+	+	+	+	+	0

Sobald dieses positive Ergebnis der Fickerschen Reaktion zu Tage trat, wurde der Rest der am vorigen Abend benutzten Suspension lebender Bacillen, welcher zufällig noch vorhanden war, mit einem Typhusserum (Kaninchen) von bekanntem Titer (5000) untersucht; die Suspension zeigte normale Agglutinabilität. Auch wurde das Krankenserum Kl. in einigen höheren Verdünnungen bis 1:10 000 mit einer frisch hergestellten Typhusbacillenaufschwemmung geprüft, mit negativem Ausschlag:

Vorläufig konnte also, nach Beendigung der Züchtung, das Folgende

1) Diese Methode aus der Typhusstation in Straßburg i. E. ist von Fernet, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 22, vorläufig mitgeteilt worden. In Amsterdam habe ich mit derselben auf 11 Fälle in der ersten und zweiten Krankheitswoche 9mal den Krankheitserreger aus 1 oder 1½ ccm Blut isoliert (6mal Typhus, 3mal Paratyphus B). (Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. Bd. I. 1907. No. 3.)

über das Blut berichtet werden: Typhusbacillen im Blute; Typhusagglutinine bis 1:500 nachweisbar; Agglutination von Paratyphus B-Bacillen bis 1:50. Der Widerspruch zwischen dem Resultate der Blutzüchtung und des Agglutinationsversuches war also nicht mehr vorhanden. Die Agglutination der Paratyphus B-Bacillen ließ sich am einfachsten als eine Mitagglutination deuten<sup>1)</sup>.

Durch die Feststellung der Anwesenheit von Typhusagglutininen im Blute erschien auch die so selten beobachtete, von einigen Autoren sogar in Abrede gestellte Typhusbakteriolyse (s. Tab. 1a) nicht mehr paradoxal.

Es lag auf der Hand, zu versuchen, über die Natur dieser Agglutinationshemmung, welche nur bei der Prüfung mit lebenden Bacillen zu beobachten war, weiteres kennen zu lernen.

Ueber das Ausbleiben der Agglutination kann man sich verschiedene Vorstellungen bilden. Einerseits ist es möglich, sich die Agglutinine als außerordentlich spezifische Antikörper zu denken, welche nur für bestimmte Bacillenstämme Affinität zeigen, andere Stämme aber unbeeinflusst lassen. So aufgefaßt, würde der positive Ausfall mit dem Fickerschen Diagnostikum ein Ausdruck der spezifischen Affinität der Agglutinine des Serums Kl. zu den für die Herstellung des Diagnostikums benutzten Bacillen sein. Es mußte also untersucht werden, wie unser Serum sich mit anderen Typhusstämmen und auch mit dem aus dem betreffenden Koagulum gezüchteten Stamm verhielt (Tab. 3a).

Andererseits kann man sich die beobachtete Erscheinung, das Ausbleiben der Agglutination, als ein Gehemmtwerden denken und sie knüpfen an die Anwesenheit gewisser anderer Antikörper, welche durch ihre eigene Bindung das Haften der Agglutinine an die Bacillenleiber verhindern. Der positive Ausfall mit dem Fickerschen Diagnostikum würde also zurückgeführt werden können auf eine durch die Herstellung des Präparates herbeigeführte Vernichtung gewisser Rezeptoren der Bacillen, durch welche die Bindung mit den agglutinationshemmenden Antikörpern ausgeschlossen ist. Weiter mußte also untersucht werden, ob die Schädigung der lebenden Bacillen einigen Einfluß auf die Agglutinationshemmung erkennen ließ (Tab. 3 [S<sub>100</sub>]).

Eine dritte Untersuchung mußte gemacht werden in dem Falle, daß die Ergebnisse der beiden anderen Prüfungen zu der Annahme gewisser agglutinationshemmenden Antikörper führten. Es mußte festgestellt werden, ob sie Ambozeptoren sind oder Körper, welche ohne Hilfe der Alexine ihre Wirkung entfalten (Tab. 3b).

Zur Untersuchung der Spezifitätsfrage wurde der Rest des Serums mit verschiedenen Stämmen geprüft.

Stamm [S], welchen ich der Straßburger Typhusstation, wo er im Frühjahr 1906 ebenfalls für Agglutinationszwecke in Anwendung kam, verdanke.

Stamm [R], vor etwa 10 Jahren von Prof. Ruitinga aus einer Typhusleiche isoliert und in unserem Laboratorium bis in die letzte Zeit für Agglutinationsversuche benutzt.

Stamm [Kl], von mir aus dem Koagulum des betreffenden Kranken gezüchtet und mit Kaninchenserum (Stamm [R]) bis zur Titergrenze agglutinabel.

1) Paratyphusdiagnostika (Merck) hatte ich damals noch nicht zur Verfügung.

Auch wurde eine andere Flasche des Diagnostikums — welche etwa 3 Monate früher als die erste von Merck bezogen war — zu dieser Prüfung ausgewählt [Fi<sub>2</sub>].

Zur Ausführung einer Reaktion mit geschädigten Bacillen wurde eine Suspension einer 24 Stunden alten Agarkultur [S]  $\frac{1}{2}$  Stunde im kochenden Wasser erhitzt [S<sub>100</sub>]. Der vorhandene Rest des Serums (der geringen Menge wegen 10-fach verdünnt) wurde in 2 Hälften geteilt; die eine Hälfte  $\frac{1}{2}$  Stunde auf 56° C erwärmt. Die Quanta waren eben ausreichend, eine Probe in 200-facher Verdünnung mit den genannten Stämmen auszuführen.

Tabelle 3.  
a) 5 Tage altes Serum Kl.; Verdünnung 1:200.

Stämme	[S]	[R]	[Kl]	[Fi <sub>2</sub> ]	[S <sub>100</sub> ]
nach 2 Stunden 37°	0	0	0	+	0
nach 12 Stunden Z.T.	0	0	0	+	+ Anfang
nach 24 Stunden Z.T.	0	0	0	+	+ schwach

b) 5 Tage altes Serum Kl.; Verdünnung 1:200;  $\frac{1}{2}$  Stunde auf 56° C.

nach 2 Stunden 37°	0	0	0	+	0
nach 12 Stunden Z.T.	0	0	0	+	+ Anfang
nach 24 Stunden Z.T.	0	0	0	+	+ schwach

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß eine Spezifität des Agglutinins als Ursache des Ausbleibens der Agglutination nicht nachzuweisen war; die lebenden Bacillen dreier Stämme wurden nicht beeinflusst, während die beiden Fickerschen Suspensionen kräftig agglutiniert wurden. Mit dieser Tatsache stimmt die schwache, aber deutliche Agglutinabilität<sup>1)</sup> der erhitzten Bacillen [S<sub>100</sub>] sehr gut überein.

Schwerer ist es zu deuten, daß die Agglutinationshemmung durch das  $\frac{1}{2}$ -stündige Erwärmen des Serums gar nicht beeinflusst schien; bei einem anderen Versuche, mit dem 2 Tage alten Serum Kl. ausgeführt, schien ja die Agglutinationshemmung an Körper geknüpft zu sein, welche wie Ambozeptoren gewisse Bestandteile des frischen Serums brauchten. Das Serum Kl. hatte nämlich nach 2 Tagen in einer sehr niedrigen Verdünnung (1:25) das agglutinationshemmende Vermögen teilweise eingebüßt, konnte aber wieder hergestellt werden durch Hinzufügen eines Tropfen Serums, einige Stunden vorher mir selbst entnommen.

Tabelle 4.

	2 Tage altes Serum Kl. 1 Tr. Bacillensuspension [S] 24 Tr.	2 Tage altes Serum Kl. 1 Tr. Frisches Serum v. L. 1 Tr. Bacillensuspension [S] 24 Tr.
nach 2 Stunden 37°	0	0
nach 4 Stunden Z.T.	+ schwach	0
nach 12 Stunden Z.T.	+ schwach	0
nach 24 Stunden Z.T.	+ schwach	0

In höheren Verdünnungen fiel derselbe Versuch negativ aus.

Im Zusammenhang mit dem obenstehenden, wo 5 Tage altes Serum,  $\frac{1}{2}$  Stunde auf 56° C erwärmtes Serum in 200-facher Verdünnung nicht inaktiviert erschien ([Fi<sub>2</sub>] und [S<sub>100</sub>]), kann der Versuch am einfachsten gedeutet werden, daß die Alexine der betreffenden Ambozeptoren mehr

1) Von den verschiedenen Suspensionen wurden selbstverständlich Kontrollröhrchen angefertigt.

thermostabil sind als die Alexine, welche z. B. bei der Hämolyse im Spiele sind. Leider war es nicht möglich, dieser Frage näherzutreten, da unser Quantum Serum erschöpft war.

Durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. Busch empfang ich am 25. Juni aufs neue Blut des Kranken Kl. Die Agglutinationshemmung war jetzt fast vollständig aufgehoben, so daß ich weitere Versuche zur Bestätigung und weiteren Aufklärung nicht ausführen konnte.

Tabelle 5.

a) 24 Stunden altes Serum Kl. (2. Quantum) mit lebenden Typhusbacillen [S].

Verdünnung	25	50	100	200	500	1000
nach 2 Stunden 37°	0	0	0	0	0	0
nach 2 Stunden Z.T.	+	0	0	0	0	0
nach 4 Stunden Z.T.	+	+	+	+	0	0
nach 10 Stunden Z.T.	+	+	+	+	+	0
nach 24 Stunden Z.T.	+	+	+	+	+	0

b) Dasselbe Serum Kl. mit Fickers Typhusdiagnostikum.

nach $\frac{1}{2}$ Stunde Z.T.	+	0	0	0	0	0
nach 2 Stunden Z.T.	+	+	+	0	0	0
nach 10 Stunden Z.T.	+	+	+	+	+	0
nach 24 Stunden Z.T.	+	+	+	+	+	0

c) Dasselbe Serum Kl. mit lebenden Paratyphus B-Bacillen.

nach 4 Stunden 37°	+	0	0	0	0	0
nach 24 Stunden Z.T.	+	0	0	0	0	0

Meines Erachtens hat die hier mitgeteilte Erfahrung in mehr als einer Hinsicht Bedeutung. Erstens zeigt sie, daß im Fickerschen Diagnostikum Bacillenleiberrezeptoren für gewisse Typhusantikörper zerstört worden sind; für die praktische Verwendung gewiß ein Vorteil.

Aus dieser Beobachtung scheinen mir einige weitere Konsequenzen der Ueberlegung wert, primo insofern sie etwas beitragen zur Erklärung der Unzulänglichkeit der Widalschen Reaktion als ätiologisch-diagnostisches Hilfsmittel.

Der Widerspruch in unserem Falle zwischen der Anwesenheit des Typhusbacillus im Blute ohne nachweisbare Typhusagglutinine und dem positiven Ausfall der Probe mit Paratyphus B-Bacillen — ein Widerspruch, welcher nur zufällig durch eine vergleichende Untersuchung mit dem Fickerschen Diagnostikum aufgehoben worden ist — bildet keine Ausnahme. Aus den Statistiken von v. Drigalski<sup>1)</sup> und Zupnik<sup>2)</sup> und aus den kasuistischen Mitteilungen von Jürgens, Brion, Gaegtgens<sup>3)</sup>, Gräf<sup>4)</sup> u. A. geht deutlich hervor, daß bei Typhusfällen die Paratyphusagglutination nicht selten stärker als die Typhusagglutination auftritt.

In dieser Beziehung kann ich 2 Fälle erwähnen, bei welchen ich Paratyphus B-Bacillen aus dem Blute züchtete und nur Typhusagglutinine nachweisen konnte.

1) v. Drigalski, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. p. 776.

2) Zupnik, Dtsche med. Wochenschr. 1905. p. 1749. (Lit.)

3) Gaegtgens, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 5. (S.-A.)

4) Gräf, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LIV. 1906. p. 201. (Lit.)

Die Erklärung solcher Resultate ist am einfachsten in der komplexen Natur der Sera zu suchen, wie diese im Fall Kl., wo Bakteriolyse, Agglutinine, gewisse Ambozeptoren und andere agglutinationshemmende Antikörper vorhanden waren, tatsächlich nachgewiesen worden ist. Das Serum der Typhuskranken kann Antikörper enthalten, welche eine größere und mehr spezifische Affinität für Typhusbacillen besitzen als die Agglutinine; diese Körper können auf diese Weise die Agglutination hemmen, ohne die Gruppenagglutination zu beeinflussen.

Nach dieser Erfahrung taucht noch eine zweite Frage auf, deren Lösung keineswegs praktisch unmöglich erscheint. Kommen vielleicht bei denjenigen Krankheiten, bei welchen nur abwechselnd agglutinierendes Vermögen des Serums beobachtet worden ist (z. B. bei Tuberkulose), konstant Agglutinine im Serum vor und ist die inkonstante Erscheinung abhängig von agglutinationshemmenden Antikörpern? Dann würde es möglich scheinen, durch eine elektive Vernichtung gewisser Bacillenleiberrezeptoren — nämlich derjenigen, welche agglutinationshemmenden Körpern entsprechen — Bacillenaufschwemmungen darzustellen, die nur Agglutinine binden können.

Nachtrag bei der Korrektur. In der letzten Zeit habe ich über die Möglichkeit, Agglutinationshemmung mit Hilfe von geschädigten Bacillen zu neutralisieren, weitere Erfahrungen gemacht. Es gibt Krankensera, welche die lebenden Bacillen nur in höheren Verdünnungen agglutinieren, die Fickersche Suspension dagegen in starker Konzentration und kurzer Reaktionszeit beeinflussen. Mit der Erklärung, welche Arrhenius in seinem jüngst erschienenen Buche „Immunochemie“ für derartige Hemmungsvorgänge gibt (Maximum der Wirkung bei bestimmter Konzentration), scheinen diese Tatsachen nicht leicht in Einklang zu bringen.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Anwendung von Asbestfiltern zur Filtrierung bakterienhaltiger und trüber Flüssigkeiten.

Von Prof. O. Bujwid, Krakau.

Seit etwa 2 Jahren habe ich in meiner Anstalt ein Asbestfilter angewendet, welches die Firma Th. Seitz in Wien<sup>1)</sup> seit einigen Jahren zur Filtration von Weinen, Essenzen und verschiedenen trüben Lösungen liefert. Das Verfahren besteht in der Zugabe eines kleinen Quantum von Asbestmasse zu der Flüssigkeit und nachdem die Flüssigkeit mit Asbest tüchtig gemischt, rasch geschüttet und auf einmal in den Filter gegossen ist, bekommt man sehr rasch ein ganz klares Filtrat.

Auf diese Weise habe ich in meinem bakteriologischen Laboratorium nicht nur Bouillon und Gelatine, sondern auch von Bakterien getrübe Flüssigkeiten sehr bequem und kristallklar filtriert, so daß eine endlose Filtration durch Filtrierpapier gänzlich unnötig wird und die Filtration sehr wenig umständlich ist und dabei viel weniger kostet.

1) Wien I, Postgasse 11. Für kleine Quantitäten (2—3 l pro Stunde) reicht ein Experimentierfilter H. Preis 16 Kr.

Die Filtration gelatinehaltiger Flüssigkeiten geschieht mittels einer Heißwasservorrichtung.

Für Agar-Agar eignen sich diese Filter nicht besonders. Jedenfalls ist es nach der Filtration unbedingt notwendig, das Filter mit einem starken Wasserleitungsstrom und nicht mit der Bürste zu reinigen.

Ich bin bis jetzt der Anwendung dieses Filters in den bakteriologischen Laboratorien nicht begegnet und halte es deswegen für nützlich, darauf aufmerksam zu machen.

Die Filter eignen sich nicht für die Flüssigkeiten, welche zur Diphtherietoxinbereitung dienen sollen. Es ist merkwürdig, daß Diphtheriebacillen, in den Flüssigkeiten gezüchtet, welche das Filternetz passiert haben, keine starken Toxine liefern. Wahrscheinlich muß dieses Phänomen mit dem Metall des Netzes in Verbindung stehen.

---

*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.

- |   |   |
|---|---|
| <p><b>Bujwid, O.</b>, Ueber Anwendung von Asbestfiltern zur Filtrierung bakterienhaltiger und trüber Flüssigkeiten, p. 191.</p> <p><b>Ellermann, V.</b>, Ueber kleinste Mikroorganismen im menschlichen Speichel, p. 160.</p> <p><b>Gräf, Heinrich und Wittneben, Wilhelm</b>, Zwei durch anaërobes Wachstum ausgezeichnete Streptokokken, p. 97.</p> <p><b>Heyrovsky, Hans und Landsteiner, Karl</b>, Ueber Hämotoxine des Milzbrandbacillus und verwandter Bakterien, p. 150.</p> <p><b>Klein, B.</b>, Ueber die löslichen Giftstoffe der Ruhrbacillen, p. 144.</p> <p><b>van Loghem, J. J.</b>, Widerspruch zwischen</p> | <p>den Resultaten der Bacillenzüchtung und der Widalschen Reaktion bei Typhus und Paratyphus, p. 186.</p> <p><b>Lutz, Adolph</b>, Bemerkungen über die Nomenklatur und Bestimmung der brasilianischen Tabaniden, p. 137.</p> <p><b>Stählern, V. E.</b>, Ueber Typhusbakteriämie und Agglutinationsvermögen im Verlaufe des Typhus abdominalis, p. 178.</p> <p><b>Vannod, Th.</b>, Contributions à l'étude du gonocoque. [Schluß], p. 110.</p> <p><b>Weil, Edmund</b>, Versuche über die Widerstandsfähigkeit bei intraperitonealer Infektion, p. 164.</p> |
|---|---|



# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLIV. Heft 3.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine neue Streptothrixspecies und die Streptothricheen im allgemeinen.

[Chirurgische Klinik der kgl. Universität zu Neapel (Direktor:  
Prof. d'Antona).]

1. Mitteilung.

Von Prof. **R. Caminiti**, Privatdozenten.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Mit 4 Tafeln.

Die Bedeutung, welche die Streptothricheen heute erworben haben, die neuen Untersuchungen und klinischen Beiträge haben dieser Gruppe von Mikroorganismen heute mehr Beachtung verschafft. Früher wurden sie nämlich von der Mehrzahl der Autoren als Saprophyten betrachtet und nicht viel studiert, da man annahm, daß sie für die menschliche Pathologie keine große Bedeutung hätten.

Als Repräsentant einer höheren Stufe der Schizomyceten in der Entwicklungsreihe sind sie auf Grund ihrer Eigenschaften von einigen, und nicht mit Unrecht, als besondere Gruppe zwischen diese und die Hyphomyceten gestellt worden (Mac Callum).

Ihre zarte Gestalt, ihr leichtes Zerfallen in Stäbchen, die Bildung von Fäden, die wie aus Bakterienketten zu bestehen scheinen, das Vorkommen sporenähnlicher Körperchen und die Entwicklung auf den gewöhnlichen Schizomycetennährböden bringen sie den Bakterien nahe; die konstante Verzweigung dagegen, die keulenartigen Formen, das Vorkommen von Ernährungs- und von sporenbildenden Lufthyphen und die leichte Entwicklung auf den verschiedensten Nährböden, namentlich in Bouillon, wo sie, ohne eine Trübung zu verursachen, isolierte Kolonien bilden, begründen andererseits ihre nahe Verwandtschaft mit den Hyphomyceten.

Früher stellte man sie den Cladothrix-Arten nahe (Cohn) oder reihte sie zwischen sie ein (Babes und Cornil); daher wurden sie auch wie die Cladothrix-Arten selbst bald zu den Schizomyceten und bald zu den Algen (Nostocaceen), zu denen die Cladothrix-Arten gehören, gerechnet.

Hinsichtlich der Zurechnung zu den Algen waren Almquist, Israel, Affanasieff, Faideau und Boestroem einer Meinung, während Lachner-Sandoval, Naucyrk, Berestneff, Gasperini und Rossi-Doria sie zu den Hyphomyceten rechneten.

Außer der Unsicherheit in der Klassifizierung der Streptothricheen, die darin bestand, daß man sie bald zu den Schizomyceten, bald zu den Hyphomyceten rechnete, wurde die Verwirrung noch größer dadurch, daß man sie den Leptothrix-, den Crenothrix-Arten, den Beggiatoen und den Cladothrix-Arten nahe oder mit ihnen in eine Familie brachte, und daß die Unterscheidungsmerkmale aller dieser Gruppen in hohem Maße schwankten. Ferner wurden einige von diesen Gruppen zu den Algen, andere zu den polymorphen Bakterien und andere endlich zu den Mucorineen gerechnet.

Alle diese verschiedenen Individuen erschienen in einer großen Familie zusammengelagert, deren morphologische Charaktere zu allgemeiner Natur waren, wie z. B. daß alle aus Fäden verschiedener Form, Größe und Farbe bestanden, daß sie rundliche Körperchen an oder in diesen Fäden als Fortpflanzungsorgane zeigten, daß sie in Stäbchenformen zerfallen könnten, die sich manchmal mit Cilien versehen können (Lehmann); in diesen unklaren Verhältnissen, die bei der Klassifikation herrschten, konnte sich jene feine Arbeit der Analyse und wissenschaftlichen Kritik bald einen Weg bahnen, der zu einer genaueren Kenntnis dieser Wesen führen mußte. Durch die fortschreitenden Studien wurde allmählich das Wesen der einzelnen Individuen besser festgestellt und es kam mehr Klarheit in die morphologischen und biologischen Unterscheidungsmerkmale, auf Grund deren die Bestimmung und Klassifikation der Mikroorganismen leichter gemacht wurden.

Heute gelten deshalb für jede von ihnen folgende Eigenschaften.

Die *Leptothrix*-Arten sind durch sehr zarte, kurze oder lange Fäden charakterisiert, welche gerade, gekrümmt oder miteinander verflochten sind; sie zeigen keine Verzweigungen und haben keine Hülle oder Färbung.

Die *Beggiatoen* sind durch Fäden ausgezeichnet, die dicker als bei den *Leptothrix*-Arten sind; sie haben ebenfalls keine Hülle, enthalten aber Schwefelkörnchen.

Die *Cladothrix*-Arten sind durch dicke farblose Fäden charakterisiert, die sich durch eine falsche oder pseudodichotomische Verzweigung auszeichnen, d. h. ein Glied wächst an der Seite des anderen oder in einem Winkel zu diesem und erweckt so den Anschein einer echten Verzweigung.

Die *Crenothrix*-Arten sind durch dicke, lange, steife und farblose Fäden gekennzeichnet, die von einer gelatinösen Hülle umgeben sind; sie zeigen keine Verzweigung.

Die *Aktinomyceten* haben als Merkmal ein dichtes Netz von wirklich verzweigten Fäden, von denen die am meisten nach außen liegenden strahlenförmig angeordnet sind. Im Tierkörper ist das äußerste Ende dieser peripherischen Fäden keulenförmig verdickt.

Die *Streptothrix*-Arten zeichnen sich dagegen durch lange, ganz feine Fäden aus, die von allen die dünnsten und wie ein Rasen oder ein Haarbüschel innig miteinander verflochten sind. Die Fäden zeigen wahre Verzweigungen, ein Umstand, der sie von den anderen oben erwähnten Formen unterscheidet. Diese Fäden zerfallen im Organismus oder in den alten Kulturen zu Stäbchenformen, Erscheinungen, welche übrigens auch einige der oben erwähnten Fäden zeigen können. Die Fortpflanzung aller dieser Individuen geschieht durch Körperchen, die den Wert von Sporen, aber mit verschiedener Modalität, haben.

Einige von diesen Formen, wie die *Cladothrix* und die *Leptothrix*, werden von manchen noch als *Schizomyceten* aufgefaßt, wenn auch die meisten sie lieber zu den Algen rechnen; andere Formen, wie die *Aktinomyceten* und die *Streptothrix*-Arten, sollen den einfachsten Pilzen nahestehen, obgleich es klarer und richtiger ist, wenn man sie als ein unabhängiges zwischen den *Schizo-* und *Hyphomyceten* stehendes Genus gelten läßt.

Das hauptsächlichste Moment in der Unterscheidung der *Cladothrix* von der *Streptothrix* besteht in der falschen und scheinbaren Verzweigung, welche die erste zeigt, während bei der zweiten eine echte

Verzweigung vorhanden ist; diese Eigenschaft wird heute von allen als fundamental angenommen, wurde aber anfangs vollkommen vernachlässigt oder nur wenig beachtet. Cohn, welcher im Jahre 1874 die Konkretionen der Tränenkanälchen untersuchte, die von Foerster gefunden und ihm dann übersandt worden waren, sah, daß sie aus Haufen eines Fadenzpilzes bestanden, der nach seiner Meinung wahrscheinlich der *Leptothrix* mit falschen Verzweigungen nahestehen mußte. Cohn rechnete zu den verzweigten Formen die *Cladothrix* und die *Streptothrix* und beschrieb deshalb für die erste in klarer Weise die pseudodichotomische oder pseudotrichotomische Verzweigung, während er für die *Streptothrix* eine echte dichotomische Verzweigung angab.

Die folgenden Autoren rechneten ohne Rücksicht auf diese Eigenschaft jedes neue Individuum zum Genus *Cladothrix*; infolge der Unsicherheit und Unbestimmtheit der Benennungen entstand dann die Verwirrung.

Marchand erhob im Jahre 1883 die *Streptothrix Foersteri* zu einem Individuum und verschaffte dadurch den *Streptothrix*-Arten definitiv eine selbständige Stellung; er trennte sie von den *Cladothrix*-Arten und unterschied sie durch die Eigenschaft der echten Verzweigung (*Rossi-Doria*).

Im Jahre 1889 vereinigten De Toni und Trevisan in der *Sylloge fungorum* von Saccardo den *Actinomyces*, die *Streptothrix* von Foerster, den *Bacillus ramificatus* von Nocard und andere verzweigte Formen zu einem besonderen Genus, das sie *Nocardia* nannten.

Nachdem die *Streptothrix*-Gruppe geschaffen war und man die Eigenschaft der wahren Verzweigung in ein besseres Licht gesetzt und als Grundlage aufgestellt hatte, wurden allmählich zu dieser Gruppe alle neuen Individuen gerechnet, die von den verschiedenen Beobachtern gefunden worden waren.

Gasperini brachte viel Klarheit in das Studium dieser Gruppe durch Veröffentlichungen von großer Bedeutung und er trug nicht wenig zur Sicherung ihrer Stellung als unabhängiges Genus bei, indem er sie von den anderen loslöste, sie mit dem *Actinomyces* identifizierte und sie zur Klasse der *Hyphomyceten* rechnete.

Später lieferte *Rossi-Doria* durch seine Beschäftigung mit der Klassifizierung sehr viele Beiträge hierzu; er beschrieb 6 neue Species, von denen er die meisten aus der Luft, wo sie sehr häufig sind, aus dem Wasser oder aus dem Boden, wo sie sehr spärlich vorkommen, isolierte.

Die Untersuchungen, welche auf die von Gasperini und von *Rossi-Doria* folgten, ließen infolge vieler (kultureller und biologischer) Eigenschaften die Aehnlichkeit des *Actinomyces* mit der *Streptothrix* und die enge Verwandtschaft beider immer deutlicher hervortreten; hieraus ergab sich die Notwendigkeit, sie in einem einzigen Genus vereinigt zu lassen, wie es die genannten Autoren getan hatten.

In dem letzten Werke von Wassermann und Kolle unterscheidet Petruschky, der dieses Kapitel behandelt hat, sehr viele Arten der *Leptothrix*, der *Cladothrix*, des *Actinomyces* und der *Streptothrix*, die er alle in einer Familie vereinigt und sie dann *Trichomyceten* (*Haarpilze*) nennt.

Jüngst hat Prof. Sanfelice durch eine Reihe wichtiger Arbeiten von ihm selbst und seinen Schülern sehr viel zum Studium der jetzt umfangreichen Gruppe, die er *Streptothrix* nennen will, beigetragen,

indem er eine Neuordnung versuchte und eine sehr gut passende und klare Einteilung gab. Aber die Anschauung Petruschkys und derjenigen, welche zwei verschiedene Genera des *Actinomyces* und der *Streptothrix* machen wollten, ist scheinbar nicht sehr richtig; die letzten Arbeiten bestätigen mehr die Ansichten Gasperinis und zeigen, daß das Bestreben, den *Actinomyces* und die *Streptothrix* als zwei unabhängige getrennte Genera hinzustellen, keine exakte Grundlage hat; denn dieselbe Eigenschaft eines Strahlenpilzes, die ihm den Namen *Actinomyces* verschafft hat, ist nicht konstant im Leben des Parasiten, da man ihn in dieser so charakteristischen Strahlenform nur im menschlichen oder tierischen Organismus findet; in künstlichen Nährböden entwickelt er sich dagegen in Form von Fäden und Rasen, so wie die gewöhnlichen *Streptothrix*-Formen. Dieselben Ähnlichkeiten begegnen uns in der Biologie und Pathologie der beiden Parasiten. Der *Actinomyces* hat in der Tat dieselben allgemeinen Merkmale wie die *Streptothrix*; er entwickelt sich in Form von weißen Kügelchen in Bouillon, ohne sie zu trüben, in Gelatine in Form von opaken, staubförmigen Kolonien, die ganz langsam das Substrat verflüssigen; auf Glycerinagar bildet er erhabene, mit einem Nabel bestreute, rundliche, weiße, opake Kolonien, die wie mit Kalk bestreut sind und dem Nährboden fest anhaften; Milch wird nicht koaguliert, aber nach vielen Tagen wird sie durchscheinend und setzt am Boden einen flockigen Niederschlag ab. Richtiger als das Petruschkysche Verfahren erscheint es demnach, die *Streptothrix* und den *Actinomyces* in ein einziges Genus zu bringen, welches die meisten Species und die Varietäten einer und derselben Species umfaßt.

Die neueren Autoren (Biagi, Sanfelice, Lombardo-Pellegrino, Rossi-Doria) erörtern die Frage, welchen Namen man dem in Rede stehenden Genus beilegen soll.

Der Name *Nocardia*, welcher der Gruppe von De Toni und Trevisan zu Ehren Nocard's gegeben worden war, der den später *Streptothrix farcinica* genannten *Bacillus ramificatus* beschrieben hatte, und die Bezeichnung *Oospora*, die von Wallroth dem Genus *Actinomyces* gegeben und die später von Sauvageau und Radais und von Neumann und Lehmann adoptiert worden war, fanden keine Sympathieen.

Um eine Verwirrung zu vermeiden, beseitigte Gasperini den Namen *Streptothrix*, den Corda im Jahre 1839 für die Bezeichnung einiger Pilze (Dematireen) geschaffen, den aber Cohn im Jahre 1874 auf den von ihm untersuchten Parasiten angewandt hatte, und zog es vor, den Namen *Actinomyces*, den schon Harz dem Strahlenpilz gegeben hatte, zu verallgemeinern.

Die von Gasperini auf das Genus ausgedehnte Bezeichnung *Actinomyces* scheint jedoch nicht dem Namen *Streptothrix* vorzuziehen zu sein, wie Sanfelice, Petruschky und Lombardo meinen, da jetzt der Name *Streptothrix* allgemein gebräuchlich ist; nach den Arbeiten von Cohn ist die Verwechslung mit den Dematireen nicht mehr möglich und der Name ist umfassender als die Benennung *Actinomyces*, die nur für die Bezeichnung derjenigen *Streptothrix*art vorbehalten werden müßte, die durch die sehr häufige Strahlenform charakterisiert worden ist.

Wir sind also vollkommen einer Meinung mit Rossi-Doria und mit Sanfelice, wenn wir das von uns studierte Genus *Streptothrix* benennen.

Die aus menschlichen und tierischen pathologischen Veränderungen, aus der Luft, dem Wasser oder dem Boden stammenden und als neue Species beschriebenen Streptothricheen sind jetzt in großer Zahl vorhanden. Bei ihnen ist dasselbe wie bei allen Mikroorganismen eingetreten, d. h. beruht nämlich die Individualität einer Species auf einer jener Eigenschaften, die heute als accessorisch anerkannt worden sind, wie z. B. Pigment- und Gasbildung, so erweist sich bei späteren Proben und Untersuchungen die geschaffene Species oft als identisch mit einer schon bestehenden.

So ist es auch der Fall bei vielen Streptothricheen, einer Klasse von Individuen, die allgemein als sehr veränderlich gelten, und die vom saprophytischen oft zum parasitischen Leben übergehen. Die Species, welche nach und nach als neu beschrieben wurden, waren nicht eingehend studiert worden, und in der Mehrzahl der Fälle bildete das auf den Nährböden produzierte Pigment einzig und allein die Grundlage der Individualisierung der Species. Jetzt ist von allen einstimmig zugegeben worden, daß dieses Merkmal der Pigmentfarbe, welches bei den Mikroorganismen im allgemeinen ein so veränderliches Verhalten zeigt, für die Streptothricheen gerade die unzuverlässigste und unbeständigste Eigenschaft ist. In der Tat ist die von mir studierte Streptothrix vielleicht der beste Beweis hierfür, wie man im folgenden sehen wird.

Die bisher beschriebenen Species sind folgende:

1) Streptothrix actinomyces (Rossi-Doria), ist identisch mit dem Actinomyces bovis (Harz), welcher die Aktinomykose beim Menschen und beim Rinde hervorruft.

2) Streptothrix sulphurea (Gasperini), dem Actinomyces bovis ähnlich.

3) Streptothrix Eppingeri, von Eppinger in einem Hirnabsceß gefunden; da von ihm auch echte Verzweigungen beobachtet worden waren, so hatte er sie Cladothrix asteroides genannt. Die Streptothrix aurantiaca von Rossi-Doria scheint eine nicht pathogene Varietät der obigen zu sein.

4) Streptothrix farcinica, von Nocard als Ursache einer Krankheit gefunden, die beim Rinde eine Vereiterung der Lymphdrüsen mit Metastasen in den inneren Organen in der Form von (käsigeitrigen) Knötchen und schließlich den Tod herbeiführt.

5) Streptothrix albido-flava von Rossi-Doria; soll der vorhergehenden ähnlich sein.

6) Streptothrix Foersteri, mit welcher identifiziert wurden: a) die von Du Bois Saint-Séverin in einem Falle von Conjunctivitis studierte Streptothrix aurea; b) drei von Almquist beschriebene Species; diese sollten nach Gasperini und Rossi-Doria nur eine einzige Species sein, die übrigens mit der von Gasperini aus der Luft isolierten identisch und mit der Streptothrix Foersteri identifiziert worden war; c) die Streptothrix alba von Gasperini und Rossi-Doria; d) die Streptothrix Guignardi (Lehmann).

7) Streptothrix luteo-rosea (Gasperini).

8) Streptothrix citrea (Gasperini).

9) Streptothrix chromogena (Gasperini) oder nigra von Rossi-Doria.

10) Streptothrix von V. Cozzolino.

11) Streptothrix rubra oder madurae von Vincent, welche die Ursache des Madurafußes ist.

12) Streptothrix violacea (Rossi-Doria), die einzige unter den vom Autor isolierten, die sich bei den Versuchen als pathogen erwies.

- 13) *Streptothrix carnea* (Rossi-Doria).
- 14) *Streptothrix viridis* (Lombardo-Pellegrino).
- 15) *Streptothrix Gedanensis* 1; *Streptothrix Gedanensis* 2 sive *candida*.
- 16) *Streptothrix enteritidis* (Pottien).
- 17) *Streptothrix Gärtner* sive *liquefaciens*.
- 18) *Streptothrix Gruberi* (Terni).
- 19) *Streptothrix canis* (Rabe).
- 20) *Streptothrix der Kälber* (Bang).
- 21) *Streptothrix lacertae* (Terni).
- 22) *Streptothrix caprae* (Silberschmidt).
- 23) *Streptothrix cuniculi* (Schmorl), gefunden bei einer Kaninchenepidemie.
- 24) *Streptothrix arborescens* (Edington).
- 25) *Streptothrix ferruginea* (Naunyn).
- 26) *Streptothrix lathridii* (Petruschky).
- 27) *Streptothrix japonica* (Aoyama und Myamoto).
- 28) *Streptothrix Macé*.
- 29) *Streptothrix*, von Horst in einem Hirnabsceß gefunden.
- 30) *Streptothrix* von Engelhardt und Löhlein.
- 31) *Streptothrix rubra* von Ruiz-Cozabo.
- 32) *Streptothrix invulnerabilis* (Agosta und Gran de Rossi).
- 33) *Streptothrix Mordoré* (Thyry).
- 34) *Streptothrix pluricromogena* (Vallée).
- 35) *Streptothrix*, isoliert von De Giaxa aus einem Lungenabsceß und studiert von Di Donna.
- 36) *Streptothrix odorifera* von Rullmann und Perutz.
- 37) *Streptothrix Hoffmanni*.
- 38) *Streptothrix erysipeloides* (Rosenbach).
- 39) *Streptothrix Zopfi* (Casagrandi).
- 40) *Streptothrix necrophora* (Wilhelm).
- 41) *Streptothrix Mihi* (Caminiti).

Bei vielen von diesen lagen keine genaueren Beschreibungen oder abgeschlossene Untersuchungen vor, sondern es waren nur die pathologischen Veränderungen, in denen sie sich fanden, erwähnt; die Veränderungen sollten der Aktinomykose entweder gleich oder ähnlich sein. Man begreift so, daß durch sorgfältige analytische und vergleichende Untersuchungen viele dieser Species mit schon bekannten identifiziert werden und die Zahl der angegebenen Streptothricheer sicherlich beschränkt werden würde.

Prof. Sanfelice versuchte diese Gruppe von Mikroorganismen neu zu ordnen dadurch, daß er sie in 3 Hauptgruppen, nämlich *Streptothrix alba*, *flava* und *violacea*, auf Grund der morphologischen, kulturellen und biologischen Charaktere vereinigte und für jede Gruppe die Unterscheidungsmerkmale feststellte.

Ich werde seine Klassifikation hier kurz angeben, da sie dem taxonomischen Bedürfnisse gut Rechnung trägt und sehr klar und passend ist.

Bei der ersten Gruppe, d. h. der *Streptothrix alba*, entwickeln sich in Agarstrichkulturen isolierte Kolonien von opaker weißer Farbe, die wie mit einem kalkähnlichen Pulver bedeckt erscheinen können, und die dem Nährboden sehr fest anhaften. Auf Kartoffeln entstehen auch bei der Temperatur der Umgebung ziemlich rasch weiße, kalkähnliche Beläge. Die Färbung kann mit der Zeit oder bei aufeinanderfolgenden Passagen monatelang bestehen bleiben oder sich derartig verändern, daß

sie sich nicht mit der ursprünglichen vergleichen läßt; sie kann manchmal in grau übergehen, so daß es so aussieht, als ob die Kolonie mit Asche bestreut wäre; bisweilen wird sie intensiv schwarz, ein anderes Mal wieder strohgelb. Diese Modifikationen kommen nur bei Kartoffelkulturen vor. „Auf Grund dieser Tatsache“ — sagt Sanfelice — „könnte ein oberflächlicher Beobachter aus einer dieser dunklen Kulturen eine neue Species schaffen, ohne an die ursprüngliche *Streptothrix alba* zu denken“.

Die Repräsentanten dieser Gruppe wurden einige Male in jungen und in alten Kulturen untersucht und es stellte sich heraus, daß sie der Entfärbung mit Säuren, einer Methode, die bei der Tuberkelbacillenfärbung üblich ist, keinen Widerstand leisten. Nur die pathogenen Varietäten dieser ersten Gruppe und diejenigen, die im Körper in Form von Stäbchen zerfallen, setzen den Säuren Widerstand entgegen. Außerdem will Lombardo gefunden haben, daß viele Species, die zu dieser Gruppe gehören, die Eigenschaft der Säurefestigkeit erwerben können, wenn sie in tierischen Fetten (Butter, Schweineschmalz) kultiviert werden.

Die zweite Gruppe, d. h. die *Streptothrix flava*, welche Sanfelice oft in den aus der Luft gewonnenen Kulturen antraf, zeigt dieselbe leichte Veränderlichkeit der Pigmentfärbung; auch hier entwickeln sich auf diese Weise Kolonien, welche denjenigen vollkommen ähnlich sind, die andere als selbständige Species beschrieben haben. Die tiefen Kolonien in Agar haben Aehnlichkeit mit denen der *Streptothrix alba*; die oberflächlichen, bei Agarstrichkulturen entstandenen Kolonien bilden einen gefalteten, intensiv gelb gefärbten Belag. Auf Kartoffel bildet die *Streptothrix flava* ein Häutchen mit zahlreichen Falten, dessen Farbe weniger intensiv gelb als die des Agars ist. Bei aufeinanderfolgenden Ueberimpfungen verblaßt die Farbe manchmal derartig, daß sie im Zentrum noch deutlich gelb, an der Peripherie dagegen so weiß ist, daß man eine *Streptothrix alba* vor sich zu haben glaubt. Das Außere dieser Kulturen ist mit dem von Rossi-Doria für die Species *albido-flava* und *carnea* und von Gasperini für die *citrea* beschriebenen identisch; manchmal wird bei einigen Ueberimpfungen die Färbung so intensiv, und zwar immer auf Kartoffeln, daß sie einen orange-rötlichen Ton annimmt, wie es bei der *Streptothrix aurantiaca* von Rossi-Doria und der *Streptothrix Eppingeri*, die man mit der letzteren identifizieren kann, der Fall ist. Ebenso verhalten sich manche Kulturen der *Streptothrix nigra* oder *chromogena*. Die Vertreter dieser zweiten Gruppe sind teilweise säurefest, d. h. bei der Färbung nach der Ziehl-Gabbetschen Methode sieht man blau gefärbte Stellen, in älteren Kulturen aber erwerben die Bacillen allmählich immer mehr die Fähigkeit der Säurefestigkeit. Einige für die Versuchstiere pathogene Species kann man im Gewebe von Tuberkelbacillen kaum unterscheiden; sie sind ebenfalls säurefest. Zu dieser Gruppe würden die *Streptothrix citrea*, *aurantiaca*, *carnea*, *chromogena* und die *Eppingeri* gehören.

Die dritte Gruppe würde durch die *Streptothrix violacea* dargestellt werden. In Agarstrichkulturen entwickeln sich isolierte Kolonien in Form eines dichten opaken Belages mit vielen Falten von intensiv brauner Farbe, die mit der Zeit schwarz wird; die Kolonien fließen rasch zusammen. Die Kartoffelkulturen zeigen einen dünneren Belag und eine violett-amethystähnliche Farbe. Die aufeinanderfolgenden Ueberimpfungen behalten die Färbung unverändert bei. Zu dieser Gruppe würde die *Streptothrix viridis* von Lombardo gehören, welche

in Agarstrichkulturen eine grünliche oder rostähnliche Färbung hat, die etwas von der der *Streptothrix violacea* abweicht. Aber in Kartoffelstrichkulturen zeigt sie sich mit der *Violacea* vollkommen identisch. Die Vertreter dieser Gruppe sind immer und vollkommen säurefest.

#### Eigene Untersuchungen.

Als ich aus anderen Gründen und zu anderen Zwecken die pyogenen Keime der Luft verschiedener Oertlichkeiten untersuchen und vergleichen wollte, fand ich im April 1904 unter den vielen der Luft ausgesetzten Röhrchen und Platten in einem der Agarröhrchen, die an einer der feuchtesten und am wenigsten gelüfteten Stellen des Hofes unseres Hospitales aufgestellt waren, eine kleine *Streptothrix*-Kolonie. Die Eigenschaften der Kolonie unterschieden sie deutlich von den anderen, die sich rascher entwickelt hatten. Diese Kolonie war weiß, undurchsichtig, von Hirsekorngröße, mit gewellten Rändern und erhob sich bei voller Entwicklung über die Oberfläche; im Zentrum hatte sie einen Nabel und war in ihrem Zentralteile wie mit Kalkstaub bedeckt. Diese Kolonie bildete die Unterlage zu der vorliegenden Untersuchung.

Die ursprüngliche Kultur wurde auf Agarplatten übertragen, in den verschiedenen Nährböden kultiviert und nach allen Richtungen hin, die zu ihrer vollkommenen Kenntnis und Identifizierung dienen konnten, studiert. Da ich bei ihrem Studium Eigentümlichkeiten gefunden hatte, die sie von den anderen bisher bekannten unterschieden, so hielt ich es für angebracht, diese ausführlich zu beschreiben.

**Morphologische Eigenschaften.** Bei Beobachtung einer Kolonie im hängenden Tropfen sieht man, daß sie aus einem massiven kugeligen und dunkleren Zentrum und aus einem mehr ebenen, dünneren und blasserem peripherischen Teile besteht. Ihre Farbe ist weiß. Die Peripherie hat sehr unregelmäßige Umrisse; von ihr gehen zahlreiche Fäden aus; ähnliche Fäden sieht man sich auch von der Oberfläche der Kolonie erheben. Die Beobachtung von Stücken der Kolonie auf dem Objektträger zeigt, daß sie aus ganz dünnen abgebrochenen Fäden besteht, die verzweigt und miteinander eng verflochten sind. Die einzelnen Fäden haben keine Beweglichkeit.

Die Präparate von jungen Kulturen auf Objektträgern färben sich mit beliebigen Anilinfarben nach der Loefflerschen Methode, mit Ziehlschem Karbolfuchsin und nach Gram; sie färben sich nach der Methode von Ziehl-Gabbet. Auf den nach einer der genannten Methoden gefärbten Objektträgern sieht man Haufen von dünnen Fäden, die wie ein Haarbüschel eng miteinander verflochten sind (Fig. 3, e, 4). Die einzelnen Fäden sind gerade oder leicht gekrümmt und haben Verzweigungen, die im Winkel von ihnen abgehen (Fig. 5, 6 u. 7). Diese Fäden sind verschieden lang, der Endteil ist aber ebenso dick wie der übrige Faden, und niemals habe ich trotz eifrigen Suchens in irgend einer Kultur die Enden keulenförmig verdickt gefunden.

Die alten Kulturen zeigen ein etwas anderes Aussehen, da die Kolonien nicht mehr aus einem dichten Flechtwerk ganz feiner Fäden, wie in den jungen Kulturen, bestehen, sondern aus einer überwiegenden Masse von Körnchen und Bacillen, die zwischen den spärlichen Fäden liegen. Von diesen Fäden selbst haben nur einige das Aussehen eines wahren Fadens; bei der Mehrzahl dagegen treten Querteilungen auf, die aber nur den axialen Teil betreffen, und zwar in der Art, daß der Faden in einzelne Stücke geteilt erscheint; diese bilden gleichsam Ketten von dünnen Bacillen, die mit einer ununterbrochenen Hülle umgeben sind.



Die Hülle selbst besteht aus dem peripherischen Teile des Fadens und wird durch Fuchsin rosa gefärbt, während die Bacillen sich nach der Ziehlschen Methode rot gefärbt haben.

Bei manchen Fäden sind die einzelnen Glieder kürzer, während die äußere Schicht, welche die kontinuierliche Hülle oder Membran bildet, blasser erscheint (Fig. 8), andere Fäden wieder haben so kurze Glieder, daß sie den Kokken vollkommen ähnlich sind. Bei diesen ist die äußere Schicht oder Membran so blaß, daß man sie kaum sieht; man hat es so scheinbar mit verzweigten Ketten von Streptokokken zu tun, welche den kokkenförmigen Anhäufungen sehr ähnlich sind, die den größten Teil der Kolonie bilden. In ganz alten Kulturen endlich sieht man nicht mehr ganze Fäden, vielleicht infolge der Auflösung des peripherischen Teiles, es existieren dagegen nur kurze Ketten von gedrunenen Bacillen oder Kokken und Anhäufungen von kokkenförmigen Körnchen, die sich wenig mit Fuchsin nach der für die Tuberkelbacillen angegebenen Methode färben. Mitten in diesen Anhäufungen bemerkt man indessen runde Körperchen, die intensiver gefärbt sind (Sporen?). In den Präparaten, die nach der von Möller für die Sporen angegebenen Methode gefärbt sind, sieht man gewöhnlich Fäden, die in Stäbchen zerfallen sind, andere wieder haben Rosenkranzform, d. h. sie sind höckerig und lassen stärker gefärbte Stellen erkennen. Mitten in den durch Verflechtung dieser Fäden entstandenen Rasen beobachtet man Anhäufungen von rundlichen kokkenähnlichen Körnern in Form von Haufen, die wahrscheinlich auf die Fragmentation der Fäden selbst zurückzuführen und um so zahlreicher sind, je höher das Alter der Kolonie ist. Mitten in diesen Haufen sieht man einige intensiver rot gefärbte Körperchen.

Einfache Bouillon. Vom 3. oder 4. Tage ab Entwicklung von kleinen punktförmigen, weißen Kolonien, von denen die am Grunde des Röhrchens kugelig, die an der Oberfläche plan-konvex sind. Diejenigen an der Oberfläche sind dichter und verschmelzen allmählich untereinander dadurch, daß immer neue Kolonien von der Peripherie her hinzukommen. So bildet sich ein Belag, welcher allmählich die Oberfläche der Bouillon wie ein Häutchen überzieht, das immer zäher und fester wie eine Metallschlacke wird. Die Farbe dieser Häutchen ist anfangs weiß, allmählich aber wird sie etwas dunkler. Die Kolonien dagegen, welche sich am Grunde des Röhrchens entwickeln oder während der Entwicklung zu Boden sinken, wachsen langsamer als diejenigen, die an der Oberfläche bleiben. Ihre Konsistenz ist weicher, sie bleiben immer isoliert voneinander und nach dem Schütteln des Röhrchens schwimmen sie obenauf als weiße, leichte Kügelchen, die große Ähnlichkeit mit kleinen Puderquasten haben.

Bei genauer Betrachtung sieht man, daß jede ein dunkleres und kompaktes Zentrum und eine dünnere und hellere peripherische Zone hat, die aus dichten, dünnen beweglichen Fäden besteht. Nach einem Monat ungefähr konnte man in Erlenmeyerschen Kolben Kolonien von der Größe einer Linse oder kleinen Erbse bemerken; einige waren, wenn auch selten, etwas größer.

Die Entwicklung ging ohne Trübung der Bouillon vor sich.

Serumbouillon. Bei der Entwicklung zeigen sich Eigenschaften, die mit den vorher beschriebenen identisch sind. Allerdings findet die Entwicklung rascher statt, der Belag aber, der sich an der Oberfläche bildet, ist zarter. Die Kolonien haben eine gleich grauweiße Farbe.

Glycerinbouillon. In der gewöhnlichen Bouillon mit Zusatz von 5 Proz. Glycerin geht die Entwicklung ein wenig rascher vor sich

als in der einfachen Bouillon, bemerkenswert ist aber, daß die Kolonien ihre Farbe wechseln; sie werden braun, etwas heller als Rost oder dunkelbraun. Gleiche Farben nehmen die Strichkulturkolonien auf Glycerinagar und auf anderen glycerinhaltigen Nährböden an. Sie trüben niemals die Bouillon, und die Kolonien, die sich an der Oberfläche entwickeln, bilden das zähe, zerklüftete und unregelmäßige Häutchen. Schüttelt man das Röhrchen nach Verlauf einiger Zeit und läßt das an der Oberfläche entstandene Häutchen sich zu Boden senken, so entsteht langsam aus den an der Oberfläche zurückgebliebenen Kolonien ein neues, aber grauweiß gefärbtes Häutchen. Diese Erscheinung scheint durch die Erschöpfung des Glycerins bedingt zu sein.

Bei anderen Versuchen fügt man der Bouillon einen starken Prozentsatz Glycerin hinzu, so daß 5 Teile Glycerin auf 6 oder 8 Teile Bouillon kommen. Die Streptothrix entwickelt sich üppig und nimmt eine absolut schwarze Färbung an, ebenso wie die auf stark glycerinhaltigem Agar gewachsenen Kolonien. Man bemerkt auch, daß das Pigment sich teilweise in der Bouillon auflöst, wodurch dieselbe schwärzlich gefärbt wird, aber immer noch transparent bleibt.

#### Gelatineplatten.

In 3—4 Tagen entwickeln sich die gewöhnlichen isolierten Kolonien, die ziemlich klein und von undurchsichtiger weißer Farbe sind. Die Größe der Kolonien ist sehr verschieden, sie schwankt zwischen einer Stecknadelspitze und einem Hirsekorn; sie sind aber immer rund und haben fein chagrinierte Ränder; das Zentrum ist dicker als die Peripherie. Die Gelatine wird verflüssigt.

Bei Stichkulturen findet eine Entwicklung an der Oberfläche statt, und zwar entstehen nur einzelne Kolonien im oberen Teile des Stichkanals. Mit der Zeit verschmelzen die Kolonien der Oberfläche untereinander und bilden ein dickes Häutchen, dessen Ränder unregelmäßig sind und dessen peripherischer Teil sich über den Nährboden emporhebt; die Ränder sind nach unten umgerollt und daher in die Gelatine eingegraben. Die zentrale Partie ist dagegen ausgehöhlt wie ein Becher mit unregelmäßigem Boden, was auf die Schrumpfung des Belages selbst zurückzuführen ist.

Die Eigenschaften der Kolonien sind mit denen der Plattenkulturen identisch.

Impft man schwarz gefärbte aus glycerinhaltiger Bouillon oder Agar stammende Kolonien auf Gelatine über, so entstehen Kolonien von grauweißer Farbe.

Die Gelatine wird langsam und teilweise verflüssigt.

#### Einfacher Agar.

Platten. Schon nach 48 Stunden beobachtet man eine Entwicklung von kleinen, punktförmigen Kolonien und nach Verlauf von 3 bis 4 Tagen erreicht die Kultur ihre völlige Entwicklung. Dann erscheinen die Kolonien an der Oberfläche weiß gefärbt und wie mit Kalkstaub bestreut; die etwas tiefer liegenden Kolonien haben eine weiße, leicht gelbliche Farbe. Die Form der Kolonien ist rundlich und von der Größe einer Stecknadelspitze bis zum doppelten Umfange eines Stecknadelkopfes; selten sind sie größer. Die Eigenschaften der Kolonien unterscheiden sich absolut nicht von denjenigen, die ich für die Kolonien in Agarstrichkulturen beschreiben werde; wie diese, haften sie fest dem Nährboden an.

**Strichkulturen.** Die ersten Ueberimpfungen wachsen langsam, lassen aber ziemlich große Kolonien entstehen.

Im allgemeinen treten nach Verlauf von 2—3 Tagen punktförmige, weißliche Kolonien auf, die nach 5—6—7 Tagen einen Durchmesser von durchschnittlich 2 mm erreichen. Sie erscheinen dann in runder Form und über den Nährboden erhoben, dem sie fest anhaften. Die Adhärenz wächst mit dem Alter der Kolonie. Die Ränder der Kolonien sind leicht chagriniert; je stärker die Kolonie wächst, um so mehr Falten und Runzeln treten auf. Außerdem ragt der mittlere Teil stärker hervor, ist dicker und weißer als der peripherische Teil; oft jedoch zeigt die zentrale Partie anstatt einer kugeligen Vorwölbung im Zentrum einen Nabel.

Die Farbe auf einfachem Agar ist immer opak-weiß und die Kolonien erscheinen immer wie mit Kalkstaub bestreut, woher sie ein bestaubtes Aussehen annehmen (Fig. 1). Die Kolonien haften dem Nährboden sehr fest an und es gelingt niemals, Stücke von ihnen mit der Oese loszulösen; meistens löst sich die ganze Kolonie mit Stücken des Agar los, so daß eine leichte Vertiefung in dem Nährboden entsteht.

Bei der Stichkultur ist die Entwicklung ebenso wie bei den obigen Kulturen; an der Oberfläche erscheint der gewöhnliche kompakte Belag, der sich langsam ausdehnt, und nur im ersten Teile des Stichtankals treten spärliche, kleine isolierte kugelförmige opake weiße Kolonien auf. Alle Eigenschaften der Kolonien sind denen bei Agarstrichkulturen gleich.

**Glycerinagar.** Dies ist der beste Nährboden; auf ihm wächst die von mir studierte Streptothrix verhältnismäßig rasch und so üppig wie möglich.

Auf 2-proz. Glycerinagar entwickeln sich trockene, grauweiße Kolonien, die sich über den Nährboden erheben und ihm fest anhaften; ihre Größe schwankt zwischen einer Stecknadelspitze und einem Hanfkorn. Das Zentrum ist höher und wie mit Kalk bestreut; oft hat es einen Nabel und ist stärker als die Peripherie der Kolonie gefärbt.

Auf 8-proz. Glycerinagar bilden sich Kolonien, die gewöhnlich über das Nährsubstrat hervorragen; sie sind rund, oft mit einem Nabel versehen und haften dem Nährboden ganz fest an. Die Umrisse erweisen sich bei Betrachtung mit der Lupe als zerklüftet. Die Größe der Kolonien, die voneinander isoliert sind, schwankt zwischen einem Hanfkorn und einer Stecknadelspitze. Bisweilen entstehen große isolierte Kolonien, wie z. B. die auf Fig. 2 abgebildete. Die Färbung ist rostbraun, und zwar an der Peripherie etwas heller als im Zentrum. Die Kolonien haben gewöhnlich ein bestaubtes Aussehen. Mit der Zeit nimmt auch der Nährboden eine leicht braune Färbung an.

Auf 20-proz. Glycerinagar entwickeln sich Kolonien mit denselben Eigenschaften, sind aber vollkommen opak schwarz gefärbt.

#### Zuckeragarplatten.

Die Plattenkulturen haben dieselben Eigenschaften wie die Kulturen auf einfachem Agar. Auf diesem Medium ist die Entwicklung ziemlich üppig, fast wie auf Glycerinagar. Die Kolonien sind zwar zahlreich, aber klein und gewöhnlich von weißer Farbe.

Bei Strichkulturen bilden sich isolierte, runde Kolonien von verschiedener Größe, im allgemeinen sind sie aber klein und von der gewöhnlichen opaken weißen Farbe. Manchmal, allerdings selten, entstehen Kolonien von der Größe eines Hanfkornes; wie auf den anderen

Agarnährböden erheben sie sich über das Nährsubstrat und haften ihm ganz fest an.

**Blutserum.** Auf Blutserum entwickeln sich so üppig wie auf den anderen Nährböden weiße Kolonien, die in adhärenzte Beläge verschmelzen, die sich über den Nährboden als opake weiße Massen erheben.

**Serum mit Zusatz von Glycerin.** Es entwickeln sich Kolonien von opaker graugrüner Farbe. Der Nährboden färbt sich nach einigen Tagen leicht violett.

**Milch.** In Milch findet eine langsame Entwicklung an der Oberfläche statt, wo sich schon eine Rahmschicht gebildet hat. Bei vorgeschrittener Entwicklung entsteht ein dichter, grünlicher, opaker, gefalteter und zerklüfteter Belag. In 3 von 4 geimpften Röhrchen wird die Farbe allmählich ganz dunkelgrün. In dem 4. Röhrchen, bei welchem die Ueberimpfung anstatt aus der ursprünglichen Kultur wie bei den drei anderen Röhrchen aus Bouillon vorgenommen worden ist, bildet sich derselbe Belag, dessen Farbe aber nur schwach weiß ist; in den ersten Tagen sieht er einer grünen Wolke ähnlich, allmählich färbt er sich aber im Zentrum leicht violett.

In allen Röhrchen entsteht während der ersten 15 Tage ein flockiges Coagulum, das zu Boden sinkt, während die Milch transparent bleibt.

So bietet sich einem bei vollkommener Entwicklung und nach langer Zeit folgender Anblick: Am Boden des Röhrchens liegt ein flockiger weißer Niederschlag, der übrige Teil des Röhrchens ist von einem mehr oder weniger transparenten Serum eingenommen, das einen leichten zwischen rosa und violett liegenden Farbenton angenommen hat; auf der Oberfläche liegt ein dunkelgrüner dichter, gefalteter Belag, der aus der Rahmschicht und dem Mikroorganismus besteht.

Die Reaktion der Milch zeigt sich amphoter.

Hat man in die Milch schwarze, aus stark glycerinhaltiger Bouillon stammende Kolonien übergeimpft, so bleibt die Farbe des in der Milch entstandenen Belages immer dunkelgrün.

**Kartoffel.** Auf Kartoffeln geht die Entwicklung üppig und rasch vor sich, wie auf Glycerinagar. Es entwickeln sich mit einem Nabel versehene, kleine Kolonien, die rasch zusammenfließen und einen Belag mit unregelmäßigen Umrissen bilden. Die Farbe ist verschieden, bisweilen weißlich oder gelblich und bald mehr, bald weniger mit grün untermischt; in einigen seltenen Fällen ist sie schwach rosa, manchmal strohgelb und bisweilen liegt der Ton zwischen gelb und grün. Diese letzte Färbung kommt am häufigsten vor. Die leichte Rosafärbung hält sich nicht lange; sie verschwindet schon nach kurzer Zeit, wenn die Kulturen im Brutofen gehalten werden, oder weniger rasch, wenn man sie außerhalb läßt. Auch die Formalindämpfe, mit denen man die Kultur zu fixieren suchte, lassen rasch die erwähnte Färbung verschwinden.

**Butter und Käse.** Die auf Butter und verschiedenen Käsesorten angelegten Kulturen entwickeln sich sehr kümmerlich und zwar nur in einigen Röhrchen.

#### Anaerobische Kulturen.

Die anaerobischen Kulturen, die wiederholentlich und zu verschiedenen Zeiten nach den Methoden von Buchner, Liborius und durch Ersatz der Luft in den Röhrchen durch Wasserstoff angestellt worden sind, ergeben auf allen angewandten Nährböden positive Resultate, nur ist zu bemerken, daß die Entwicklung langsamer und weniger üppig vor sich geht.

Bildung von Enzymen. Ich wollte untersuchen, ob überhaupt und in welchem Grade die von mir studierte Streptothrix Enzyme und namentlich das saccharifizierende bilden könnte, was, wie man aus den Arbeiten von Fermi weiß, bei vielen Streptothricheen so deutlich auftritt.

Ich fand, daß die Fehlingsche Lösung nach 8 Tagen das Vorkommen von Glukose in den Kulturen anzeigte, denen man zur Prüfung der Wirkung eines invertierenden Enzyms Zucker hinzugesetzt hatte. In gleicher Weise konnte man durch Fehlingsche Lösung Zucker in den Kulturen nachweisen, die mit Stärkekleister angelegt waren, um eventuell das Vorkommen eines diastatischen oder saccharifizierenden Enzyms feststellen zu können. Bei den Kulturen mit Zusatz von Amygdalin konnte ich ein emulgierendes Enzym nicht beobachten; auch in den in Milch angelegten Kulturen bildete sich kein koagulierendes Enzym, denn die Milch gerann nicht.

Die Pathogenität wurde lange Zeit hindurch an Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden mit immer positivem Ergebnisse geprüft.

Da dieses Kapitel aber nach meiner Meinung wichtige Tatsachen enthält und deshalb eine eingehendere Behandlung verdient, so denke ich es zum Gegenstande einer folgenden Mitteilung zu machen.

Bei der subkutanen Injektion entstand eine Anschwellung, die sich langsam entwickelte und erbsen- bis haselnußgroß, von teigiger Konsistenz war und sich auf der Aponeurose verschieben ließ. Während der Entwicklungsperiode dieser Anschwellungen nahm das Tier sehr an Gewicht ab. Nach einer ziemlich langen Zeit verschwand die Anschwellung wieder vollkommen und das Tier erlangte seinen früheren Ernährungszustand und Körpergewicht wieder. Incidierte man eine solche Anschwellung, so fand man sie von einer Bindegewebsverdichtung begrenzt, die eine nicht sehr dicke Kapsel bildete; die Masse im Innern war teigig, gelbgefärbt und bestand aus körnigem Detritus, zerfallenen oder in Zerfall begriffenen und kaum erkennbaren Eiterkörperchen und aus Bruchstücken und Resten der inokulierten Mikroorganismen, welche die Gestalt von zerstückelten, granulierten und wenig färbbaren Stäbchen hatten.

Bei peritonealer Impfung trat der Tod des Tieres nach verschieden langer Zeit ein; während dieser Zeit magerte das Tier erheblich ab. Bei der Autopsie fand man auf dem Peritoneum viscerales und parietale tausende von disseminierten, punktförmigen oder höchstens stecknadelkopfgroßen Knötchen von grauweißer Farbe; selten ließ sich eine blutig-seröse trübe Flüssigkeit in der Bauchhöhle und starke Injektion des Peritoneums nachweisen.

Bei endovenöser Injektion starben die Tiere in einem von 8—50 Tagen schwankenden Zeitraume. Immer fand sich eine außerordentliche Verbreitung und Vermehrung des Parasiten in den verschiedenen Organen, in denen sich immer die mit dem Parasiten angefüllten, charakteristischen Knötchen zeigten. Der Mikroorganismus selbst fand sich selten in der Gestalt von langen Fäden oder Rasen, sondern gewöhnlich in Form von isolierten Stäbchen oder kurzen Fäden oder verzweigten aus 4—8 kurzen Stäbchen bestehenden Ketten, Gebilde, mit denen die Organe geradezu vollgefropft waren.

Zieht man nun die Schlußfolgerungen, so zeigt die Streptothrix bei meinen Untersuchungen folgende Eigenschaften:

1) Beträchtliche Resistenz und Dauer in ihrer Vitalität, da die Kulturen, die man ohne Passage gelassen und nach 6 Monaten wieder aufgenommen hat, sich noch üppig auf den verschiedenen Nährböden entwickeln.

2) Sie färbt sich immer, mag sie nun von den ursprünglichen Kulturen oder von den Versuchstieren abstammen, nach den Methoden von Gram, Gabbet und Ziehl-Neelsen.

3) Aerobisch entwickelt sie sich gut, anaerobisch etwas kümmerlich.

4) Sie wächst regelmäßig auf Gelatine, die sie langsam und teilweise verflüssigt, auf einfachem Agar, in Bouillon, in Bouillonserum, in Milch, auf geronnenem Serum, auf Glycerinserum, wenig dagegen auf Butter und auf Käse, ein wenig üppiger auf Glycerinagar, in Glycerinbouillon und auf Kartoffel.

5) Das Pigment zeigt eine große Variabilität; während nämlich im allgemeinen auf den gewöhnlichsten Nährsubstraten (Bouillon, Gelatine, einfaches Serum und Agar) die weiße Farbe überwiegt, verändert sich diese Farbe plötzlich, und zwar in sehr weiten Grenzen, sobald man das Nährmedium verändert. So hat man eine lange Farbenskala vom gelblichen bis zum leichten Rosa auf Kartoffeln bis zum Grün in der Milch, wo noch außerdem der flüssig gebliebene Teil leicht violett gefärbt ist, und bis zur Rostfarbe und schwarz auf glycerinhaltigem Agar und Bouillon.

Ferner wurde durch wiederholte Untersuchungen klar und deutlich festgestellt, daß diese Streptothrix die Eigenschaft besitzt, ihre Färbekraft und ihr Pigment zu variieren, je nach dem Prozentgehalt des Nährsubstrates an Glycerin; außerdem beobachtete man, daß die Intensität der Farbe von dem Glycerinhalte abhängt, und daß die Produktion des dunklen Pigmentes in den Röhren mit Glycerinbouillon aufhört, wenn der Nährboden sich erschöpft hat.

6) Im allgemeinen ist die Entwicklung im Vergleiche zu der der gewöhnlichen pyogenen Mikroorganismen langsam, schnell dagegen gegenüber dem Tuberkelbacillus.

Hier hat man das Bedürfnis, den Typus festzustellen, mit dem man die von mir studierte Streptothrix identifizieren kann.

Wollte ich hier eine eingehende Analyse vornehmen, so würde die Untersuchung zu lang werden, denn ich müßte die Eigenschaften aller bekannten Streptothricen, die nach meiner oben angegebenen Aufzählung sehr zahlreich sind, miteinander vergleichen. Da nun meine Vorarbeiten schon ein genaues Studium der einzelnen Species erfordert hatten, so konnte ich einen eingehenden Vergleich zwischen diesen und der von mir studierten Streptothrix anstellen.

Rekapituliere ich und beschränke ich mich auf die Klassifikation von Sanfelice, so muß ich sagen, daß meine Streptothrix nur scheinbar mit der Streptothrix alba identifizierbar oder zur ersten Gruppe von Sanfelice zu rechnen ist, in Wahrheit aber durch ihre so verschiedenen chromogenen Eigenschaften und ihre pathogene Wirkung von ihr abweicht.

Was die Pathogenität in der Gruppe der Alba von Sanfelice anbetrifft, so erweisen sich nur 2 als pathogen für Kaninchen und Meerschweinchen; von diesen beiden, welche er trotz ihrer vollkommenen Gleichheit in den Agarkulturen als Streptothrix alba 1 und Streptothrix alba 2 unterscheidet, war auch die erste nur für Kaninchen pathogen und die zweite für Kaninchen und Meerschweinchen. Meine Streptothrix dagegen war für alle Versuchstiere stark pathogen.

Hinsichtlich der chromogenen Eigenschaften konnte man sie zur dritten Gruppe von Sanfelice, d. h. zur *Streptothrix violacea* rechnen; während diese aber auf Kartoffel konstant eine violette amethystähnliche Färbung erzeugte, tat dies meine *Streptothrix* nicht, sondern bildete andere Pigmente. Ferner gab sie auf Agar immer eine weiße Färbung, während die *Violacea* von Sanfelice ein braunes Pigment lieferte. Die *Violacea* und die *Viridis* von Lombardo waren vollkommen, meine nur in gewissem Grade säurefest.

Nach meinen Untersuchungen und auf Grund der übrigen Beobachtungen scheint die von mir studierte *Streptothrix*, welche nicht säurefest ist, sich nach Gram färbt, auf den verschiedenen Nährböden die mannigfaltigsten Farben erzeugt und für die Versuchstiere stark pathogen ist, einige Charaktere zu haben, die dazu berechtigen, sie als eine neue Species hinzustellen. Hierfür spricht auch die Beständigkeit und Gleichmäßigkeit der disseminierten pathologischen Veränderungen, welche sie in Form von umschriebenen Herden in den Organen hervorruft, und welche den Hauptgegenstand einer folgenden Arbeit bilden werden.

Herrn Prof. D'Antona, meinem hochverehrten Lehrer, danke ich an dieser Stelle ganz ergebenst für das gütige Interesse an diesen Untersuchungen und für seine wertvollen Ratschläge.

#### Literatur.

- Abbotand and Gildersleeve, On the Actinomyces like development of some of the acid-resisting bacilli (streptothrices?). (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI.)
- Affanasiew und Schultz, Ueber die Aetiologie der Actinomycosis. (Kongreß der russischen Aerzte in Petersburg. 1889.)
- Almquist, Untersuchung über einige Bakteriengattungen mit Mycelien. (Zeitschr. f. Hyg. 1890.)
- Aoyama und Myamoto, Ueber die menschenpathogenen Streptothrix. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX.)
- Biagi, N., Contributo alla conoscenza del genere actinomyces. Lo sperimentale. 1904. Fasc. 4.)
- Bellisari, G., Sulla presenza e sulla patogenità di streptotricce nelle polveri, residui di cereali. (Annali di Igiene. 1904. Fasc. 3.)
- Bertha, Ueber einige bemerkenswerte Fälle von Aktinomykose. (Wien. med. Wochenschrift. 1888.)
- Buchholtz, Ueber menschenpathogene Streptothrix. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIV. 1897.)
- Cozzolino, V., Ein neues Fadenbakterium, eine neue pseudoaktinomykotische Erkrankung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIII.)
- De Bernardinis, D., Ulcera corneale da streptothrix. (Annali d'igene sper. 1904. Fasc. 3.)
- Delearde, Contribution a l'étude de l'actinomykose. [Thèse.] Lille 1895.
- De Toni et Trevisan, Schizomycetaceae. (In Saccardo, Sylloge fungorum omnium. Vol. VIII. Padova.)
- Di Donna, A., Su di una streptothrix patogena con esperimenti sull'immunizzazione. (Annali di Igiene. 1904. Fasc. 3.)
- Du Bois Saint-Sévérin, Note sur un streptothrix parasite (strept. aurea). (Arch. de méd. Navale 1895.)
- Eppinger, Ueber eine neue pathogene Cladothrix und eine durch sie hervorgerufene Pseudotuberculosis. (Zieglers Beitr. Bd. IX.)
- Fromme, Ant., Ueber die strahlenpilzähnlichen Bildungen des Tuberkelbacillus. Gießen 1903.
- Fuchs, Ueber Färbbarkeit der Streptothricheen nach Methoden der Tuberkelbacillenfärbung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII.)
- Gasperini, Su di una nuova specie appartenente al genere Streptothrix Cohn. (Soc. toscana di sc. nat. 1891.)
- , Rech. morphol. et biol. sur un microorg. de l'atmosphér., le Strept. Foerst. Cohn. (Annales de micrographie. 1890.)

- Gasperini, Nuove ricerche sull' actinomicosi sperimentale. (Ann. d'igiene. 1896.)  
 —, Ulteriori ricerche sul genere streptothrix. (Riv. gen. ital. di clin. med. 1892.)  
 —, Ulteriori ricerche sul genere actinomyces Harz. (Soc. tosc. di sc. nat. 1894.)  
 —, Sul potere patogeno dell' actinomyces albus. (Ibid. 1895.)  
 Harz, Ueber den Actinomyces bovis. (Jahresber. Münch. Centr. Tierarzneischule. 1878.)  
 Israel, J., Neue Beobachtungen auf dem Gebiete der Mykologie des Menschen. (Virchows Arch. Bd. LXXIV.)  
 Lachner-Sandoval, Ueber Strahlenpilze. [Inaug.-Diss.] Straßburg 1898.  
 Lasserre, Du genre Nocardia (genre streptothrix Cohn). Description d'un espèce nouvelle. Toulouse 1904.  
 Levy, E., Die Wachstums- und Dauerformen der Strahlenpilze. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII.)  
 Lignières, J., et Spitz, G., Contribution à l'étude, à la classification et à la nomenclature des affections connues sous le nom d'actinomyces. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV und XXXV.)  
 Löhlein, Med. Wochenschr. 1902. p. 1161.  
 Lombardo-Pellegrino, Di una streptothrix isolata dal sottosuolo. (Riforma med. 1903. No. 39.)  
 Lubarsch, Zur Kenntnis der Strahlenpilze. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI.)  
 Lunow, Beiträge zur Diagnose und Therapie der Aktinomykose. [Inaug.-Diss.] Königsberg 1889.  
 MacCallum, On the life history of Aktinomyces asteroides. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI.)  
 Marchand, Botanique cryptogamique. Paris (Doin) 1883.  
 Meyerhoff, Zur Morphologie des Diphtheriebacillus. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXIII.)  
 Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère. Paris 1883.  
 Nocard, Note sur la maladie des bœufs de la Guadalupe, connue sous le nom de farcin. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. II. 1888.)  
 Rabé, Berliner tierärztl. Wochenschr. 1888.  
 Rivière, Etude d'un nouveau streptothrix parasite de l'homme. (Baumgartens Jahresber. Bd. XI. p. 444.)  
 Rivolta, Sul così detto mal del rospos. (Clin. veter. 1878. No. 7, 8, 9.)  
 Rosenbach, Ueber das Erysipeloid. (Arch. f. klin. Chir. 1887.)  
 Rossi-Doria, Su d'alcune specie di streptothrix trovate nell'aria studiate in rapporto specialmente all' Actinomyces. (Annali d'Igiene. 1891.)  
 Rullmann u. Perutz, Ueber eine aus Sputum isolierte pathogene Streptothrix. (Münch. med. Wochenschr. 1898.)  
 —, 2. Mitteilung. (Ibid.)  
 Sabrazès et Rivière, Les parasites du genre streptothrix dans la pathologie humaine. (Congr. de méd. de Bordeaux. 1895.)  
 Sanfelice, F., Tuberculosi e pseudotuberculosi. (Riforma med. 1904. No. 22.)  
 —, Ueber die pathogene Wirkung einiger Streptothrix-(Actinomyces-)Arten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI.)  
 —, Streptothrix-Pseudotuberkulose. (Ibid. Bd. XXXVIII.)  
 Sauvageau, G. et Radais, Sur les genres Cladothrix, Streptothrix, Actinomyces et description de deux streptothrix nouveaux. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1892.)  
 Silberschmidt, Sur un nouveau strept.-path. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899.)  
 Scheele und Petruschky, Kulturen und Präparate einer menschenpathogenen Streptothrixart. (Verh. d. Kongr. f. inn. Med. 1897.)  
 Schmorl, Ueber ein pathogenes Fadenbakterium. (Zeitschr. f. Tiermed. 1894.)  
 Schultze, Untersuchungen über Strahlenpilzformen des Tuberkuloseerregers. (Zeitschrift f. Hyg. 1899.)  
 Stoltz, Ueber einen Bacillus mit Verzweigungen. (Arch. f. Hyg. 1897.)  
 Terni, C., Eine neue Art von Actinomyces (Actin. Gruberi). (Centralbl. f. Bakt. etc. 1894.)  
 Thyry, Bacillus et Cladothrix polychromes. (Arch. de phys. 1897.)  
 Trolldenier, Ueber eine bei einem Hunde gefundene Streptothrix. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1903.)  
 Vallée, Annales de l'Inst. Pasteur. 1903.  
 Vincent, Etude sur le parasite du pied de Madura. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1894.)  
 Ernst, Wilhelm, Ueber Nekrosen und den Nekrosebacillus (Streptothrix necrophora). (Monatshefte f. prakt. Tierheilkunde. Bd. XIV. 1902.)



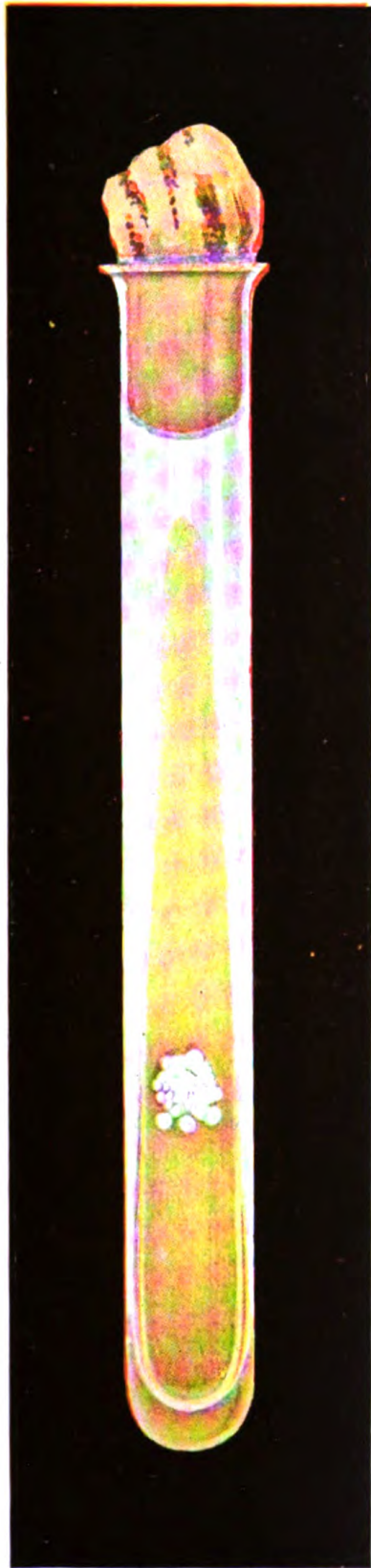


Fig. 1.

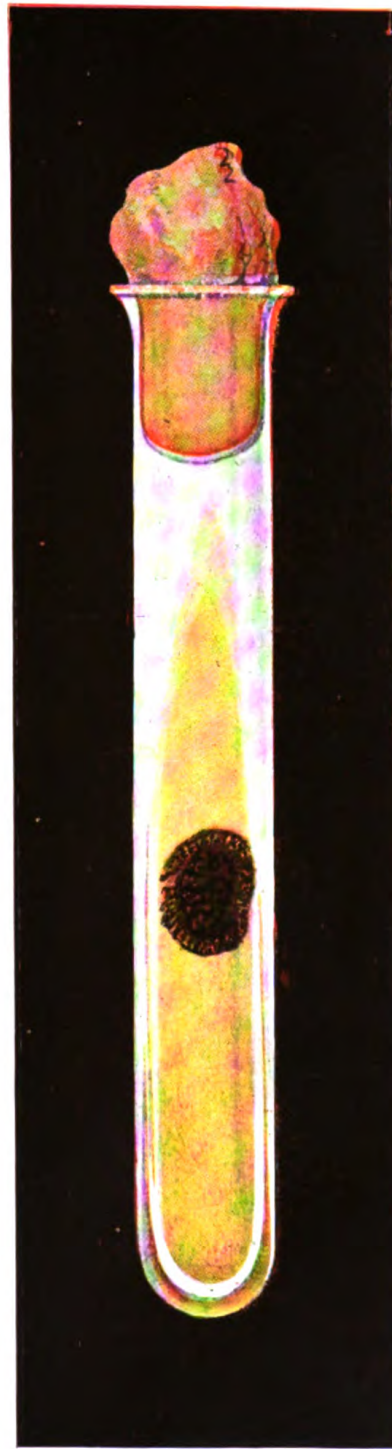


Fig. 2.



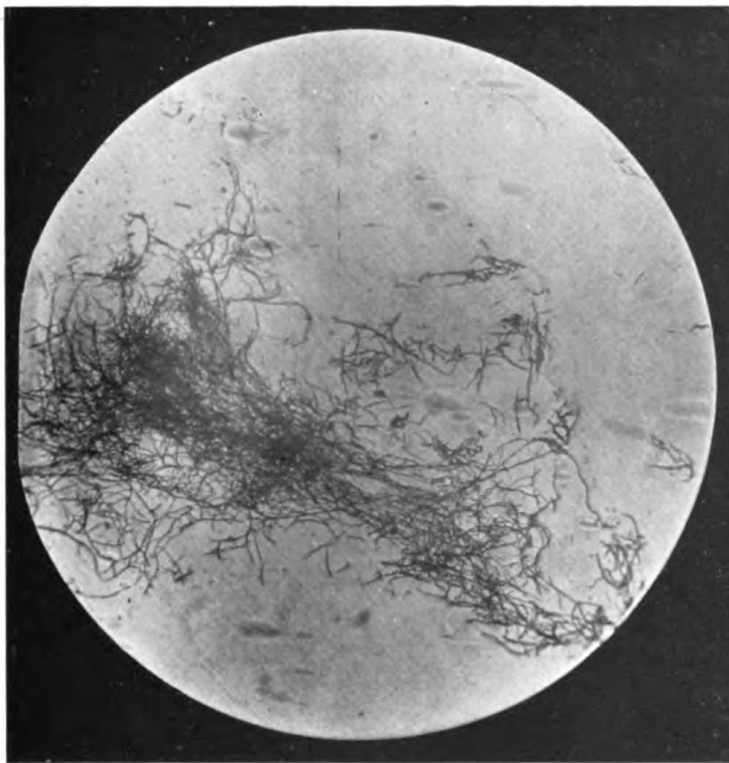


Fig. 3.

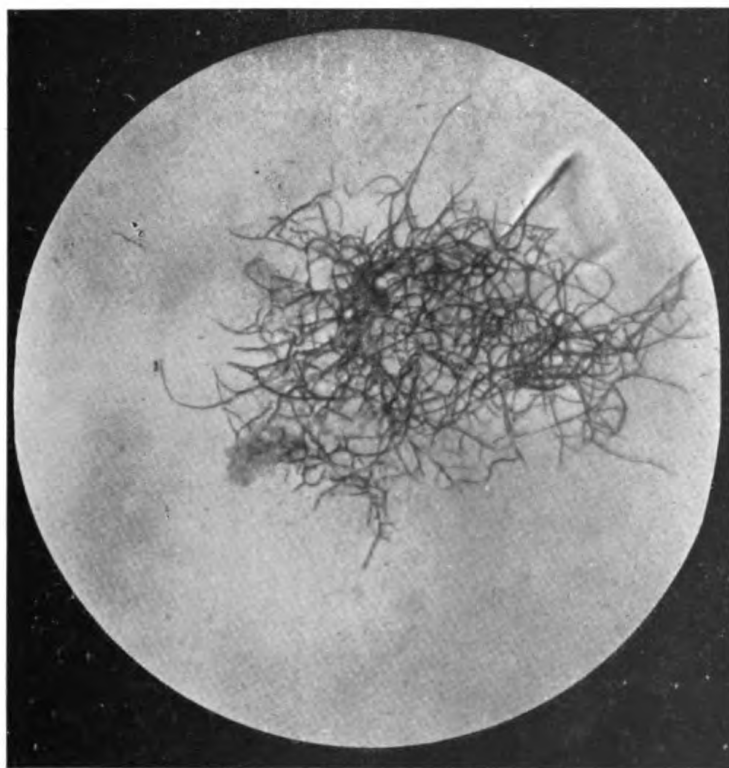


Fig. 4.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



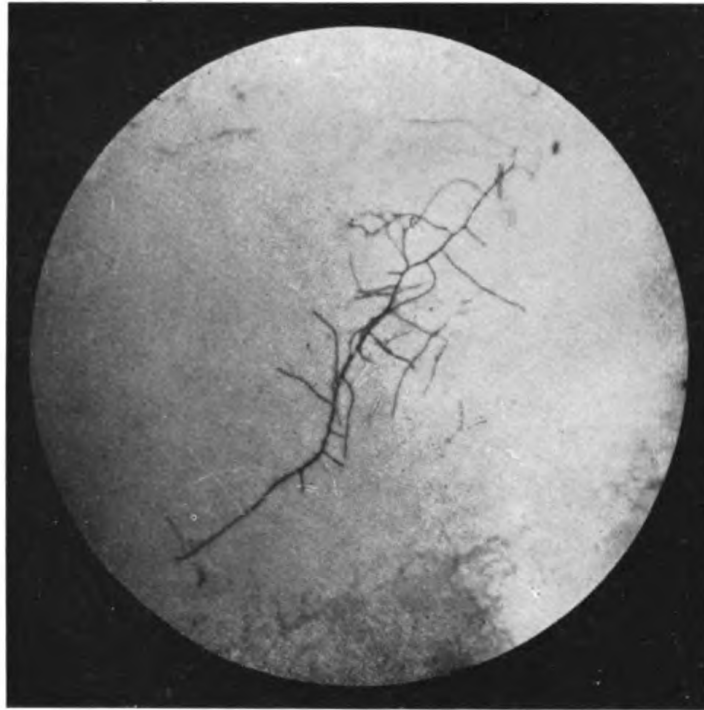


Fig. 5.

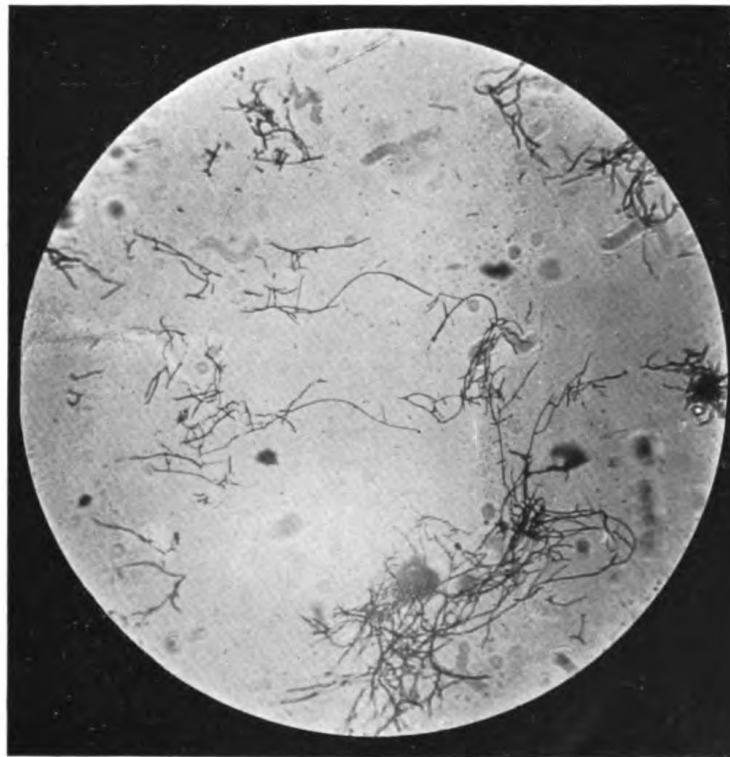


Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.



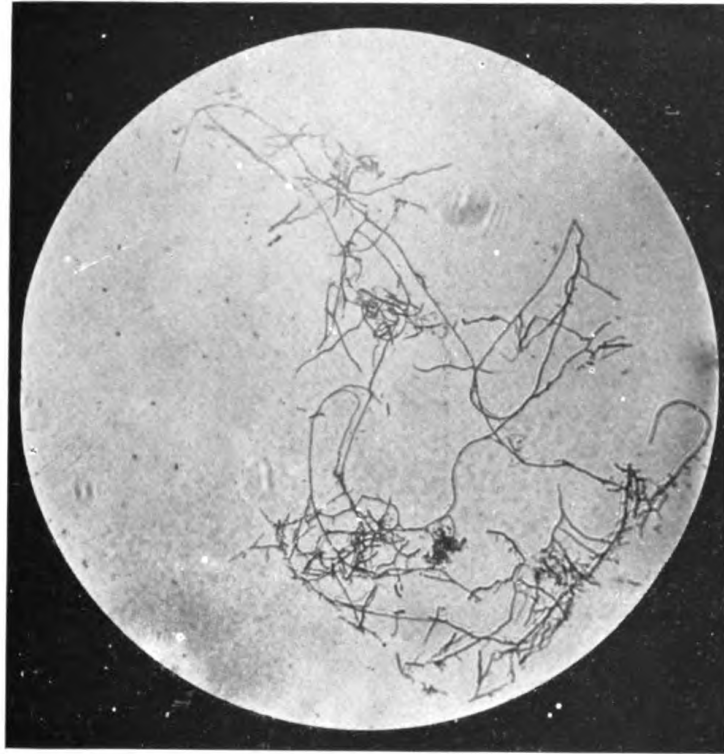


Fig. 7.

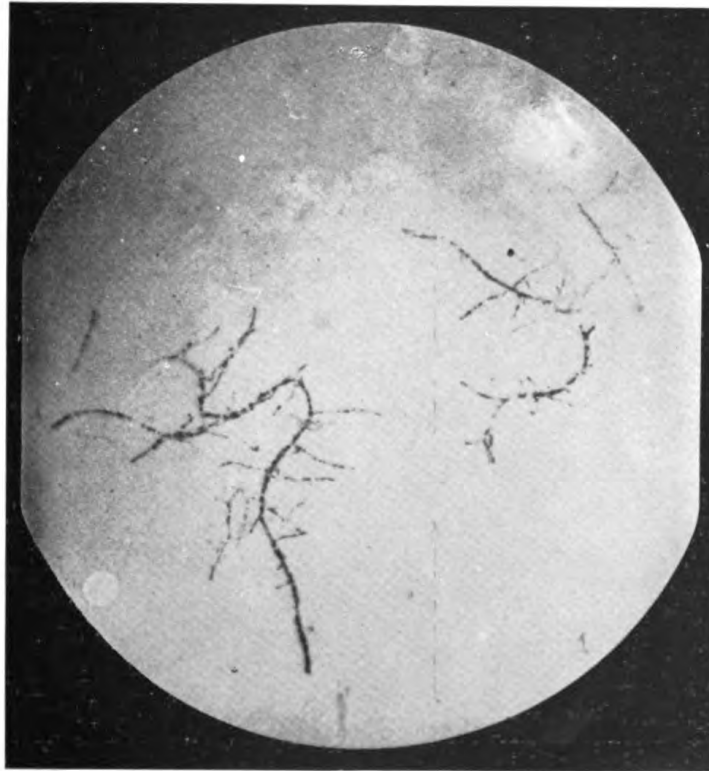


Fig. 8.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.





*Nachdruck verboten.***Ueber das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus.**

[Aus dem bakteriologischen Institut der Universität Budapest.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. Dr. H. Preisz.

In der Münch. med. Wochenschr. (No. 6 lauf. J.) veröffentlichen M. Gruber und K. Futaki sehr interessante Untersuchungen über die Herkunft der anthrakoziden Stoffe im tierischen Körper. In Betreff der Phagocytose sprechen sie sich dahin aus, daß diese im wirksam infizierten Tiere fehlt, weil die Milzbrandbacillen sich mit schützenden Kapseln versehen.

Seit Jahren auf diesem Gebiete experimentierend, fühle ich mich durch diese Arbeit veranlaßt, einige meiner wichtigsten Forschungsergebnisse in dieser vorläufigen Mitteilung bekannt zu geben.

Die Kapselbildung des Milzbrandbacillus besteht in einer Umwandlung der Zellmembran des Bacillus; sie erfolgt nur an lebenden Bacillen; ihre Hauptbedingungen liegen entweder im Nährboden oder in der veränderten Lebenstätigkeit des Bacillus. Z. B. bildet ein virulenter, lebenskräftiger Milzbrandbacillus auf Agar keine, in verschiedenen Blutseris dagegen sehr reichliche Kapseln. Ferner bilden in gewissem Grade abgeschwächte Milzbrandbacillen auch auf Agar massenhafte Kapseln.

Die Abschwächung des Milzbrandbacillus geht mit der Veränderung der Kapselbildung einher. Der virulente Bacillus bildet (mit gewissen Ausnahmen) erst im tierischen Körper Kapseln, welche sich allmählich auflösen. Bis zu einem gewissen Grade abgeschwächte Bacillen zeigen bereits auf gewöhnlichen Nährböden (besonders Agar) reichliche Aufquellung und Verflüssigung der Hülle, und im Tierkörper erfolgt bei ihnen dieser Prozeß viel schneller als beim virulenten Bacillus. Der avirulente (auch für Mäuse gänzlich unwirksame) Bacillus bildet weder auf Nährböden noch in Blutseris oder im Tierkörper Kapseln.

In Bezug auf Schnelligkeit der Kapselbildung, sowie der festeren oder flüssigeren Konsistenz der Kapselsubstanz bestehen zwischen vollvirulenten und avirulenten Bacillen zahlreiche Uebergangsformen (Rassen), die sich auch auf Nährböden, namentlich auf Agar, kulturell verschiedenlich verhalten.

Die dem vollvirulenten Bacillus nächststehenden (minder abgeschwächten) Rassen bilden auf Agar langsamer, zuweilen erst nach Tagen Kapseln, bis dahin können ihre Kulturen denen der vollvirulenten Stämme ganz ähnlich sehen. Dann aber werden sie schleimig, glatt und feucht aussehend. Ihre Kapselsubstanz ist fest, ihre Kolonien sind zäh-schleimig und fließen nicht hinab.

Die dem Avirulenten nächststehenden Rassen bilden schon innerhalb 24 Stunden dünnschleimige, hinabfließende Kolonien, die gar nicht an Kolonien des Milzbrandbacillus erinnern.

Kulturell und morphologisch kann der avirulente Bacillus dem vollvirulenten ähnlich sehen; durch das Ausbleiben der Kapselbildung im Tierkörper und in anderen geeigneten Medien unterscheidet sich jedoch der avirulente auffallend vom virulenten.

Nach dieser Erfahrung war es zweifellos, daß die Kapsel des Milz-

brandbacillus bei der Infektion eine Rolle spielen müsse. Die Art und Weise dieses Einflusses zu ergründen, machte ich jene Studien, die ich nächstens ausführlich zu beschreiben gedenke.

Die Kapselsubstanz des Milzbrandbacillus läßt sich leicht in beliebigen Mengen herstellen. Keimfreies,  $\frac{1}{2}$  Stunde auf  $58^{\circ}$  C erwärmtes Pferdeblutserum wird mit Milzbrandbacillen beschickt; binnen 2 bis 3 Wochen wird bei  $37^{\circ}$  die Kultur sulzig (von der Kapselsubstanz). Nach Zusatz von Kalilauge oder Sodalösung löst sich die Sulze; man filtriert erst durch Papier, dann durch Ton und fällt mit Essigsäure (reichliches Präzipitat), wäscht die Fällung und trocknet im Vakuum.

Kleine Mengen dieser Kapselsubstanz heben die Wirkung Milzbrandbacillen tödender Sera (Kaninchen-, Pferdeserum) auf.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere experimentelle Untersuchungen über die Pellagra.

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. **Guido Tizzoni** und Dr. **Luigi Panichi**.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

In einer kürzlich von einem von uns (Tizzoni) zusammen mit G. Fasoli<sup>1)</sup> veröffentlichten Arbeit wurde gezeigt, daß in den ganz akuten und rasch tödlich verlaufenden Fällen (Typhus pellagrosus, Pellagrapsychose) ein besonderer Keim vorkommt, der aus der Cerebrospinalflüssigkeit, dem Blute und in einem Falle auch aus den Organen in Reinkultur gezüchtet wurde. Seine biologischen und kulturellen Eigenschaften sind schon beschrieben, sowie seine pathogene Wirkung an Tieren studiert worden.

In dieser Hinsicht fand man, daß die Meerschweinchen diesem Keime gegenüber ganz besonders empfindlich sind, denn nach subkutaner Injektion ruft er bei diesen Tieren ein Krankheitsbild hervor, das experimentell und anatomisch durchaus dem Pellagrabilde ähnlich ist.

Dagegen führt beim Kaninchen dasselbe Virus nur dann den Tod herbei, wenn es auf dem Wege der subduralen Injektion in Kontakt mit dem Zentralnervensystem gebracht wird.

Hiernach war es ganz natürlich, daß wir festzustellen suchten, in welcher Art und Weise dieses Virus beim Meerschweinchen und Kaninchen bei Einführung in den Verdauungstraktus wirkte, den man für die Eingangspforte der in Rede stehenden Krankheit hält, und daß wir uns ferner gleichzeitig die Aufgabe stellten, alle die Bedingungen zu studieren, die seine pathogene Wirkung begünstigen könnten.

Die Kultur, die wir benutzten, rührte aus der Beobachtung 3, Serie 1 der erwähnten Mitteilung her und war durch successive Passagen auf defibriertes Kaninchenblut immer erhalten worden. Aus der Blutstammkultur legte man dann direkt Agarkulturen an, die man nach 24-stündiger Entwicklung mit physiologischer Kochsalzlösung aufnahm und nun mittels einer kleinen elastischen Sonde direkt in den Magen der Versuchstiere einführte.

1) Tizzoni und Fasoli, Versuch einer bakteriologischen Untersuchung über die Pellagra. (Mittel. d. kgl. Akad. d. Wissensch. Sekt. 5. Physikal.-mathem. u. naturwissensch. Klasse. Bd. VI. Sitzung vom 1. April 1906.)

Bei unseren Untersuchungen wollten wir zunächst die Wirkungen der subkutanen Injektion der Kultur prüfen; wir hofften, hierbei nicht nur das experimentell in dieser Weise bei den Meerschweinchen hervorgerufene Krankheitsbild mit demjenigen besser vergleichen zu können, das eventuell durch die Einführung derselben Kultur in die Verdauungswege hätte entstehen können, sondern wir beabsichtigten auch, dadurch festzustellen, daß das, wenn auch schon seit langer Zeit im Kaninchenblut kultivierte Virus noch in vollem Umfange seine pathogene Wirkung bewahrt hat.

In der Tat, injizierte man 2 Meerschweinchen subkutan  $\frac{1}{3}$  einer 24-stündigen von einer Blutkultur abstammenden Agarkultur und hielt man die Tiere dann bei der gewöhnlichen Ernährung mit Heu, Kleie und Kohlblättern, so zeigten sie dasselbe schon in der anderen Mitteilung beschriebene Krankheitsbild und starben nach 36—38 Tagen. Hieraus ergibt sich, daß dasselbe Virus bei seiner langen Konservierung außerhalb des Körpers in passenden Kulturmedien keine Veränderung erlitten hatte.

Wir müssen nur noch hinzufügen, daß die Kultur des Blutes dieser Tiere, welche vorher negativ ausgefallen war, in einem Falle ein positives Resultat ergab; wir machen hierfür die größere Materialmenge, mit welcher im Gegensatz zu dem in der anderen Mitteilung angeführten Versuche die Kultur hergestellt war, und die sehr starke Bouillonverdünnung verantwortlich.

Hiernach gingen wir zum Studium derjenigen Wirkungen über, welche dasselbe Virus bei den Meerschweinchen entfaltet, wenn man die Infektion auf dem Wege durch den Verdauungstraktus vornimmt. Diese Versuche teilte man in zwei verschiedene Serien; in der einen wurde das Tier nach der Einführung der Kultur in den Magen mit Maismehl und Heu und in der anderen in gewöhnlicher Weise mit Heu, Kleie und Kohlblättern ernährt. Auf diese Weise wollten wir feststellen, welchen Einfluß die Ernährung mit Mais auf die Entwicklung der Infektion haben könnte.

Die Resultate dieser Untersuchungen waren sehr klar; alle Meerschweinchen (4), welche auf dem Wege durch den Magen infiziert und mit Maismehl ernährt worden waren, zeigten nach 2—3 Infektionen das gewöhnliche klassische experimentelle Krankheitsbild und starben in 24—33 Tagen.

Dagegen war bei den Meerschweinchen, die wie die vorhergehenden ernährt, aber nicht auf dem Wege durch den Magen infiziert worden waren, der Gesundheitszustand immer sehr gut; hieraus ergibt sich die Unschädlichkeit der Ernährung mit Mais an und für sich.

Unter den Krankheitserscheinungen der Meerschweinchen trat am meisten die starke und fortschreitende Abmagerung, die Diarrhøe und ein Zustand von Stupor und Kraftlosigkeit hervor, zu welchem noch besonders nervöse Erscheinungen hinzutraten, die zuerst namentlich in spastischer Paralyse und dann in schlaffer Paralyse der hinteren Gliedmaßen bestanden; endlich zeigte sich eine starke Rötung und deutliche Epidermisabschuppung an der der Haare beraubten Haut, welche die Sohle der 4 Pfoten bedeckte.

Bei der Sektion fand man die gewöhnlichen subkutanen und intermuskulären Hämorrhagieen, einen allgemeinen Katarrh des Darmes, und zwar vorwiegend des Dünndarmes, der in seiner stark verdünnten Wand kleine hämorrhagische Herde zeigte, und ferner eine Rötung des Pankreas

und Hämorrhagieen der Mesenterialdrüsen. Die Kultur des Blutes, die in der angegebenen Weise angestellt worden war, fiel in 3 Fällen positiv aus.

Dagegen zeigten die beiden Meerschweinchen, die in gleicher Weise infiziert, aber ohne Mais ernährt worden waren, nicht die geringste Störung, wenn auch die Infektion 10mal wiederholt worden war und die Tiere sich seit ungefähr 5 Monaten im Versuche befanden.

Beim Kaninchen lagen die Dinge ganz anders; obgleich dieses Tier mit Maismehl und Heu ernährt und wiederholentlich auf dem Wege durch den Magen mit der in Rede stehenden Kultur infiziert worden war, so war doch sein Allgemeinzustand bis jetzt sehr gut, trotzdem schon ungefähr 2 Monate seit dem Beginne des Versuches vergangen waren. Es zeigte nur eine interkurrente Diarrhöe und entsprechend dieser Erscheinung ließ sich mittels der Kultur vorübergehend im Blute der durch die Verdauungswege eingeführte Keim, allerdings im Zustande starker Agglutination, nachweisen.

Kaninchen, die man in derselben Weise ernährt, aber nicht auf dem Wege durch den Magen infiziert hatte, zeigten weder allgemeine Erscheinungen noch lokale Veränderungen (Diarrhöe).

Dies beweist, daß auch beim Kaninchen die aus Pellagrakranken isolierte Kultur eine lokale Wirkung auf den Darm ausübt, welche aber keine Allgemeinerscheinungen und nicht den Tod zur Folge hat, weil die Keime und die entsprechenden Toxine aus dem Verdauungskanale nicht zu den empfindlichen Teilen des Körpers (Zentralnervensystem) gelangen, da sie in den Zwischenstationen (Blut) rasch zerstört werden. Hierin finden wir eine volle Bestätigung unserer früheren Beobachtungen, die wir bei der subkutanen oder endovenösen Injektion derselben Kultur gemacht haben.

Aus diesen Untersuchungen können wir also folgendes schließen: Das aus Pellagrakranken (Typhus pellagrosus, Pellagrapsychose) isolierte Virus hat eine elektive Wirkung auf den Darm einiger Tiere (Meerschweinchen, Kaninchen) und bei den empfänglichsten Tieren (Meerschweinchen) folgen auf die lokalen Erscheinungen allgemeine, welche unter einem Bilde, das dem der Pellagra ganz und gar ähnlich ist, rasch zum Tode führen. Außerdem tritt uns die höchst interessante Tatsache entgegen, daß die spezifische Wirkung des Keimes sich nur dann äußert, wenn die Nahrung des Tieres zum großen Teile aus Mais besteht; dieser müßte daher wenigstens als ein die Krankheit begünstigendes Element betrachtet werden, vielleicht insofern, als er die Kultur des Keimes im Darne erleichtert und auf diese Weise die Entwicklung der Darmläsion begünstigt.

Derjenige, welcher die großen Schwierigkeiten kennt, die bei der Erzeugung der Krankheit auf gastrischem Wege auch für diejenigen Bakterien bestehen, die sich vorwiegend im Darmkanale lokalisieren (Typhus, Cholera etc.), wird in jedem Falle nicht die Wichtigkeit dieser Untersuchungen in Abrede stellen können; denn sie beweisen uns, daß der von uns studierte Keim in der Tat auf den Darm eine spezifische Wirkung ausübt und die Fähigkeit besitzt, bei den Tieren (Meerschweinchen) eine allgemeine Krankheit hervorzurufen, die alle Eigenschaften der Pellagra hat, übrigens nur unter der Bedingung, daß diese Tiere eine vorwiegende Maisnahrung erhalten.

Durch die Ergebnisse dieser Untersuchungen gewinnt ferner die Hypothese immer mehr an Wahrscheinlichkeit, daß derselbe Bacillus, der die akuten, rasch tödlich verlaufenden Formen der Pellagra (Typhus pellagrosus, Pellagrapsychose) hervorruft, auch die Ursache der gewöhnlichen Formen der Krankheit mit langsamerem Verlaufe ist.

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Kenntnis der Erreger der Kälberruhr, speziell der Colibacillose.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Serumgesellschaft m. b. H. zu Landsberg a. W. Direktor: Dr. O. Schreiber.]

Von Dr. Georg Neumann, prakt. Arzt u. Kinderarzt in Landsberg a. W.

Ueber die Erreger der Kälberruhr, einer heftigen, akuten, ruhrartigen Erkrankung der Spankälber in den ersten Tagen resp. Wochen ihres Lebens sind die Ansichten der Autoren immer noch geteilt.

Während die Angaben französischer Autoren, Lesage und Delmer u. A., daß bestimmte Pasteurella-Formen die Erreger seien, als überwunden gelten können, nehmen diejenigen beiden Forscher, die sich am eingehendsten mit der Frage beschäftigt haben, nämlich Jensen und Poels, an, daß es sich bei dem größten Teil der Fälle um eine Coli-Bacillose handelt, neben der allerdings auch noch andere Formen als Erreger von Kälberruhr in Frage kommen können. Und während die Franzosen meinen, daß die Infektionserreger sowohl per os als auch durch die Nabelgefäße eindringen, sehen Jensen und Poels die Infektion per os als hauptsächlichste Eingangspforte, den Nabel, die Subcutis und den Mastdarm als weniger häufige Eintrittsstelle an.

Als wesentlicher Unterschied aber in der Ansicht von Poels und Jensen tritt die Differenzierung und Substituierung der Coli-Stämme auf. Poels glaubt, daß bei der Coli-Bacillose „eine spezielle Art oder Varietät der Coli-Bacillen vorliegt, die zu den gewöhnlichen Darmbewohnern in keiner Beziehung stehen“, während Jensen „eine Menge von Coli-Formen annimmt, die im stande sind, Diarrhöe und zum Teil entschiedene Kälberruhr der Spankälber zu erregen, und dazu nachgewiesen hat, daß toxische Einwirkungen bei gesunden, neugeborenen Kälbern eine vom Darm ausgehende tödliche Infektion mit Coli-Bacillen veranlassen kann, die sich bei fortgesetzter Uebertragung auf gesunde kleine Kälber als in hohem Grade virulent erweisen“. Auch die Enteritiden, die sich bei Spankälbern an die Fütterung mit gekochter Milch anschließen, beruhen nach Jensens Ansicht „auf der Einwanderung von Coli-Bacillen in die Darmwandung und die Blutbahnen“. Als Erklärung dieser Vorgänge nimmt Jensen an, daß entweder die gewöhnlichen Coli-Bacillen unter bestimmten Verhältnissen virulente Eigenschaften annehmen können, oder aber, daß sich neben einer Mehrzahl von unschädlichen Coli-Keimen auch wenige virulente befinden, die zu bestimmten Zeiten und unter sehr günstigen Bedingungen plötzlich die Oberhand zu gewinnen vermögen. Welche von diesen beiden Hypothesen die richtige ist, läßt er vorläufig noch dahingestellt.

Auch die auf Anregung von Herrn Dr. O. Schreiber unternommene, folgende Arbeit hat keineswegs den Vorwurf, zu einer der oben genannten speziellen Fragen Stellung zu nehmen, als vielmehr durch kulturelle und biologische Untersuchung der im hiesigen Seruminstitut vorhandenen Kälberruhrstämme weiteres Material zur Kenntnis derselben zu liefern, in der Annahme, daß eine große Reihe von Untersuchungen zur Klärung strittiger Fragen in erster Linie beizutragen vermag. — Die von mir untersuchten Stämme, die zur Herstellung des von

Jensen empfohlenen prophylaktischen Serums benutzt werden, sind von Herrn Dr. Schreiber aus dem Blute resp. den Organen von an Kälberruhr verendeten Tieren isoliert. Es handelt sich dabei um Kälber, die trotz vorgenommener Schutzimpfung mit dem vom Institut bezogenen Serum eingegangen sind, so daß der jedesmal frisch isolierte Infektionserreger dem alten Bestande zur Herstellung eines polyvalenten Serums stets neu einverleibt wurde.

Die Bezeichnungen der 30 Institutsstämme sind beibehalten; die Stämme 2—11 wurden, da sie von ihrem Uebermittler, Herrn Prof. Jensen, bereits untersucht waren, nicht mit zur Untersuchung herangezogen. Vergleichsweise wurden in den meisten Versuchen noch je ein Stamm Mäusetyphus, Schweinepest und ein aus dem menschlichen Darm gezüchtetes *B. coli*, das als *B. coli humanum* bezeichnet werden soll, mituntersucht. Auf das vergleichsweise Heranziehen eines normalen Kälber-Coli-Stammes wurde in der Erwägung verzichtet, daß ein etwaiges abweichendes Verhalten eines einzelnen Individuums keinen Ausschlag zu geben vermöchte, und daß die Untersuchung einer größeren Zahl wiederum erst Gegenstand einer besonderen Arbeit hätte werden müssen. Um absolut sichere Reinkulturen zu haben, wurden die mir übergebenen Stämme erst noch einmal über Gelatineplatten geschickt und von dort aus Agarstrichkulturen angelegt. Diese blieben als „Stammkulturen“ so lange wie möglich erhalten; von ihnen aus wurden dann jedesmal zur Vornahme der einzelnen Versuche frische Kulturen angelegt.

#### Morphologie.

Die Untersuchung auf Beweglichkeit im hängenden Tropfen wurde in der Weise vorgenommen, daß von einer 18-stündigen Agarkultur mit einer Nadel eine kleine Menge in physiologischer Kochsalzlösung verrieben wurde. Die Untersuchung des bei stets gleicher Versuchsanordnung vorgenommenen hängenden Tropfens ergab, daß die meisten Stämme etwas, d. h. sehr schwer oder schwer beweglich waren, daß Stamm 23 etwas leichter beweglich ist, während No. 24, Mäusetyphus und Schweinepest, als lebhaft beweglich zu bezeichnen sind; Stamm 26 ist unbeweglich.

Eine Längenmessung der einzelnen Bakterien wurde nicht vorgenommen, jedoch zeigte es sich, daß von den mit Fuchsin gefärbten Trockenpräparaten die Mehrzahl der Bakterien der Stämme 1, 12, 16, 18 und 29 größer und dicker waren als die übrigen, die bis auf die in dieser Beziehung eine Mittelstellung einnehmenden Stämme 14, 15 und 17 sich meist als sehr kleine Bacillen erwiesen. Die Gramsche Färbung war bei allen Stämmen negativ, desgleichen die Modifikation der Gramschen Tinktion nach Escherich.

#### Kulturelles.

Die kulturellen Untersuchungen erstreckten sich auf die folgenden Nährböden resp. Reaktionen:

- 1) Gewöhnliche, schwach alkalische Bouillon.
- 2) Gewöhnlicher, schwach alkalischer Agar.
- 3) Gelatine.
- 4) Lackmusmilchzuckeragar.
- 5) Rothbergers Neutralrotagar.
- 6) Malachitgrünagar.
- 7) Aussaat auf Kartoffel.

- 8) Lackmusmolke.
- 9) Indolbildung.
- 10) Milch.
- 11) Vergärung zahlreicher Zuckerarten.

Die Untersuchung der Resultate wurde, wenn nicht anders vermerkt, stets nach 24 Stunden, bei den Gelatineplatten erst nach 2 bis 3 Tagen vorgenommen, da die letzteren aus äußeren Gründen bei Stubentemperatur gehalten werden mußten, während alle anderen Versuche bei 37° C angestellt wurden.

ad 1: Gewöhnliche, schwach alkalische Bouillon wird gleichmäßig von allen Stämmen getrübt; manche bilden, besonders wenn sie älter als 24 Stunden sind, zusammenhängende, bei Bewegungen in der Bouillon flottierende, häutchenartige Gebilde, die sich bei stärkerem Schütteln völlig auflösen; der Stamm 17 bildet echte Oberflächenhäutchen. Die Bouillon der Stämme 1, 12—16, 18—23, 25, 27—30 zeichnet sich bei längerem Stehen durch einen üblen, fäkulenten Geruch aus.

ad 2: Das Wachstum auf schrägem Agar zeigt ein gleichmäßiges, opakes, grauweißes Aussehen, die Stämme 1, 14 und in geringem Grade auch 23 und 25 weisen einen mehr schleimartigen Belag auf. Der Stamm 17, der einen leicht gelblichen Farbenton zeigt, bildet auf dem Kondenswasser ein Häutchen.

ad 3: Nur der Stamm 17 verflüssigt die Gelatine. In der Tiefe bilden die meisten Stämme, exklusive No. 17, runde, bräunliche resp. weiße, kleine Kolonien.

Die Oberflächenkolonien der meisten Stämme sind weiß, häutchenartig, rund oder leicht gezackt mit mehr oder minder dickem Zentrum und transparenter Peripherie; bei durchfallendem Lichte erscheinen die meisten Kolonien bläulich-weiß. Das *B. coli humanum* zeigt die typische Weinblattform; desgleichen Stamm 25. Die Kolonien der Kultur No. 24 sind zackig und bläulich-transparent, die von Stamm 26 sind rund, transparent, bläulich-weiß; ihr Zentrum ist nicht viel dicker als die Peripherie.

Die Oberflächenkolonien von Mäusetyphus und Schweinepest sind klein, weiß, flach und rund, bei durchfallendem Lichte bläulich-weiß.

ad 4: Auf Lackmusmilchzuckeragar wachsen die Stämme 1, 12—16, 18—23, 25, 27—30 und *B. coli humanum* rötlich, dick und saftig; Stamm 17 bildet wenige, kleine, blauweiße, glasig durchscheinende, runde Kolonien; Stamm 24 sieht blauweiß, klein und wie gekörnt aus; ähnlich sind, jedoch mit gleichmäßiger Oberfläche, die Kolonien des Stammes 26; Mäusetyphus und Schweinepest wachsen gleichfalls ohne Säurebildung.

ad 5: Rothbergers Neutralrotagar wird von allen Stämmen mit Ausnahme von No. 24 gesprengt und mehr oder minder stark, anfänglich grün-fluoreszierend, späterhin ganz entfärbt.

ad 6: Malachitgrünagar hindert sämtliche Stämme bei stärkerer Konzentration der Farbe am Auswachsen, bei geringerem Zusatz wachsen die Kolonien ohne besondere charakteristische Merkmale.

ad 7: Die Aussaat auf Kartoffel zeitigte folgendes Ergebnis: Die Stämme 1, 12—16, 18—23, 25, 27—30 zeigten übereinstimmend einen feuchtglänzenden, schleimigen, graugelben Belag, während die Substanz der Kartoffel selbst blaugrau-rötlich aussah.

Stamm 17 wuchs grau, feuchtglänzend, schleimig; die Kartoffel wurde grau.

Tabelle

	Monohexosen				Pentosen		
	Glukose	Mannose	Galaktose	Fruktose	Arabinose	Xylose	Rhamnose
Stamm 1	LS	LS	LS	LS	LS	LS	Kuppe L Spur S
" 12	"	"	"	"	"	"	Kuppe L Spur S
" 13	"	"	L Spur S	"	"	"	0
" 14	"	"	LS	"	"	"	Kuppe L Spur S
" 15	"	"	"	"	Kuppe L Spur S	"	Kuppe L Spur S
" 16	"	"	"	"	LS	"	Kuppe L Spur S
" 17	"	0	"	0	0	0	0
" 18	"	LS	L Spur S	LS	LS	LS	Kuppe L Spur S
" 19	"	"	0	"	"	"	0
" 20	"	"	0	"	"	"	Kuppe L Spur S
" 21	"	L Spur S	LS	"	"	"	Kuppe L Spur S
" 22	"	LS	"	"	"	"	Kuppe L Spur S
" 23	"	"	Kuppe L Spur S	"	"	"	Kuppe L Spur S
" 24	S	0	S	S	0	0	0
" 25	LS	LS	Kuppe L Spur S	LS	LS	LS	Kuppe L Spur S
" 26	"	"	LS	"	"	Kuppe L Spur S	Kuppe L Spur S
" 27	"	"	"	"	"	LS	Kuppe L Spur S
" 28	"	"	"	"	"	"	Kuppe L Spur S
" 29	"	"	"	"	"	L Spur S	Kuppe L Spur S
" 30	"	"	"	"	"	LS	Kuppe L Spur S
" B. coli hum.	"	"	Kuppe L Spur S	"	L Spur S	"	Kuppe L Spur S
" Mäusetyphus	"	"	LS	"	LS	0	Kuppe L Spur S
" Schweinepest	"	"	"	"	"	0	Kuppe L Spur S

Versuche, die aus äußeren Gründen verloren

Stamm 24 bildete einen hellgrauen Belag; auch hier wurde der Nährboden grau.

Stamm 26 zeigte ein schleimiges, graugelbes Aussehen; die Kartoffelsubstanz war kaum verfärbt.

*B. coli humanum* wuchs gelblich-grau, wobei der Nährboden eine graue Farbe annahm.

Mäusetyphus und Schweinepest bildeten einen graugelben Belag; die Kartoffel wurde dabei graublau.



I.

Disaccharide		Trisaccharide	Polyvalente Alkohole				
Maltose	Saccharose	Raffinose	Erythrit	Adonit	Sorbit	Mannit	Melampyrit
LS	0	Kuppe L Spur S	0	0	LS	LS	0
"	0	0	0	0	Kuppe L Spur S	L Spur S	0
0	0	0	0	0	0	L Spur S	0
0	0	0	0	0	LS	L Spur S	Kuppe L Spur S
Kuppe L Spur S	0	0	0	0	Kuppe L Spur S	L Spur S	0
—	0	Kuppe L Spur S	0	0	Kuppe L Spur S	L Spur S	0
0	0	0	0	0	0	0	0
LS	0	0	0	0	Kuppe L Spur S	L Spur S	0
"	0	0	0	0	Kuppe L Spur S	L Spur S	Kuppe L Spur S
"	0	0	0	0	LS	L Spur S	0
"	0	Kuppe L Spur S	0	0	"	L Spur S	0
"	0	0	0	Kuppe L Spur S	0	LS	0
Kuppe L Spur S	0	0	0	0	0	L Spur S	0
Kuppe L Spur S	0	LS	0	0	0	Kuppe L Spur S	0
SL	0	0	0	0	LS	L Spur S	0
"	LS	LS	0	0	"	L Spur S	Kuppe L Spur S
0	0	0	0	0	"	L Spur S	0
SL	0	0	0	0	Kuppe L Spur S	L Spur S	0
"	0	Kuppe L Spur S	0	0	LS	L Spur S	Kuppe L Spur S
"	0	0	0	0	0	L Spur S	0
—	0	LS	0	0	0	L Spur S	LS
—	0	Kuppe L Spur S	0	0	0	LS	LS
—	0	0	0	0	0	LS	LS

gingen, sind mit einem Strich versehen.

ad 8: In Lackmusmolke bildeten Stamm 1, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 30 und *B. coli humanum* Säure; negativ waren die Stämme 17, 26, Mäusetyphus und Schweinepest.

ad 9: In Peptonwasser mit 1-proz. Peptongehalt wurde nur von den Stämmen 26, Mäusetyphus und Schweinepest kein Indol gebildet; alle übrigen zeichneten sich durch Indolbildung aus, besonders stark Stamm 17 und 25.

ad 10: Milch wurde von sämtlichen Stämmen innerhalb 24 Stunden zur Gerinnung gebracht mit Ausnahme von Stamm 17, 24, 26, Mäuse-typhus und Schweinepest; letztere ließen auch nach 48 Stunden die Milch noch unverändert.

ad 11: Die Vergärung der verschiedenen Zuckerarten ergab, wie wir später sehen werden, bei den zur Coli-Gruppe gehörigen Bakterien ein von den Jensenschen Ergebnissen in manchen Punkten abweichendes Verhalten.

Zur Vergärung benutzte ich ein Peptonwasser, das aus physiologischer Kochsalzlösung mit einem Zusatz von 1-proz. Pepton sicc. Witte bestand. Nachdem festgestellt war, daß in dieser Lösung keinerlei Gärung durch *B. coli* erfolgte, wurden die verschiedenen Zuckerarten kurz vor dem Gebrauch zugesetzt; diese Lösungen, deren Zuckergehalt durchweg nur  $\frac{1}{10}$  Proz. betrug, wurden nochmals sterilisiert und dann von den Reagenzgläsern aus in knieförmig gebogene und mit einem geschlossenen Schenkel versehene Gärungsröhrchen übergefüllt. Diese letzte Art von Röhrchen erwies sich praktischer — weil weniger zerbrechlich — als die gleichfalls zuweilen verwendeten Gärungskölbchen mit Ampulle.

Als Schema bei den Untersuchungen wurde das von Jensen zu diesem Zwecke angegebene, das im Handbuch von Kolle-Wassermann angeführt ist, benutzt. Nach Jensens Muster wird auch zwecks Abkürzung die Säurebildung mit S, die Gasbildung mit L bezeichnet werden.

Säurebildung sowohl wie Vergärung waren seitens der verschiedenen Stämme und der einzelnen Zuckerarten, wie ich noch erwähnen möchte, recht different, trotzdem wurde von einer genaueren Bezeichnung der Mengenverhältnisse Abstand genommen, da die jeweilig zur Aussaat gelangte Bakterienmenge keineswegs eine gleichmäßige war; nur in den Fällen, in denen die Vergärung und die Säurebildung sehr geringe waren, trotzdem die Peptonwasserzuckerlösung im allgemeinen gleichmäßig getrübt erschien, sind noch die Worte „Kuppe“ zu L und „Spur“ zu S hinzugefügt worden.

Wenn man die Tabelle p. 216 u. 217 mit den allerdings weniger zahlreichen Gärungsergebnissen vergleicht, die Jensen in seiner Arbeit über Kälberruhr im Kolle-Wassermannschen Handbuch anführt, so fällt es gewiß auf, daß die von mir untersuchten Stämme mit Rhamnose und Mannit, mit Adonit und Melampyrit in geringerem Grade resp. in geringerer Zahl als die „Jensen-Stämme“ Vergärung hervorrufen, und daß sie die Saccharose und Raffinose fast gar nicht vergären, während dies von den von Jensen angeführten Stämmen noch zahlreich geschieht.

Der Grund hierfür wäre, wenn die verwendeten Zuckerarten sich gleichmäßig verhalten, was nicht immer der Fall sein soll, vielleicht in dem Umstande zu suchen, daß der Zuckergehalt der obigen Lösungen nur  $\frac{1}{10}$  Proz., also recht wenig, betrug; denn Kontrollversuche ergaben stets dasselbe Resultat. Oder aber die hiesigen Coli-Arten verhalten sich eben anders.

Wenn man nunmehr das Ergebnis der kulturellen Untersuchungen zusammenzieht, so handelt es sich bei den untersuchten Stämmen:

1) Bei Stamm 1, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 27, 28, 29 und 30 um Angehörige der Coli-Gruppe; den Stamm 17 glaube ich als *Proteus*, 26 als *Aërogenes* ansprechen zu können.

2) Das bei den Angehörigen der Coli-Gruppe gefundene, gleichmäßige, feuchtglänzende, schleimige, graugelbe Wachstum auf der Kartoffel mit gleichzeitiger blaugrau-rötlicher Verfärbung der Nährbodensubstanz möchte ich nur erwähnen, ohne dasselbe bereits als charakteristisch aufzustellen.

3) Den Umstand, daß die Angehörigen der Coli-Gruppe in Peptonwasser mit  $\frac{1}{10}$  Proz. Gehalt an Saccharose und Erythrit gar nicht, bei Zusatz von Adonit, Raffinose und Melampyrit nur vereinzelt und sehr gering zu vergären vermögen, möchte ich gleichfalls hervorheben.

Ob es aber damit gelingen wird, wie Jensen hofft, Differenzierungsmöglichkeiten zu schaffen, bleibt noch dahingestellt. Bei dem so außerordentlich verschiedenen Verhalten der einzelnen Coli-Gattungen ist dies schwer zu erwarten, zumal auch das biologische Verhalten der Stämme, das nunmehr teilweise skizziert werden soll, keineswegs einheitlich erscheint.

Virulenz.

Virulenzprüfungen wurden nicht in größerem Umfange und in bestimmten Versuchsreihen vorgenommen, sondern es wurden nur gelegentlich der Immunisierungen von Meerschweinchen und Kaninchen zwecks Vornahme der Agglutinationsversuche partielle Beobachtungen gewonnen, die hier erwähnt werden mögen. Es zeigte sich, daß die einzelnen Stämme eine ganz verschiedene Virulenz hatten. Ferner wurde beobachtet, daß manche Stämme bei subkutaner Injektion nur Eiterungen erzeugten, die bald heilten, daß andere aber nach wenigen Stunden resp. Tagen den Exitus bewirkten.

Eine kleine Tabelle von für Meerschweinchen besonders virulenten Stämmen möge dies erläutern:

Stamm	Menge der einverleibten 24-stündigen Bouillonkultur	Ort der Injektion	Exitus nach
1	ca. $\frac{1}{100}$ ccm	subkutan	1 Tage
1	" $\frac{1}{1000}$ "	intraperitoneal	1 Tage
12	" $\frac{1}{100}$ "	subkutan	3 Tagen
12	" $\frac{1}{1000}$ "	intraperitoneal	1 resp. 3 Tagen
18	" $\frac{1}{100}$ "	subkutan	1 resp. 2 Tagen
28	" $\frac{1}{100}$ "	subkutan	3 Tagen
27	" $\frac{1}{100}$ "	subkutan	6 Tagen
13	" $\frac{1}{100}$ "	subkutan	7 Tagen

Die meisten dieser Versuche wurden durch Wiederholungen bestätigt.

Es scheint, darnach zu urteilen, auch für die einzelnen Meerschweinchen ein geringer Unterschied zu bestehen; immerhin war die Zahl der Meerschweinchen, die von so geringen Mengen einer 24-stündigen Bouillonkultur einzelner Stämme, wie sie  $\frac{1}{100}$  resp.  $\frac{1}{1000}$  ccm darstellen, getötet wurden, eine verhältnismäßig große. Der Umstand, daß auch — und recht häufig — die subkutanen Injektionen dieser kleinen Dosen letal wirkten, ist außerdem bemerkenswert.

Die Kaninchen hingegen zeigten sich gegenüber den Kälberruhrstämmen unvergleichlich resistenter als die Meerschweinchen; es ging bei den allerdings nicht sehr zahlreichen Immunisierungen dieser Species, die gewöhnlich bereits mit  $\frac{1}{100}$  ccm intraperitoneal begannen, bei so

geringen Dosen kein Tier zu Grunde. Auch Jensen weist bereits auf diesen Unterschied der Meerschweinchen- und Kaninchenimmunisierung hin. Sektionen der verendeten Tiere fanden nur vereinzelt statt; Versuche, aus dem Blute und den Organen die einverleibten Bakterien wieder zu züchten, sind gleichfalls unterblieben, da, wie bereits oben erwähnt, eine regelrechte Virulenzprüfung nicht ins Auge gefaßt war und die mitgeteilten Wahrnehmungen nur gelegentlich der Immunisierungsversuche stattfanden.

#### Agglutination.

Die Immunisierung der Meerschweinchen fand in der Weise statt, daß den Tieren anfänglich  $\frac{1}{100}$  ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur subkutan einverleibt wurde; es bestand die Absicht, dann intraperitoneale Injektionen folgen zu lassen. Als einige Tiere bei der Injektion von  $\frac{1}{100}$  ccm unter die Haut zu Grunde gingen, wurde mit  $\frac{1}{1000}$  ccm subkutan begonnen. Es zeigte sich nunmehr, daß viele Tiere, die die subkutanen Einspritzungen überstanden, phlegmonöse Eiterungen bekamen, die erst nach Wochen gänzlich ausheilten.

Deshalb wurde bei späteren Versuchen die gleiche Menge sogleich intraperitoneal injiziert und die Einspritzungen wurden dann in Abständen von 8—10 Tagen mit  $\frac{1}{100}$  ccm, dann  $\frac{1}{10}$  ccm,  $\frac{1}{2}$  ccm und schließlich 1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur vervollständigt. Bei den Kaninchenimmunisierungen wurde gleich  $\frac{1}{100}$  ccm intraperitoneal eingespritzt und in der erwähnten Weise gesteigert. Gewöhnlich wurden die Tiere vom 7. Tage nach der letzten Einspritzung ab zwecks Gewinnung des Serums getötet. In einigen wenigen Fällen, in denen dies früher geschah, z. B. am 2. resp. 4. Tage nach der letzten Injektion — es war bei Kaninchen — mußte ich die Wahrnehmung machen, daß das Serum wohl den Teststamm und einige andere Stämme scheinbar agglutinierte, indem die Bakterien in dicken Klumpen am Boden des Glases lagen, während die überstehende Flüssigkeit klar war, aber bei leichtem Schütteln wirbelten die Bakterienmassen in gleichmäßigen, dicken Wolken durch die Flüssigkeit.

Eine mikroskopische Untersuchung dieser Resultate fand nicht statt, da die unten angeführten Agglutinationen stets makroskopisch beurteilt wurden. Dieselben wurden in folgender Weise angestellt: Es wurden mit steriler physiologischer Kochsalzlösung Serumverdünnungen — und zwar das Verhältnis 1:100 als niederste Grenze — hergestellt, von denen je 1 ccm in sterilisierte Reagenzgläser gefüllt wurde; in dieser Flüssigkeit wurde mit derselben Platinöse stets die gleiche Menge — 1 Oese — einer 24-stündigen Agarstrichkultur gleichmäßig und vollständig verrieben. Die Gläser wurden sodann auf 2 Stunden in den Brutschrank bei 37° C gestellt und nur die makroskopisch sichtbare, deutliche Agglutination notiert.

Die Wirkung des Kälberruhrserums, das Jensen als Erster herstellte, ist nach seiner Ansicht meist eine bakteriolytische. Diese bakteriolytische Eigenschaft, die sonst mit dem Agglutinationsvermögen nicht zusammenfällt, glaubt Jensen bei der Kälberruhr in der Weise beurteilen zu dürfen, daß ein Stamm, der durch ein stark verdünntes Serum im Verhältnis von 1:1000—1:5000 noch agglutiniert wird, auch der Bakteriolyse durch ein solches Serum anheimfällt. Daß dies nicht der Fall ist, möchte ich gleich vorwegnehmen, denn wenn dies Verhältnis vorgelegen hätte, dann hätte von den unten untersuchten Stämmen

keiner den anderen so hoch agglutinieren dürfen, wie es tatsächlich geschehen ist. Denn wie ich zu Anfang bereits erwähnt habe, wurden die Stämme stets aus solchen Kadavern gewonnen, die trotz vorgenommener prophylaktischer Serumeinspritzung doch der Kälberruhr zum Opfer fielen.

Die bei den Agglutinationen gefundenen Resultate folgen in Tabelle II und III, wobei, wie bereits oben vermerkt, als niedrigste Serumverdünnung das Verhältnis 1 : 100 genommen wurde; ein Agglutinationsverhältnis unter diesem Titer ist als 0 bezeichnet. Die in der Tabelle angeführten Zahlen bedeuten die höchste Verdünnung, bei der noch eine makroskopisch sichtbare Agglutination eingetreten ist. Die waagrechten Reihen bezeichnen das Serum, das mit den betreffenden Stämmen gewonnen wurde, während die senkrechten Reihen die einzelnen Stämme, mit denen die Agglutination ausgeführt wurde, angeben.

Tabelle II.

Meerschweinchenserum behandelt mit Stamm	13	18	20	21	22	27	28	29	30	17	26	Mäuse-typhus
Stamm 1	1:1600	1:400	0	1:800	1:800	0	0	1:800	1:800	0	0	0
" 12	1:1600	1:800	0	1:1600	1:1600	1:800	1:1600	1:1600	1:800	0	0	0
" 13	1:1600	1:1600	0	1:1600	1:3200	1:800	1:1600	1:1600	1:800	0	0	0
" 14	0	0	0	1:100	0	0	0	0	0	0	0	0
" 15	1:1600	0	0	1:800	1:1600	1:800	1:1600	1:1600	1:800	0	0	0
" 16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" 17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1:3200	0	0
" 18	1:1600	1:1600	0	1:800	1:1600	1:800	1:1600	1:1600	1:800	0	0	0
" 19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" 20	0	0	1:1600	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" 21	1:1600	1:800	0	1:1600	1:3200	1:800	1:1600	1:1600	1:800	0	0	0
" 22	1:1600	1:800	1:1600	1:1600	1:3200	1:800	1:1600	1:1600	1:800	0	0	0
" 23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" 24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" 25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" 26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1:400	0
" 27	—	1:800	0	1:1600	0	1:800	0	0	1:800	0	0	0
" 28	1:1600	1:800	0	1:1600	1:1600	1:800	1:1600	1:1600	1:800	0	0	0
" 29	1:1600	1:800	0	1:1600	1:3200	1:800	1:1600	1:1600	1:800	0	0	0
" 30	1:1600	1:800	0	1:800	1:1600	1:800	1:1600	1:1600	1:800	0	0	0
" B. coli hum.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" Mäuse-typhus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1:800
" Schweinepest	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1:800

Wenn man die Tabellen übersieht, so fällt es auf, daß die meisten echten Coli-Stämme von dem Serum, das mit einem dieser Stämme hergestellt ist, agglutiniert werden, und häufig geschieht dies bis zur Titerhöhe, so daß man fast an Poels Ansicht von der Spezifität der Coli-Kälberruherreger denken könnte, wäre der Prozentsatz der sich anders verhaltenden, gleichfalls zur Coli-Gruppe gehörigen Stämme nicht so hoch.

Einer von diesen letzteren Stämmen, No. 20, von dem gleichfalls ein Agglutinationsserum hergestellt wurde, agglutinierte nur den eigenen Stamm und den leicht agglutinablen Stamm 22, was gewiß bemerkenswert ist. Auf jeden Fall aber geht aus den obigen Versuchen hervor,

daß Jensens Ansicht nicht zutrifft, die dahin geht, daß, „wenn eine frisch isolierte Kultur durch ein stark verdünntes Serum agglutiniert wird, letzteres auch fast ohne Ausnahme der betreffenden Form gegenüber bakteriolytische Eigenschaften zeigt“.

Tabelle III.

Kaninchenserum behandelt mit Stamm	14	15	24
Stamm 1	0	1:200	0
„ 12	0	1:200	0
„ 13	0	1:400	0
„ 14	1:800	0	0
„ 15	1:1600	1:400	0
„ 16	0	0	0
„ 17	0	0	0
„ 18	0	1:400	0
„ 19	0	0	0
„ 20	0	0	0
„ 21	1:1600	1:400	0
„ 22	1:1600	0	0
„ 23	0	0	0
„ 24	0	0	1:800
„ 25	0	0	0
„ 26	0	0	0
„ 27	0	0	0
„ 28	0	1:400	0
„ 29	0	1:400	0
„ 30	0	1:400	0
„ B. coli hum.	0	0	0
„ Mäusetyphus	0	0	0
„ Schweinepest	0	0	0

Nebenher möchte ich noch das Agglutinationsresultat von dem mit dem Stamm 14 gewonnenen Serum hervorheben, bei dem der Titerstamm nicht so hoch agglutiniert worden ist als einige andere Stämme. Dieses Resultat wäre nicht geeignet, Pfaunders Gesetz, daß der isohomologe Stamm zuerst und am stärksten agglutiniert wird, zu stützen, wenn nicht Pfaundler selbst dies nur für die allermeisten Fälle als zutreffend in Anspruch nehmen würde.

Wenn ich nunmehr kurz die gefundenen biologischen Resultate zusammenfasse, so ergeben sich folgende Sätze:

1) Einige Kälberruhrstämme sind für Meerschweinchen sowohl subkutan wie intraperitoneal höchst virulent, sehr viel weniger für Kaninchen.

2) Die angestellten Agglutinationsversuche vermögen Poels Ansicht von der Spezifität der Coli-Kälberruhrerreger nicht hinreichend zu stützen.

3) Jensens Satz: „Wird eine frisch isolierte Kultur durch ein stark verdünntes Serum (1:1000—5000) agglutiniert, so wird letzteres auch fast ohne Ausnahme der betreffenden Form gegenüber bakteriolytische Eigenschaften zeigen und umgekehrt; das betreffende Serum wird, mit anderen Worten, auch in demjenigen Bestande anwendbar sein, aus dem die untersuchte Kultur stammt“, ist nicht zutreffend.

Zum Schluß sage ich Herrn Dr. Schreiber für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein stetes Interesse bei ihrer Ausführung meinen verbindlichsten Dank.

**Literatur.**

- 1) Jensen, Die Kälberruhr. (Kolle-Wassermanns Handb. d. Mikroorganismen. Bd. III.)
- 2) — —, Ueber Kälberruhr und deren Verhütung durch Seruminjektionen. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. IX. 1905. p. 343)
- 3) Pfaundler, Spezielle Immunitätslehre betreffend das *B. coli*. (Kolle-Wassermanns Handb. d. Mikroorganismen. Bd. IV.)
- 4) Poels, Kälberruhr, desgleichen die Arbeit von Lesage u. Delmer, zitiert nach Jensen, s. o.

*Nachdruck verboten.*

**Ueber die Beziehungen der *Spirochaeta pallida* zu den  
Lymph- und Blutbahnen,  
sowie über Phagocytose im primären und sekundären Stadium.**  
[Aus der Abteilung für Dermatologie und Syphilis des k. k. Krankenhauses Wieden in Wien.]

Von Prof. Dr. S. Ehrmann.

Mit 1 Tafel und 14 Figuren.

Seit einer langen Reihe von Jahren mit dem Studium der durch die Syphilis in ihren recenten Stadien erzeugten Gewebsveränderungen beschäftigt, habe ich es immer versucht, die Wege des Syphilisvirus aus diesen Veränderungen zu kombinieren. Als durch die Entdeckung Schaudinns unter Hoffmanns Mitarbeit die *Spirochaeta pallida* bekannt, und namentlich als von Volpino und Bertarelli die Möglichkeit der Silberimprägation der Spirochäten im Gewebe gefunden und durch Levaditi verbessert worden war, habe ich sofort begonnen, die auf histologischem Wege erschlossenen Resultate mit Hilfe dieser Methoden zu kontrollieren. In einigen kurzen Publikationen habe ich bereits die wesentlichsten Ergebnisse dieser Nachprüfung mitgeteilt, zuletzt in einer vorläufigen Mitteilung, und dann auf dem Kongreß der deutschen dermatologischen Gesellschaft in Bern, wo ich auch die dazu gehörigen Präparate demonstrieren konnte.

In der vorliegenden Publikation möchte ich nun daran gehen, die Tatsachen, um einige vermehrt, in ihren Einzelheiten zu schildern und die daraus sich ergebenden Bemerkungen anzuschließen. Selbstverständlich muß ich dabei immer zum Vergleich die Resultate meiner früheren anatomischen Arbeiten heranziehen<sup>1)</sup>.

Es ist zunächst von Interesse, zu erfahren, welche Wege die Spirochäten nach ihrer Uebertragung auf die gesunde Haut im Gewebe einschlagen.

Beim Menschen ist diese Frage nur von einem bestimmten Zeitpunkte zu beantworten, nämlich von dem Momente an, wo bereits eine

1) In meiner vorläufigen Mitteilung erwähnte ich schon, daß die Weiterverfolgung der bisher gewonnenen Tatsachen längere Zeit in Anspruch nehmen werde. Wenn diese Zeit vielleicht Manchem zu lang erscheinen mochte, dann will ich zu meiner Entschuldigung anführen, daß die Leitung einer großen Krankenhausabteilung, die mir obliegt, der ärztliche Beruf, sowie die verhältnismäßig geringe Zahl wissenschaftlicher Mitarbeiter, viel weniger günstige Forschungsbedingungen schaffte, als die reine Laboratoriumsarbeit. Hier muß ich auch die kräftige Unterstützung durch meinen Assistenten Dr. Reines und den Sekundararzt Dr. Lipschütz dankbar anerkennen.

sichtbare Veränderung an der Impfstelle zu finden ist, weil man ja diese früher nicht mit Sicherheit bestimmen kann. An anthropoiden Affen, bei denen bekanntlich die Haftung eine sichere ist, könnte man beliebige Zeit nach der auch lokal genau bestimmten Impfung die Impfstelle exzidieren und untersuchen. Ein solches Versuchsmaterial stand mir leider nicht zur Verfügung.

Zur Untersuchung<sup>1)</sup> kamen Sklerosen, bei welchen die Impfstelle bereits durch eine oberflächliche Erosion, d. h. Nekrose des Epithels gekennzeichnet und die Spirochäten zumeist auch schon in der Cutis zu finden waren, so daß wir nicht sagen können, ob sie gleich direkt in die Cutis oder erst in die Epidermis oder in beide gleichzeitig gelangt waren. Um die kleine Erosion entwickelt sich, wie von Unna und von mir in früheren Arbeiten dargetan wurde, eine Wucherung der Epidermis (Akanthose) in Form verlängerter Reteleisten, welche oft weit in die Tiefe reichen. Hierbei ist eine beträchtliche Erweiterung der inter-spinalen Lymphräume zu finden, welche stellenweise durch Zugrundegehen (Ausschmelzung) ganzer Zellkomplexe sich zu großen Hohlräumen ausdehnen. Das gesamte Lückensystem ist von reichlichen typischen Spirochäten und von polynuklearen Leukocyten durchsetzt. Einen ähnlichen Befund habe ich für die krustöse Papel erhoben, und er findet sich auch im breiten Kondylom. Da in diesem Stadium — wie erwähnt wurde — die Spirochäten auch schon im anliegenden Papillarkörper zu finden sind, so kann man die Erscheinung auf zweierlei Weise erklären: Entweder sind die Spirochäten, wie bei der Papel, aus der Cutis in die gewucherte Epidermis gewandert (hier richtiger gesagt zurückgewandert) oder sie sind schon bei der Einimpfung zunächst in die Epidermis gelangt und haben sich, ebenso wie sie in die Cutis eingedrungen und sich da vermehrt haben, auch in die der Impfstelle benachbarten Epidermiszone verbreitet, während gleichzeitig die ursprünglich befallene Epidermis der Nekrose anheimfiel. Da ich in einzelnen Fällen in der nekrosierten Epidermis noch reichliche und typische Spirochäten gefunden habe, so muß ich den letzteren Modus für die Regel halten. In 8 Sklerosen mit positivem Spirochätenbefund konnte ich 2mal solche im nekrosierenden und gewucherten Teil der Epidermis, 3mal im gewucherten Teil — der nekrotische war größtenteils schon abgestoßen — allein nachweisen. In 4 Fällen waren sie in dem unterhalb des nekrotischen Belages gelegenen Gewebe gar nicht, wohl aber im umgebenden Papillarkörper 2mal daselbst in gestauten Venen und Lymphgefäßen vorhanden, 2mal fehlten sie in den oberflächlichen Anteilen der Sklerose ganz, waren aber reichlich in der Tiefe und in der Peripherie. In jenen Fällen allerdings, wo auf dem Sklerosenrand und in der Umgebung der Initialsklerose noch vor Verheilung derselben regionäre Papeln auftreten (lokale Metastase), scheint der erstere Modus stattzufinden, daß nämlich aus den Gefäßen der Cutis (oder aus der Cutis überhaupt) Spirochäten wieder in die Epidermis gelangen (Fall 4, 5). Worin der weitere Unterschied zwischen Papel und Sklerose im übrigen beruht, wird weiter unten gezeigt werden.

Jedenfalls gelangen die Spirochäten aus der Epidermis in die Cutis, wenn sie nicht schon bei der Einimpfung durch solche Hautläsionen,

1) Ich verwendete größtenteils die erste Levaditische Methode mit den seinerzeit aus meinem Laboratorium (Lipschütz) angegebenen Kautelen. Phagocytosen gelangen mir nur mit dieser. Vielleicht ist dieses jedoch nur Zufall. Die Untersuchung erfolgte überall nur in Schnittserien.



welche die Epidermis vollständig durchsetzten, den direkten Weg in die Cutis gefunden haben. Die Fälle, bei welchen die Eintrittspforte für die Spirochäten in Milbengängen der Krätzmilbe, welche bekanntlich in der Epidermis liegen, gegeben war, lassen die Annahme zu, daß die unteren Schichten der Epidermis zuerst die Spirochäten aufnahmen, ebenso die Versuche über Autoinokulation, die ich anderweitig veröffentlichte.

Die allerersten Veränderungen, welche die eingedrungenen Erreger in den obersten Schichten des Papillarkörpers, der eigentlichen Eintrittsstelle, setzen, sind ebenfalls aus den oben angegebenen Gründen schwer zu bestimmen. Die allerjüngsten zur histologischen Untersuchung gelangten Fälle zeigen dort bereits eine beträchtliche Vermehrung der Blutgefäßkapillaren und Infiltration größtenteils mit mononuklearen Leukocyten. Man kann aber den Lauf der Erscheinungen mit großer Sicherheit verfolgen, wenn man den Veränderungen nachgeht, welche in der Umgebung der eigentlichen Impfstelle durch das Fortschreiten der Erreger gesetzt werden.

Die Eingangspforte stellt das Zentrum des eigentlichen Sklerosenmassivs dar, in welchem während der ganzen Dauer der Initialsklerose die dichteste Infiltration zu finden ist. Es ist umgeben von einem weniger dichten, aber doch ziemlich kompakten Infiltrat (dem peripheren Teil des Sklerosenmassivs), das durchsetzt und umgeben ist von Zügen wenig veränderten Bindegewebes, in welchem, den Faserzügen folgend, Infiltratskolonnen und Streifen mit abnehmender Dichte weit in die Peripherie streichen. Das Bindegewebe zeigt sich leicht ödematös, die

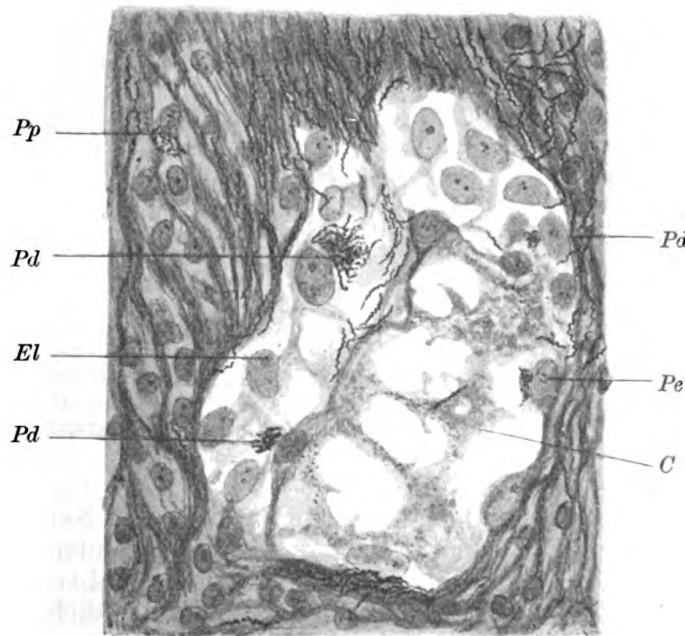


Fig. 1. Querschnitt eines Lymphgefäßes ohne Muscularis aus der Sklerose. *C* Koagulum mit einer eingeschlossenen Spirochäte. Fall 1. *El* Endolymphangitis (einseitig entwickelt). *Pd* Phagocytosen von Spirochäten in Fibroblasten der Endolymphangitis. *Pp* Phagocytosen in der Perilymphangitis. *Pe* Phagocytose des Endothels. Die übrigen Verhältnisse erklären sich von selbst und aus dem Text. Vergrößerung Zeiss, Immersion  $\frac{1}{12}$ , Kompensationsokular 8. Die Details kontrolliert mit Kompensationsokular 12.

Fibrillen weniger ausgeprägt, die seßhaften Bindegewebszellen oder Fibroblasten größer, zahlreicher und mehrkernig. Die Spirochäten liegen hier ungemein reichlich zwischen den Bindegewebsfibrillen (Fig. 1, 2) (Blaschko) oft so zahlreich, als diese selbst<sup>1)</sup>. Sie liegen mithin in den Gewebsspalten, welche die Ursprungsstätten der Lymphgefäße sind. Die vorhin erwähnten ausstrahlenden Infiltratskolonnen folgen ebenfalls den Spalten des Gewebes und umschließen die in ihnen verlaufenden Gebilde namentlich die Muskel-

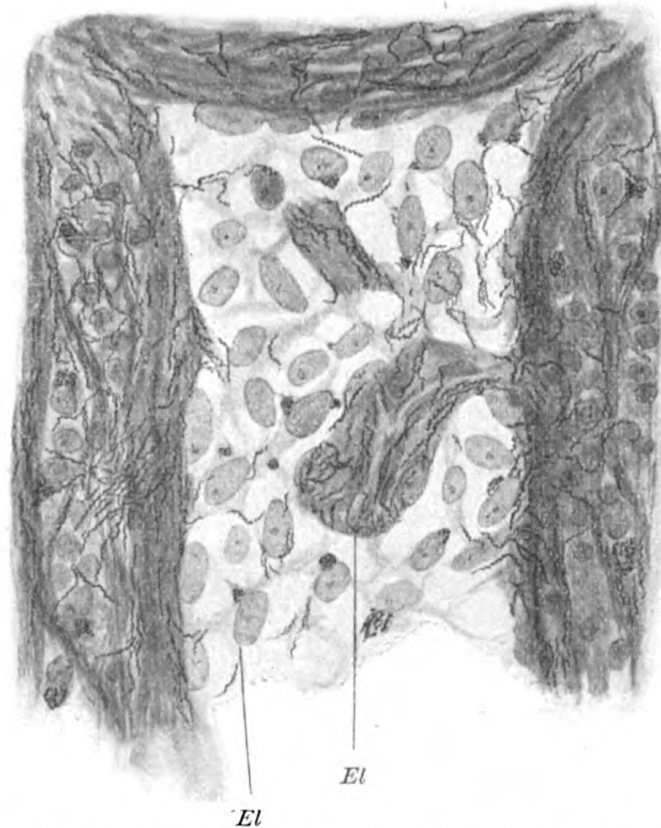


Fig. 2. Endolymphangitisches Gerüstwerk in einem Lymphgefäß ohne Muscularis. Sklerose von Fall 1. *El* Endolymphangitischer Vorsprung mit bereits entwickelter Blutkapillare. Außerdem sieht man junges endolymphangitisches Gerüstwerk mit Phagocytosen in verschiedenen Stadien in der Peri- und Endolymphangitis. Spirochäten im kollagenen Gewebe. Vergrößerung Zeiss, Immersion  $\frac{1}{12}$ , Kompensationsokular 8. Die Details kontrolliert mit Kompensationsokular 12.

fasern, die kleinsten Lymphgefäße, zuweilen auch die Nervenbündel und zum Teil die kleinsten Venen, welche sie, wie ich anderwärts bewiesen habe, einschneiden. Die Infiltratskolonnen selbst sind von Spirochäten durchsetzt, die wohl ziemlich reichlich, doch selten so dicht gelagert sind wie in den noch nicht infiltrierten Bindegewebsbündeln (Fig. 1, 2).

An meinen Injektionspräparaten von Präputialsklerosen habe ich gezeigt, daß das gesamte Infiltrat durchzogen ist von einem ungemein reichen Netz junger Blutkapillaren, daß dieses Netzwerk von

1) Ähnlich bei hereditärer Lues s. Versé l. c.

Kapillaren auch die in die Umgebung streichenden Infiltratkolonnen durchsetzt, ebenso wie es die Infiltratmäntel, welche die peripherwärts laufenden Lymphgefäße, die Muskel- und Nervenbündel einschließen, durchspinnt. Ich habe ferner davon weit in das nicht infiltrierte Gewebe ausladende Sprossen und bogenförmige Schlingen junger Kapillaren verfolgen können (Fig. 4—6) und daraus den Schluß gezogen, daß das Infiltrat dem Virus nachfolgt, daß das Virus selbst aber, nach der von ihm angeregten Gefäßproliferation zu schließen, schon weit in das noch nicht infiltrierte Gewebe vorausgedrungen sein müsse. Je weiter die Peripherie der Sklerose in ihrer Entwicklung und die Neubildung von Blutkapillaren darin fortschreitet, um so mehr nimmt dagegen der Reichtum des Kapillarnetzes im Skleromzentrum, an der ursprünglichen Eintrittsstelle des Virus selbst, wo das Infiltrat am dichtesten ist, zugleich mit dem oberflächlichen Zerfall des letzteren wieder ab. Diese Stelle sowie ihre nächste Umgebung zeigten sich auch frei von Spirochäten, während allerdings im Lumen der durch Kompression dilatierten Kapillaren, Venenstämmchen und Lymphgefäße noch Spirochäten vorkommen können (Fall 1, 2, 3). In demselben Maße, als das Infiltrat nach außen an Dichtigkeit abnimmt, nimmt die Zahl der Spirochäten darin zu.

Die Lymphgefäße zeigen folgende Veränderungen: Die kapillaren Lymphgefäße sind in der Sklerose selbst, mit Ausnahme der dichtest infiltrierte Stelle erweitert und zeigen schon im subpapillaren Netze eine Wucherung der Intima. Besonders an Injektionspräparaten, welche auch der elastischen Faserfärbung unterzogen wurden, sieht man deutlich feine Blutkapillaren die elastische Hülle der Lymphgefäße durchbrechen und in der intimalen Wucherung sich verzweigen (Fig. 7). Noch viel deutlicher tritt die intimale Wucherung an den größeren Lymphgefäßen der mittleren Schichten der Cutis zutage, welche dann, wenn sie aus dem Sklerosenmassiv austreten, zugleich einen mehr oder minder kompakten Mantel von äußerem Infiltrat bekommen, der ebenfalls reichlich von Blutkapillaren versorgt ist. Beides, die intimale Wucherung

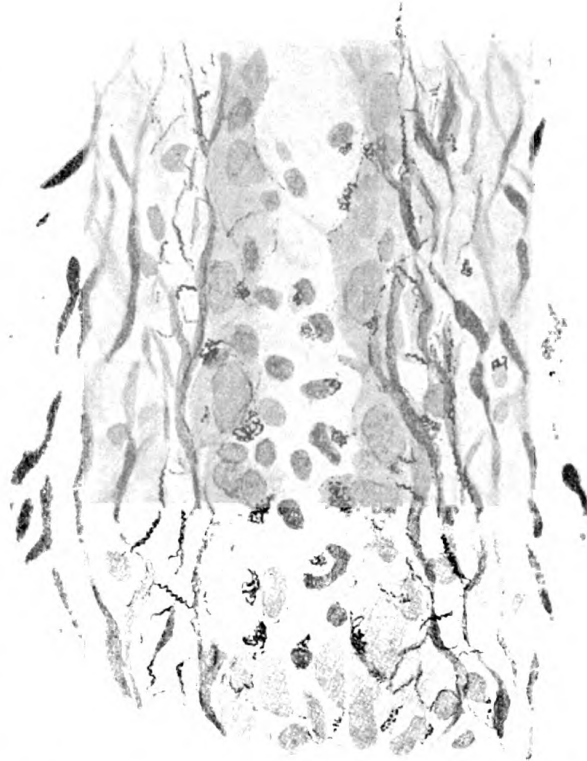


Fig. 3. Kleinstes Lymphgefäß angefüllt mit Leukocyten, von denen einzelne Phagocytosen zeigen, ebenso wie die angeschwollenen Endothelien und einzelne Leukocyten in der Umgebung. Sklerose. Fall 2. Vergrößerung Zeiss, Immersion  $\frac{1}{12}$ , Kompensationsokular 8. Die Details kontrolliert mit Kompensationsokular 12.

(Endolymphangitis) als auch das äußere Infiltrat (die Perilymphangitis), setzen sich gleichmäßig, diskontinuierlich oder in Knotenform auf die großen bereits mit einer Muskelschicht versehenen Lymphgefäße fort (Lymphstränge). Die Endolymphangitis kleidet das Gefäß bald in der ganzen Peripherie bald nur einseitig aus, bald in Form von Gerüstwerken, welche das Lumen durchsetzen (Fig. 4—7) oder in Form von Knospen in dieses hineinragen. Bezüglich der Details muß ich auf meine früheren Arbeiten (Arch. f. Dermatol. 1903 u. 1906) verweisen, und nachdem ich in kurzen Zügen die anatomischen Veränderungen skizziert habe, mich wiederum der Beziehung derselben zu den Spirochäten zuwenden.

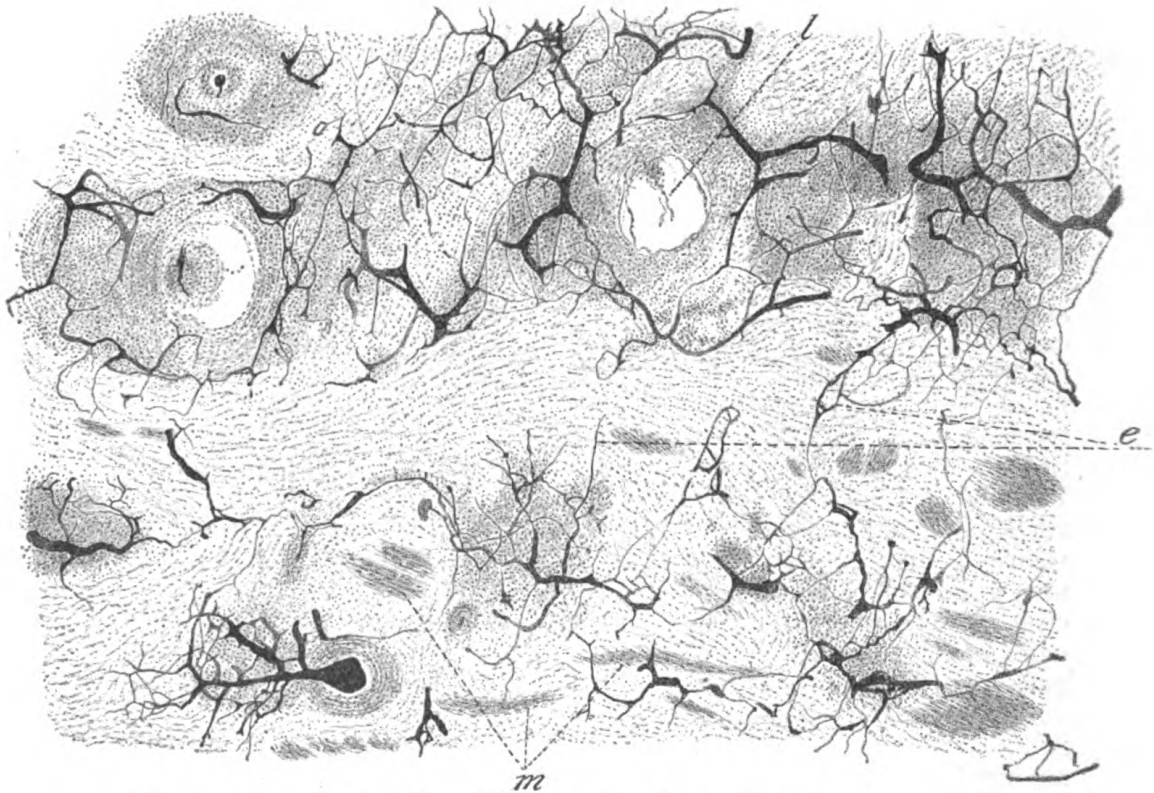


Fig. 4. Aus dem Injektionspräparat eines sklerotierten Praeputiums. *m* Muskelfasern. *l* Lymphgefäß. *e* Kapillarschlingen, die ins nicht infiltrierte Gewebe hinausprossen. Vergrößerung Reichert 4, Okular 3.

An den Lymphgefäßen des Sklerosenrandes und der Peripherie, namentlich an solchen, welche noch keine Muscularis haben, sieht man die Spirochäten zahlreich um die Lymphgefäßwand gelagert, bezeichnenderweise um so weniger zahlreich, je dichter das Leukocyteninfiltrat der Perilymphangitis ist. Wir finden sie dort am reichlichsten, wo der Prozeß noch jung und im Fortschreiten begriffen ist. Wir finden sie im Lumen freiliegend oder im Coagulum eingeschlossen, wo die Endolymphangitis noch nicht oder in geringem Maße vorhanden ist<sup>1)</sup>.

An jenen Lymphgefäßen, wo sich die Endolymphangitis bereits ent-

1) Das Coagulum ist, wie ich in meiner vorläufigen Mitteilung auseinandergesetzt habe, nicht auf die Wirkung der Spirochäte, sondern auf die der Fixationsflüssigkeit zu beziehen.

wickelt hat, kann man ihre Beziehungen zu dem neugebildeten Gewebe besonders zu den jungen Fibroblasten, aus denen das Gewebe in der ersten Zeit besteht, studieren. Diese seßhaften Bindegewebszellen sind groß, häufig mehrkernig (Fig. 1), an einzelnen kann man bereits das später zu beschreibende Phänomen der Phagocytose der angelagerten Spirochäten in Form von endocellulären Büscheln beobachten. Wenn sich in dem neugebildeten Bindegewebe junge Kapillaren schon entwickelt haben, so findet man sie auch an diese angelegt (Fig. 2). Später stellen sich hier ebenfalls Leukocyten ein, welche das Gewebe in steigender Dichtig-

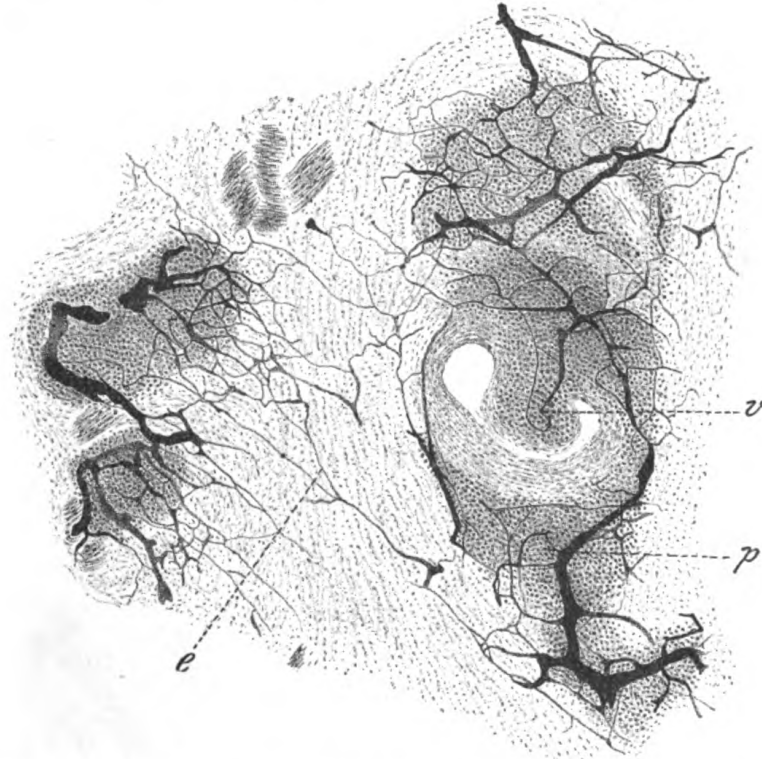


Fig. 5. Aus dem Injektionspräparat eines sklerosierten Praeputiums. *p* Perilymphangitis. *v* Vorspringender Wulst der Endolymphangitis. *e* In das nicht infiltrierte Gewebe sprossende neugebildete Kapillaren der Perilymphangitis. Vergrößerung Reichert 4, Okular 3.

keit durchsetzen und im selben Maße schwinden die Spirochäten, ähnlich wie in der Perilymphangitis (Fig. 7).

Die verschiedenen Stadien finden wir dargestellt auf den Abbildungen Fig. 1, 2, 3, die nach Levaditi-Präparaten hergestellt sind. Zum Vergleich mögen die Abbildungen Fig. 4, 5, 6, 7 dienen, die von Injektionspräparaten herrühren. In Fig. 4 sieht man Lymphgefäße ohne elastische Faserfärbung, umgeben von einem Infiltrat, das von einem Netz von Blutkapillaren versorgt ist, an dem einen links gelegenen Lymphgefäß einen halbinselförmig vorspringenden endolymphangitischen Wulst, der eine Blutkapillare führt.

Fig. 5. Ein Lymphgefäß schon mit Muscularis versehen, ein dicht infiltrierte endolymphangitischer Wulst, mit dem perilymphangitischen Infiltrat zusammenhängend und mit Blutgefäßschlingen versehen.

Fig. 6. Bei stärkerer Vergrößerung ein Lymphgefäß mit etwas geringerem perilymphangitischem Infiltrat, das intimale Gewebe in Form von Gerüstwerken jungen Bindegewebes. Wir sehen eine junge injizierte Kapillare in das Gerüstwerk hineinziehen.

Fig. 7 zeigt endlich bei Darstellung der elastischen Fasern den Ausgang des Prozesses; die endolymphangitische Wucherung ist stark entwickelt, von reichlichen Leukocyten infiltriert und von zahlreichen neugebildeten Kapillaren durchsetzt, welche von einzelnen die elastische Wand von außen her durchbrechenden Stämmchen gespeist werden. Im obliterierenden Gewebe ist das Lumen nur noch in Form mehrerer kleiner Spalten sichtbar. Hinzugefügt mag werden, daß in diesem Ge-

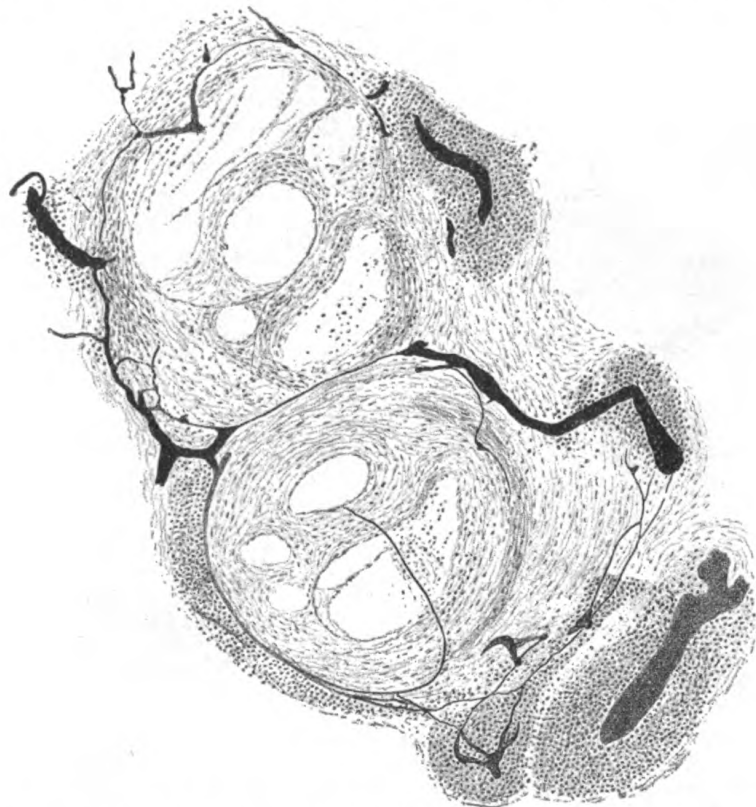


Fig. 6. Lymphgefäß mit dünner Muscularis und jungem endolymphangitischem Gewebe, in welches aus der Perilymphangitis junge Kapillaren hineinsprossen.

webe reichlich Hämosiderin eingeschlossen ist, das wohl auf Blutkörperchen zurückzuführen ist, die durch Diapedese oder durch Zugrundegehen einzelner Kapillaren in die Gewebsspalten gelangt sind.

Von besonderem Interesse ist es, das Verhalten der Spirochäten in den Gewebsspalten zu verfolgen, wo sie vom Massiv der Sklerose strahlenförmig nach der Peripherie ausschwärmen. Oben wurde bereits auseinandergesetzt, daß dort, wo das Massiv der Sklerose am dichtesten ist, die Spirochäten fehlen, daß man sie allenfalls noch in den Lymphgefäßen und venösen Stämmchen findet, welche durch die Zirkulationsverhältnisse im Zustande der Stauung sich befinden. Diese wird durch das übermäßige Infiltrat erzeugt. Den Mechanismus derselben habe ich anderwärts auseinandergesetzt. Im Gegensatz hierzu finden wir da, wo

das Infiltrat in das umgebende Gewebe radienförmig ausstrahlt, wie schon ausgeführt wurde, die größte Menge der Spirochäten. Hier sind in dem nicht infiltrierten Bindegewebe ungemein dicht gelagerte Massen von Spirochäten; im Detail betrachtet, liegen sie bald einzeln und lose, bald zu Zöpfen vereinigt oder sie bilden einen dichten Filz zwischen den Bindegewebsbündeln, sowie innerhalb derselben zwischen den Fasern. Auf dem Querschnitt erscheinen sie als Punkte (Blaschko). Im großen und ganzen folgen sie dem Verlauf des Bindegewebes, nach dem sich auch die Lymphgefäße, die Venen, die Muskel- und Nervenbündel mit den Paccinischen Körperchen, mithin auch die sich ihnen anschließenden

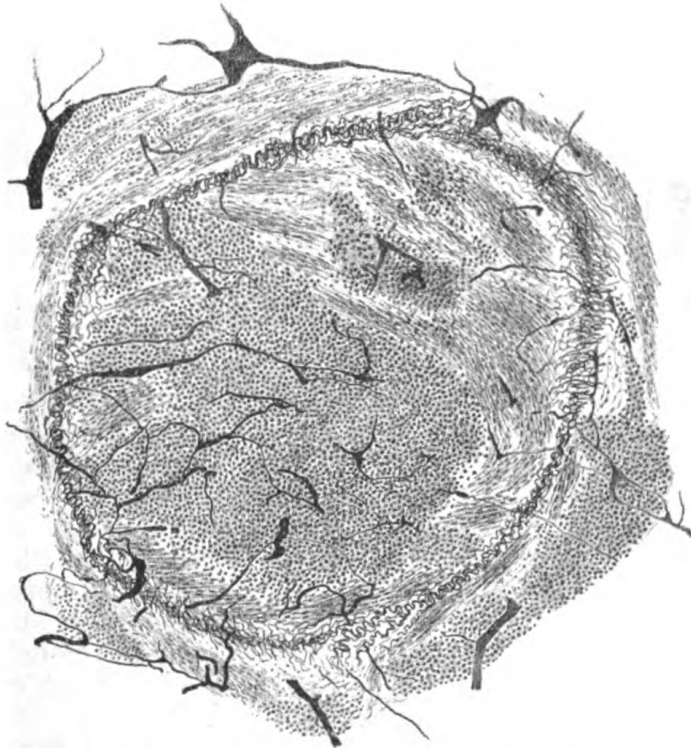


Fig. 7. Endolymphangitisches Gewebe, das ganze Lumen bis auf kleine Spalten obliterierend, teils aus infiltriertem, teils jungem faserigen, kollagenem Gewebe bestehend, umschlossen von einem Korb elastischer Fasern, versorgt von Blutkapillaren, die aus der Perilymphangitis hineinbrechen. In der Endolymphangitis außerdem reichliche Hämosiderinhaufen aus zu Grunde gegangenen jungen Kapillaren. Vergrößerung Reichert 4, Okular 2.

Infiltratskolonnen richten. Im Längsschnitt der kollagenen Bündel sind sie meistens parallel zu den Fasern angeordnet und ebenso oder fast so reichlich wie die Fasern selbst, ein Befund, der auch für die kongenitale Syphilis wiederholt erhoben wurde, unter anderem auch von Versé (Fig. 1 u. 2).

Die die Infiltratskolonnen reichlich durchsetzenden neuen Kapillaren schicken wieder neue Gefäßsprossen in das zwar von Spirochäten durchsetzte, aber noch nicht von Leukocyten infiltrierte Gewebe. Die Mikroben liegen in einem dichten Filz um die neugebildeten Kapillaren, und von Stelle zu Stelle, entsprechend einem Spirochätenbüschel, schicken dann die Kapillarwände neue konische, nur zum Teil ausgehöhlte Sprossen noch weiter hinaus, an denen dann noch vereinzelt Spirochäten liegen.

An den größeren neugebildeten Kapillaren findet man auch schon einzelne Leukocyten im Gewebe oder teils von außen, teils von innen der Wand anliegend, stellenweise in dem Moment fixiert, wo sie mit einem Teile ihres Leibes durch die Gefäßwand durchtreten. Diesem bakteriologischen Befunde entspricht der histologische Befund, welchen ich an den Injektionspräparaten erhoben, und auch die Deutung, die ich ihm gegeben habe. Ich will sie am Schlusse des Artikels weiter ausführen.

Die Spirochäten legen sich auch dicht an die eingangs erwähnten



Fig. 8. Ein infarziertes Lymphgefäßstück am Zusammenfluß zweier Aeste. Man sieht mononukleare und polymorphkernige Leukocyten das Lumen ausfüllen. Spirochäten teils dem Lymphgefäß folgend, teils ins Innere eintretend. Vergrößerung Zeiss  $\frac{1}{12}$ , Okular 12.

vergrößerten mehrkernigen Fibroblasten, von denen sie in der später zu beschreibenden Weise als von Phagocyten angenommen und verarbeitet werden.

In den Bindegewebsspalten liegen bekanntlich auch die Anfänge des Lymphgefäßsystems, in dessen größeren bereits allseitig geschlossenen Röhren wir die Spirochäten in ihren Beziehungen zu denselben kennen gelernt haben. Während nun die Anfänge des Lymphgefäßsystems im normalen Zustande der Beobachtung entgehen, machen sie sich hier vielfach durch eine Veränderung bemerkbar, welche ich in früheren Arbeiten als Infarzierung mit Leukocyten bezeichnet habe. Man findet nämlich



sowohl im nicht infiltrierten Gewebe als in den Infiltrationskolonnen und Massen einfache sowie verzweigte, aus dichtgedrängten Leukocyten bestehende strangförmige Ausgüsse röhrenförmiger Hohlräume, zuweilen auch baumförmig verzweigt, die in ihren gröberen Aesten vollständig mit Endothel überzogen sind, so daß man die endotheliale Auskleidung des Rohres von der sie erfüllenden Leukocytenmasse genau unterscheiden kann (Fig. 9). An den kleinsten jedoch ist das Endothel stellenweise nicht zu finden oder wenigstens von den den Raum ausfüllenden Leukocyten schwer zu scheiden. Wo die Endothelzellen zu finden sind, sind sie angeschwollen, so daß sie einem kubischen Epithel ähnlich sehen. Ausgüsse solcher Räume fand ich nicht bloß, wie erwähnt, mitten im nicht infiltrierten Gewebe, sondern auch in der Achse von Infiltratskolonnen, dann in den Infiltratsmänteln und -knoten der großen Lymphgefäße. Ich sah, wie sie, die äußere elastische Begrenzungs- membran der größeren Lymphgefäße durchbrechend, eine Strecke lang im gewucherten intimalen Gewebe der letzteren weiter verlaufen, um schließlich in das Lumen auszumünden. Ich fand sie auch in den Lymphsträngen und in Lymphdrüsen der primären und sekundären Periode. In den infarzierten Lymphgefäßen findet man Spirochäten, und zwar an manchen Präparaten vorwiegend in den kleinen. Man sieht, wie sie aus dem umgebenden Gewebe zwischen den Endothelzellen hindurch in die infarzierende Leukocytenmasse hineinreichen (Fig. 8) und auch in der letzteren selbst. In den größeren findet man hingegen Bilder von Phago- cytose in den Leukocyten des Inhalts und in den Endothelzellen, an manchen Präparaten auch reichlich typische Spirochäten (Fig. 3).

Die Leukocyteninfarkte habe ich auf den Dermatologenkongressen in Sarajewo, Karlsbad (Naturforscherversammlung), in der Wiener dermatologischen Gesellschaft demonstriert und in zwei Arbeiten im Archiv für Dermatologie auch beschrieben. Ich habe sie dort als Schutzvorrich-

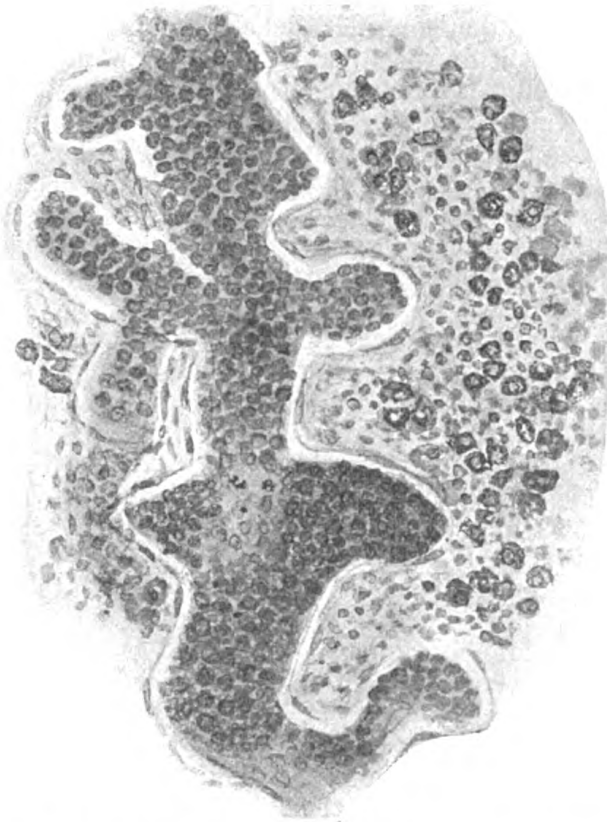


Fig. 9. Ein infarziertes Lymphgefäß mit einmündenden kleineren Aesten, Färbung mit polychromem Methylenblau. Man sieht darin Chromatinkügelchen und in der Umgebung Ulnasche Plasmazellen neben Leukocyten. Sklerosiertes Praeputium. Alkoholpräparat. Vergrößerung Reichert 8, Okular 3.

tungen gegen das Vordringen des Virus angesprochen, wie es sich zeigt, nicht mit Unrecht. Wenigstens spricht der Umstand dafür, daß in dem kleinsten derselben wohlerhaltene Spirochäten, in den größeren dagegen reichlich Phagocytosen vorkommen.

Noch darauf möchte ich hinweisen, daß man in den Ausgüssen Chromatinkugeln findet, die wahrscheinlich bei Zellteilungsprozessen ausgestoßen wurden. Darauf möchte ich nur angesichts der Funde von Winkler und Siegel aufmerksam machen (Fig. 9).

Auf die in den Lymphsträngen und später auch noch im indurativen Oedem, welches ja in einer ausgedehnten kapillaren Lymphangitis syphilitica besteht, und dann in den Bindegewebsbalken der Lymphdrüsen, sowie in den oberflächlichen Lymphbahnen derselben gefundenen deformierten Spirochäten will ich hier bloß hingewiesen haben, da ich ihnen eine eigene Abhandlung widmen will.

Nebst den Lymphbahnen zeigen die Venen hier und da Veränderungen, die Infiltratskolonnen streichen bis dicht an die Muscularis und auch ihre Wand zeigt allerdings erst in späteren Stadien, welche der Involution der Sklerose unmittelbar vorausgehen, ein Durchsetzsein von Wanderzellen mit Auseinanderdrängung von Muskelfasern, Wucherung der Intima, doch nie so häufig und nie so intensiv wie bei den Lymphgefäßen.

Der Unterschied zwischen Venen und Lymphgefäßen ist immer festzustellen durch das Vorhandensein einer größeren oder geringeren Zahl von roten Blutkörperchen im Lumen und durch die parallel angeordneten Wände der Venen, sowie durch das Vorhandensein von glatten Muskelfasern selbst bei verhältnismäßig kleinen Venen. Die Lymphgefäße hingegen zeigen Windungen und Ausbuchtungen ähnlich dem Haustra des Darmes und haben erst eine Muscularis, wenn sie schon ein sehr großes Kaliber erreicht haben. Allerdings muß man beachten, daß vereinzelt Blutkörperchen auch aus den zarten Blutgefäßen der Endolymphangitis, die oft direkt unter dem Endothel der Lymphgefäße liegen, in deren Lumen hineingelangen können, sei es durch Diapedese, sei es durch den mechanischen Druck, der bei Excision des Objektes auf das Gewebe ausgeübt wurde.

Infarzierte Lymphgefäße mit Spirochäten ziehen nicht selten entlang der Nervenstämmen und Paccinischen Nervenendkörperchen. Auf meinen Injektionspräparaten zeigt sich oft ein infarziertes Lymphgefäß mit eingeschlossen in das Infiltrat, welches die Nerven umgibt (Fig. 10) und, wie alle Infiltratmäntel, von einem neugebildeten Netz von Kapillaren



Fig. 10. Infarziertes Lymphgefäß in einer Infiltratskolonne, welche auch ein Nervenstämmchen einhüllt, mit neugebildeten Blutkapillaren. Injektionspräparat eines sklerosierten Praeputiums, aus dem subkutanen Gewebe. Vergrößerung Reichert 4, Okular 3.

durchzogen ist. Auf *Levaditi*-Präparaten sah ich Spirochäten nicht bloß in diesem Infiltratmantel, sondern auch in dem noch nicht infiltrierten, den Nerv begleitenden Bindegewebe in der „blättrigen Scheide“ des Nerven, in dem Lymphraum zwischen Nervenbündel und „blättriger Scheide“ frei und im Endoneurium zwischen den einzelnen Nervenfasern in großer Zahl, teils parallel zu ihnen, teils schräg, teils geschlungen zu ihrem Verlauf. Auf den Schnittserien konnte man beispielsweise ein Blatt der blättrigen Scheide tangential in einem Schnitt auf weite Strecken dargestellt sehen als gebogene Membran von Spirochäten durchzogen, welche letztere in reichlichem Maße an zum Verlauf der Nerven zirkulären Touren zwischen den Zirkulärfasern dieser Scheide angeordnet waren. Freiliegende Exemplare, die in dem Lymphraum liegen, zeigen nirgends eine Verbindung mit Nervenfasern. Die Spirochäten, welche im Nerven selbst mehr oder weniger senkrecht zum Nervenverlauf standen, waren nicht etwa, wie Saling meint, Trugbilder, welche von einem sich abzweigenden Nervenstämmchen herrührten; man konnte sich vielmehr beim Handhaben der Mikrometerschraube überzeugen, daß solche quer oder schräg liegende Spirochäten über und unter den gestreckt und parallel verlaufenden Nervenfasern in verschiedenen Ebenen liegen, wodurch allein die Annahme Salings hinfällig wird — ganz abgesehen davon, daß auf Serienschnitten ein solches Vorkommnis, wie es Saling annimmt, der Beobachtung nicht entgehen könnte<sup>1)</sup>).

#### Ueber Phagocytose.

Die Aufnahme von *Spirochaetae pallidae* in lebende Zellen mit dem Erfolge, daß dadurch die Spirochäte einem Destruktionsprozesse unterliegt, ist bei der Syphilis namentlich von *Levaditi* an Leberzellen und in den Zellen der Nebennieren syphilitischer Früchte beobachtet worden. Sie ist nicht identisch mit dem von *Bandi* und *Simonelli* angenommenen Zellparasitismus, bei welchem die Mikroben umgekehrt auf Kosten der Zelle leben und die Zelle destruieren sollen.

Bei erworbener Syphilis, und zwar im Initialaffekt, habe ich zuerst die Phagocytose der Spirochäten an den Bindegewebszellen beschrieben, und seither bin ich in der Lage, über Beobachtungen auch in Sekundäraffekten, namentlich aber auch über die Rolle der Endo- und Perithelien der Gefäße bei der Phagocytose zu berichten.

In den peripheren und periphersten Partien der Initialsklerose fand ich bei 2 von 7 darauf untersuchten Fällen, die typischen positiven Spirochätenbefund zeigten, sehr reichlich, in einer nur spärlich entwickelt, Erscheinungen, die ich im folgenden beschreiben will. Wie oben schon ausgeführt wurde, findet man vergrößerte und mehrkernige Fibroblasten im mäßig oder gar nicht infiltriertem Gewebe. An die Fortsätze und an den Zelleib der angeschwollenen Fibroblasten findet man Spirochäten direkt angelegt, bald in ihrer ganzen Länge, bald nur mit einem Teil derselben. Dann findet man solche Bilder, welche zeigen,

1) Ich hätte allerdings geglaubt, daß man gegen den Vorwurf eines so groben Irrtums eigentlich gefeit wäre, wenn man 30 Jahre histologischer Arbeit, nicht bloß auf dem Gebiete der Hauthistologie, sondern auch auf dem aller Organsysteme und Tierklassen hinter sich hat. Im Uebrigen bemerke ich, daß meine Präparate sich nicht bloß in den Händen namhafter Dermatologen, sondern auch Pathologen und Neuropathologen befinden, z. B. *Obersteiners*, daß mir von keiner Seite gegen die Richtigkeit meines Befundes Einwände erhoben wurden. Ich habe seither auch noch aus anderen Sklerosen mich von der Richtigkeit derselben überzeugen können.

daß die Spirochäten zum Teil in das Protoplasma aufgenommen sind, während sie mit dem anderen Teil ihrer Länge außerhalb desselben liegen. Die intracellulär gelegene Strecke zeigt zwar noch deutlich die Windungen, aber der Kontur ist weniger glatt und weniger scharf (Fig. 11 a, b, c, 13). In der Regel liegt eine größere Anzahl von Spirochäten, 3—5 einer Zelle an, und zwar bald an einer Stelle des Zelleibes oder an benachbarten Stellen, bald an verschiedenen einander entgegengesetzten Punkten der Zellperipherie (Fig. 11 b, Taf.). Dann finden wir Bilder, bei welchen man im Zelleibe selbst Büschel von schwarz gefärbten fadenförmigen Gebilden auftreten sieht, deren Richtung von

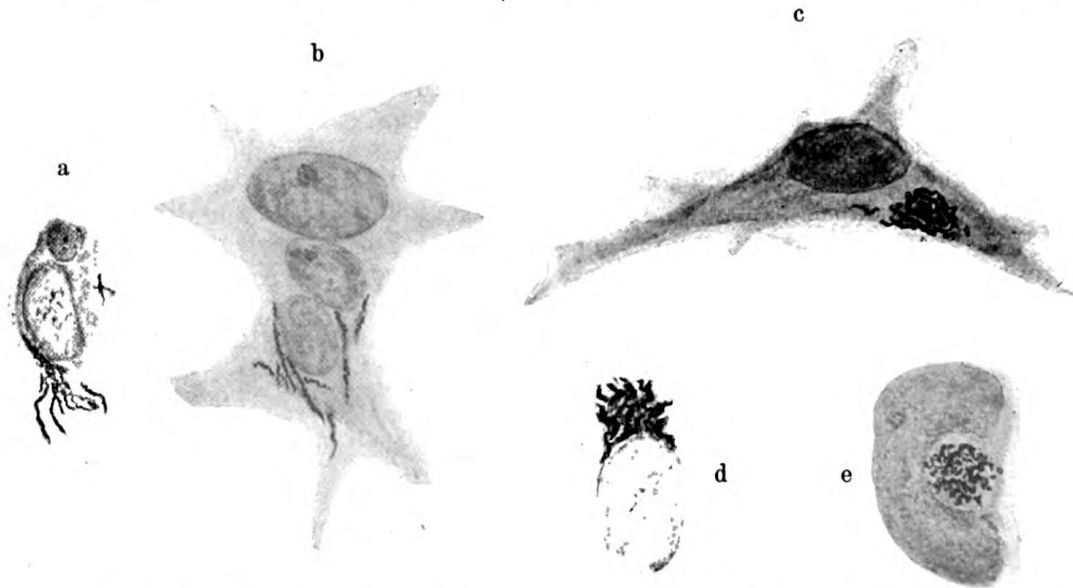


Fig. 11. Phagocytosen aus der Initialsklerose. a, b, c, d Bindegewebszellen. e Leukocyt aus dem Gewebe. Vergrößerung Zeiss  $\frac{1}{12}$ , Okular 18 bei künstlicher Beleuchtung.

der Peripherie zur Kernmembran verläuft, so daß ihre zentralen Enden in einer gegen den Kern konkaven Fläche aufhören (Fig. 1, 2, 11 c, d, 14). In den meisten Fällen liegen die zentralen Enden knapp an der Kernmembran, so daß die erwähnte Fläche, in der man sich die Enden der Fäden denken muß, konzentrisch zu dieser liegt. Die peripheren Enden sind meistens gegen die Basis eines Zellfortsatzes gerichtet. Die Gebilde sind gewunden, aber in mehr unregelmäßiger Weise, das gilt namentlich von denjenigen, welche keine scharfe Begrenzung mehr haben, deren Ränder mehr krümelig sind und deren schwarze Färbung einen rötlichen Stich aufweist. Zum Teil zeigen sie aber noch ganz regelmäßige Windungen wie echte Spirochäten. Diese haben noch eine leidlich scharfe Begrenzung und sind fast ganz schwarz gefärbt. Dann finden wir solche, bei welchen ein Teil ihrer Länge aus Körnchen besteht, und solche, die ganz aus feinsten Körnchen zu bestehen scheinen, und schließlich finden wir auch noch lose Körnchen teils zwischen den obenerwähnten Gebilden zerstreut, in anderen Zellen aber nur solche Körnchen und Krümelchen allein in dem betreffenden analogen Teil des Zelleibes, wo sonst die Fäden liegen. Der Ton jener Partie des Zelleibes, welche die Büschel zusammenhält, ist rötlich. Der Büschel hängt etwa wie ein

Kometenschweif am Kern (Fig. 11, 13, Taf.). Wird dieser Schweif quer getroffen, dann haben wir nicht eine längliche Figur, sondern eine runde Zeichnung, die aus kurzen, vielfach geschlungenen fadenförmigen Gebilden besteht, nämlich den Querschnitt des Bündels, der eine große Ähnlichkeit mit der Zeichnung eines Zellkernes im Stadium des lockeren Knäuels zeigt, wenn derselbe sich zur mitotischen Teilung anschickt. Trifft der Schnitt die Zelle bezw. den Büschel in seiner Hohlfläche, in welcher die Endpunkte der Fäden den Kern umgeben, dann hat es den Anschein, als ob der Kern von einem vollständigen oder unvollständigen Kranz von schwarzen und rötlich-schwarzen Punkten und Linien umgeben wäre.



Fig. 12.



Fig. 13.

Fig. 12. Sklerose. Größeres Kapillargefäß vor dem Uebergang in das venöse Stämmchen. Man sieht Leukocyten den Endothelien von innen und außen angelagert, dann Phagocytosen in den Endothelzellen und in den Leukocyten der Umgebung. Vergrößerung Zeiss  $\frac{1}{12}$ , Kompensationsokular 8.

Fig. 13. Phagocytose an einer Bindegewebszelle der Sklerose. Vergrößerung Zeiss  $\frac{1}{12}$ , Kompensationsokular 12.

Die vollständige Reihe aller Uebergangsbilder von wirklichen schwarzgefärbten Spirochäten bis zu den Krümelhaufen, sowie von den teilweise extracellulär gelegenen Spirochäten bis zu den völlig intracellulären Bildungen machen es zweifellos, daß es sich hier um die Aufnahme von Spirochäten in die Substanz der angeschwollenen Fibroblasten und den intracellulären Zerfall der ersteren handelt, d. h. um echte Phagocytose<sup>1)</sup>. Der rote Farbenton, welcher sowohl die Längsschnitts- als die Querschnittsbilder der Büschel zusammenhält, sowie die rötliche Farben-

1) In den Zellen der Nebenniere eines luetischen Fötus fand ich dieselben Veränderungen an den intracellulären Spirochäten, aber ich vermißte die Zusammenfassung derselben zu endocellulären Büscheln.

nüance der unregelmäßig gewordenen Fäden selbst zeigt, daß es sich um eine intracelluläre Auflösung der Spirochäten handelt, und daß aus ihnen eine schwach reduzierende oder verdünnte Substanz in das Zellprotoplasma ausgeschieden wird.

Es finden sich ferner zweifellos Phagocytosen in den Leukocyten. Es sind Leukocyten in zweierlei Form, die im Infiltrat Bilder von Phagocytose geben:

Erstens solche, die einen großen runden Kern besitzen und nach Analogie mit gefärbten Präparaten als Lymphocyten zu bezeichnen sind. Im fertigen Infiltrat ist diese Form die überwiegende (Fig. 1, 2, 3, 12).

Eine zweite Form sind Leukocyten mit vielgestaltigem, vielfach (Fig. 3, 11 e) gebuchteten und gekrümmten, häufig halbmondförmig gestalteten Kern, der an Levaditi-Präparaten, namentlich an solchen, die mit polychromem Methylenblau nachgefärbt wurden, stärker gefärbt erscheint und eine gröbere Körnung zeigt. Bei der ersten Form ist die Phagocytose analog wie bei einem Fibroblasten an einer umschriebenen, den Kern einseitig umgreifenden Partie des Zelleibes zu sehen.

Bei der zweiten Art sind die Bilder der Phagocytose in jenem Teil des Protoplasmas zu sehen, der die Konkavitäten des Zellkernes ausfüllt (Fig. 3, 11 e). Am häufigsten scheinen sie vom Kern halbmondförmig umgriffen zu sein (Fig. 11 e).

Die Fäden sind hier im Büschel selten so parallel angeordnet wie in den Fibroblasten, sondern mehr unregelmäßig. Dieselben Bilder findet man in den Lymphgefäßen, besonders in den bereits mehrfach erwähnten Infarkten der kleinen Lymphbahnen.

Die Ausgüsse bestehen nämlich überwiegend aus mononukleären Leukocyten mit spärlichen polymorph-nukleären. In den kleinsten Venen, welche durch die obenerwähnten Zirkulationsverhältnisse eine Stauung, und auch an solchen, die eine Wucherung der Intima aufweisen, kann man hier und da Leukocyten, welche die Bilder der Phagocytose darbieten, sehen.

Eine merkwürdige, bisher wenig oder gar nicht beobachtete Tatsache ist die Phagocytose der Spirochäten von Seite der Endothelien. Sie findet sich: 1) In den Endothelien der mittleren und kleinsten Lymphgefäße (Fig. 3). Die Endothelzellen erscheinen angeschwollen und besitzen nahezu die Form eines kubischen Epithels mit abgerundeten distalen Flächen. Zwischen ihnen sieht man typische Spirochäten in die Wand eintreten, und an den dem Lumen zugewandten Zellpolen an einer umschriebenen Stelle ein schwarzes, feines Faden- und Gerüstwerk, das die vollständige Analogie bietet zu den im Lumen der Lymphgefäße und den im perilymphangitischen Infiltrat befindlichen Phagocytosebildern der Leukocyten<sup>1)</sup>.

2) An den kleinsten venösen Stämmchen, die sich unmittelbar aus

1) Ich habe in meinen früheren Arbeiten abgebildet und beschrieben, daß die Lymphgefäße, besonders die größeren Stämmchen des Praeputiums, eine zierliche korb-förmige Hülle von elastischem Gewebe besitzen. Durch dieses treten die Spirochäten hindurch. Bei Färbungen nach Levaditi färbt sich die elastische Hülle braun, in verschiedenen Nüancen, vom zartesten, lichtesten Tabakbraun bis zum dunkelsten Sepia-braun. Ist auch die Unterscheidung der Spirochäten und der elastischen Fasern auch bei der dunkeln Färbung der letzteren sehr wohl möglich, so bezieht sich doch meine Beobachtung nur auf Bilder, wo die Hülle eine lichte Färbungsnüance darbietet, so daß ein Zweifel in dieser Beziehung gar nicht bestehen kann, und dann auf die Bilder, welche die Lymphgefäßinfarkte bieten, die in der Regel nur an Lymphbahnen eintreten, welche noch keine elastische Hülle besitzen.

dem Kapillarnetz entwickeln, oder auch an solchen, die schon eine Schicht von Muskelfasern besitzen und zum Teil von reichlich neuvaskulisierten Infiltratskolonnen begleitet sind. Die Spirochäten sind hier noch in großer Zahl im Lumen, sowie in der Umgebung der Gefäßchen vorhanden, zum Teil sieht man sie quer durch die Wand tretend fixiert und an einzelnen oder an einer größeren Reihe mäßig angeschwollener Endothelzellen, die aber nicht die Form von kubischen Zellen besitzen, dieselben Phagocytosen bilden wie in den Lymphgefäßen. An Schnitten, wo die Gefäßwand tangential getroffen wird und das Endothelhäutchen als eine Fläche abgehoben wurde, zeigt sich seitwärts neben jedem Kern die charakteristische Zeichnung, was ein ungemein zierliches Bild darbietet.

3) Auch an Blutkapillaren findet sich die Zeichnung, aber seltener. Zumeist an jenen, die unmittelbar in die venösen Stämmchen übergehen (Fig. 12). Am seltensten finden sie sich an Arteriolen vor dem Uebergang ins Kapillarnetz oder an solchen, die eine einzige Schicht von glatten Muskelfasern besitzen.

Das Verhalten der Spirochäten und Phagocytosen in den sekundären Effloreszenzen der Haut ist einigermaßen verschieden von dem Primäraffekt, wie ich an einem großmakulösen und pustulösen Syphilid mich überzeugen konnte. Ich fand in ersterem die Spirochäten hauptsächlich in dem subpapillaren Gefäßnetz, spärlicher in den Kapillarschlingen der Papillen. In diesen um so weniger, je mehr man sich der Spitze der Papille nähert. Die meisten Spirochäten waren vielleicht in den abführenden Stämmchen des subpapillaren Kapillarnetzes, etwas weniger in den zuführenden Arteriolen, und zwar sowohl im Lumen, von innen an die Endothelien angeschmiegt, als zwischen den Endothelien durchtretend und außen den Endo- und Perithelien angelagert. Ferner im Gewebe, welches, wie bei diesen Effloreszenzen gewöhnlich, in der Weise verändert war, daß die Bindegewebszellen vergrößert, das kollagene Gewebe um die Gefäße ödematös war und nur spärliche ausgewanderte Leukocyten darin sich vorfanden (Fig. 14, Taf.). Nur in diesem Gewebe fand man typische Spirochäten, und nur die Gefäße, die von solchem Gewebe eingeschlossen waren, zeigten Spirochäten; die Kapillaren der Umgebung, die in normalem Gewebe lagen, zeigten sie nicht. Dasselbe gilt von den ganz deutlichen Phagocytosen (Fig. 14, Taf.). Sie waren spärlich in den Endothelien, reichlicher in den Endothelzellen von außen angelagerten Bindegewebszellen (Perithelien) und am meisten verhältnismäßig in den vergrößerten Fibroblasten



Fig. 14. Aus einem großmakulösen Syphilid. Venöses Blutgefäß, aus dem Kapillarnetz hervorgehend, Phagocytosen im Fibroblasten *F*, Leukocyten *L* in Perithelzellen *P*.

des Gewebes. Ebenso fand man in jedem Sehfelde einige Phagocytosenfiguren in den Leukocyten.

In einem Falle von *Varicella syphilitica*, das ist in einer um eine Follikelmündung lokalisierten pustulösen Effloreszenz mit Eiteransammlung im Hohlraum des Follikels, fanden sich die Spirochäten in den erweiterten Kapillaren des perifollikulären Netzes im Bindegewebe der Cutis rings herum, welches ödematös war und vergrößerte Fibroblasten enthielt, während, unmittelbar an das Epithel anschließend, eine dichte Infiltration von Leukocyten die Follikelaukleidung einschloß. Sowohl in den Fibroblasten als in den Leukocyten fanden sich typische endocelluläre Büschel als Produkt der Phagocytose, im Epithel des Ausführungsganges selbst intakte Spirochäten zwischen den Epithelzellen und in größeren mit Leukocyten erfüllten Hohlräumen, die sich in den Eiterherd im Lumen des Ausführungsganges öffneten.

#### Resumé.

Wenn wir die gefundenen Tatsachen resumieren und den Zusammenhang derselben sowie die Beziehungen der Erreger zum Syphilisprozeß überhaupt deuten wollen, so kommen wir etwa zu folgenden Resultaten:

Die Spirochäten gelangen bei der Infektion entweder direkt oder durch die Interspinalräume der Malpighischen Schicht in die Cutis, woselbst nach längerer Zeit Neubildung von Blutgefäßen und Leukocytenauswanderung zu finden ist. Die zeitlich diesem Zustande vorausgehenden Veränderungen lassen sich erschließen aus der Untersuchung jener Zonen des Initialaffektes, wo die Einwirkung des Krankheitserregers noch eine frischere ist. Der Infiltration geht Anschwellung der Fibroblasten und Neubildung von Kapillaren voraus. Die direkten Beziehungen der Spirochäten zu diesen frischen Veränderungen lassen sich histologisch nachweisen, während in den ältesten Produkten die Spirochäten nicht mehr nachweisbar sind.

Das Verschwinden der Spirochäten läßt sich wenigstens zum großen Teil durch die Phagocytose seitens der Fibroblasten und Leukocyten und auch der Endothelien der kleinsten Blut- und Lymphgefäße, zum Teil durch die Abfuhr derselben auf dem Wege der Lymphspalten, der Lymphgefäße und zu geringem Teil auch der Venen erklären.

Wie man schon aus den anatomischen und klinischen Veränderungen schließen mußte, und wie auch ich es l. c. getan habe, gelangen die Spirochäten zuerst in die Gewebsspalten und wirken von da auf die Gefäße, sowohl auf Blut- als Lymphgefäße. Aus anatomischen Befunden ließ sich auch deduzieren, daß die Spirochäten ihren Weg vorwiegend in die Lymphgefäße und zu geringerem Teil in die kleineren Venen nehmen, denn zu beiden tritt das vaskularisierte Infiltrat in enge Beziehungen und zwar in viel innigere zu den Lymphgefäßen (l. c.). Die Beziehungen zu den Kapillaren ließen sich aus der dem Infiltrat voraus-eilenden Neubildung von Kapillaren und Kapillarsprossen vermuten. Das Eindringen der Spirochäten in das Innere der Kapillaren ließ sich nicht so leicht annehmen. Daß die Spirochäten nicht in die größeren Arterien eindringen, konnte man schon aus dem Verhalten des Infiltrats zu den großen Arterien ersehen, welches in weitem Bogen um die Arterien herumläuft, wie auf den Zeichnungen in meiner ersten Arbeit über die Anatomie der Sklerose zu sehen ist. Die Blutkapillaren, welche dieses Infiltrat durchsetzen, entstammen auch nicht derjenigen Arterie, um welche der Infiltratbogen eben herumläuft, sondern werden von einem weiter peripher



(distal) im Praeputium befindlichen Arterienstämmchen gespeist. Das geht aus den Füllungsverhältnissen bei der Injektion sicher hervor, bezüglich deren ich auf die bereits erwähnte Arbeit verweisen muß.

Die Verhältnisse des Blutdruckes, das ist des Druckes auf die Wand der Gefäße, spielen hier offenbar eine große Rolle. Die in die Kapillaren eindringenden Spirochäten sind verhältnismäßig sehr spärlich und halten sich zumeist an die Wand, was offenbar die Wirkung des in Kapillaren herrschenden positiven Druckes ist, welcher dem Eintreten der Spirochäten entgegenwirkt. Noch höher ist bekanntlich der Blutdruck in den Arterien, und nach den bekannten physikalischen Gesetzen ist er um so größer, je größer die Arterie ist, d. h. je näher der betreffende Punkt zur Herzpumpe gelegen ist. Deshalb findet man in den größeren Arterien keinerlei Spirochäten. Ob noch andere Umstände dabei mitwirken, mag dahingestellt sein. Jedenfalls geht die um den Arterienquerschnitt in weitem Bogen verlaufende Infiltratskolonne nicht von der Arterie aus, sondern von dem Lymphspalt des Bindegewebes, welcher die betreffende Arterie begleitet, in welchem die Spirochäten sich befinden, und ähnlich wie in jedem anderen wirken. Bei den Venen ist dagegen der negative Druck nicht nur kein Hindernis, sondern eher ein begünstigendes Moment für das Eintreten der Spirochäten ins Lumen.

Bei den Lymphbahnen folgen die Spirochäten nur dem Lymphstrom, wenn sie aus den Gewebsspalten durch die Anfänge des Lymphgefäßsystems in die Lymphgefäße gelangen. Auch dem aktiven Eindringen der Spirochäten in die bereits durch Endothelien abgeschlossenen Lymphbahnen bietet der darin herrschende negative Druck eher Vorschub als ein Hindernis.

Wir müssen uns sowohl das Auswachsen der Kapillaren, als auch die Auswanderung der Leukocyten als einen auf chemotaktischen Reizen beruhenden Vorgang vorstellen. Die aus den neugebildeten Blutkapillaren ausgewanderten Leukocyten treten in die Gewebsspalten und in die Lymphbahnen ein, in den letzteren bewirken sie zum Teil die oben beschriebenen Infarkte von Leukocyten, in welchen mit der Zeit Bilder von Phagocytose auftreten, welche beweisen, daß in ihnen eine Art Schutzmittel gegen die Propagation des Virus gegeben ist. Ich fand die Infarkte um so reichlicher, je ausgedehnter die Initialklerose war, am meisten ausgebildet in jenen Fällen, in welchen das ganze Praeputium sklerosiert erschien.

Alle diese Umstände machen es verständlich, daß bei der Sklerose die Veränderungen der Lymphbahnen und Lymphspalten und nur zum Teil auch die der Kapillaren und Venen die anatomischen und klinischen Erscheinungen begründen, während sie beiden sekundären Syphiliden den Gefäßbahnen folgen.

Eine besondere Erörterung erheischen die Veränderungen der Intima und des Endothels. In der Intima der Lymphgefäße erzeugen die von außen eindringenden Spirochäten dieselben Veränderungen, welche sie sonst im Bindegewebe veranlassen, die Vergrößerung und amitotische Teilung der Fibroblasten, also eine Wucherung der Intima mit Bildung von neuen Kapillaren.

Die angeschwollenen Fibroblasten der Intima üben auf die Spirochäten ebenso Phagocytose aus wie die des übrigen Bindegewebes und können durch ihre Proliferation mit der Zeit zu mehr oder minder vollständiger Obliteration des Lymphgefäßes führen. In welchem Verhältnis dieses obliterierende Gewebe zu der Vergrößerung und Wucherung der

Endothelien steht, müßte Gegenstand einer besonderen Untersuchung sein. Ich habe schon in einer früheren Arbeit die Möglichkeit, daß sich Endothelzellen zu Fibroblasten umwandeln, mit denen sie ja gleichen embryologischen Ursprung haben, zugegeben und die Angabe Nobls, daß die Obliteration durch Wucherung der Endothelien entsteht, zum Teil für möglich gehalten. Die Hauptmasse derselben entsteht aber wohl aus der Wucherung des normalerweise vorgebildeten spärlichen intimalen Gewebes.

Die Phagocytose der Endothelien bezieht sich wohl auf die im Lumen befindlichen Spirochäten.

Eine ähnliche Wucherung der Intima, wenngleich viel seltener und in geringerem Maße, ist in den Venen zu finden. Auch hier dürfte die Phagocytose der Endothelien auf die im Lumen selbst befindlichen Spirochäten, die Peri- und Endophlebitis auf die von außen eindringenden zu beziehen sein.

Während demnach die Gefäßveränderungen bei der Initialsklerose wesentlich durch die von außen in die Lymphgefäße und Venen eindringenden Spirochäten hervorgerufen werden, sind die Veränderungen im Sekundärexanthem auf den umgekehrten Weg der Spirochäten zu beziehen.

Die Spirochäten befinden sich hier in der Blutbahn und haben sich so weit vermehrt, daß die Mehrzahl der Arterienverzweigungen in der Haut davon etwas erhalten haben, wenn das Exanthem ein generalisiertes ist, was durch die symmetrische, gleichmäßige und den Spaltrichtungen der Haut folgenden Anordnung des Exanthems dokumentiert wird. Die Veränderungen gehen also hier ursprünglich von den Blutbahnen aus, wogegen sie bei der Sklerose von den Saftbahnen (Bindegewebsspalten und Lymphbahnen) auf die Gefäßwand wirken.

Die Sklerose hängt in ihrer Form wesentlich von den Lymphbahnen, die sekundären Effloreszenzen von den Blutbahnen ab. Aber auch hier manifestiert sich die geringere Intensität des lokalen Prozesses vorwiegend durch Vergrößerung der Fibroblasten und Oedem des von den austretenden Spirochäten befallenen Gewebes. Dabei ist die Leukocytenauswanderung bei der makulösen Form nur gering. Bei intensiveren Veränderungen des Gewebes, d. i. in papulösen und pustulösen Effloreszenzen, ist die Infiltration eine reichliche und auch da findet man häufig, ähnlich wie im Skleroseninfiltrat, wenig Spirochäten. Entsprechend dem Aufsteigen des Prozesses in die Epidermis bei diesen Syphiliden, findet man die Spirochäten zumeist an den Spitzen der Papillen oder überhaupt dicht unter dem Epithel und im Epithel selbst, wohin ihnen die Leukocyten nachfolgen, während sie bei den rein makulösen Formen weiter in den tieferen Teilen des Kapillarnetzes der Papillen zu finden sind. Die Phagocytosen waren auch in den Papeln nur im Stadium der geringeren Intensität des Prozesses nachweisbar, und es ist wohl kein Zufall, daß ich sie gerade beim makulösen Syphilid besonders reichlich in der Cutis gefunden habe. Aus den Fibroblasten scheinen sich die Unnaschen Plasmazellen zu entwickeln, entsprechend der ursprünglichen Annahme Unnas. Wenigstens sah ich an Präparaten, welche mit Unnas polychromem Methylenblau nachgefärbt waren, im ungefärbten Teil des Zellkörpers Krümelchenhaufen, wie ich sie auch an Fibroblasten gesehen habe, als Endprodukt der Phagocytose. Es spricht ferner dafür der Umstand, daß in frischen Prozessen die Plasmazellen den Kapillaren dicht anliegen und wahrscheinlich aus den Perithelien, an welchen ich

ja Phagocytosen gesehen habe, ebenso hervorgehen wie aus anderen Fibroblasten. Auch die Tatsache, daß beim Fortschreiten der Infiltration bei der Sklerose die Plasmazellen immer an der Peripherie der Infiltrate zu finden sind, spricht für diese Annahme.

In der Phagocytose hätten wir also, entsprechend der Lehre Metschnikoffs von der Phagocytose, einen der Faktoren zu sehen, die der Organismus als Schutzwehr gegen die Spirochäten aufstellt. Die Infiltration gehört zu diesem Vorgange, ebenso wie die Leukocyteninfiltration der kleinsten Lymphbahnen, da ja die Leukocyten ebenfalls Phagocyten sind. Und vielleicht beruht die Malignität der Syphilis bei kachektischen Individuen und bei Potatoren auf einer minder ausgebildeten Fähigkeit ihrer Zellen zur Phagocytose<sup>1)</sup>.

### Anhang.

Krankengeschichten mit dem Spirochätenbefund im Auszuge.

Fall 1. J. D., 20 Jahre alt, aufgenommen am 30. April 1906 mit der Diagnose *Sclerosis initialis ulcerosa*. Das Praeputium ist paraphimotisch, am Rande desselben eine schmutzig graugrün belegte, mit rotbraunen harten, knorpeligen Rändern versehene länglich-plattenförmige Sklerose. In der Leiste links ein walnußgroßes Paket rundlicher indolenter Drüsen, rechts einige erbsengroße Drüsen. Exanthem noch nicht sichtbar. Von dem nichterodierten Teil der Randpartie der Sklerose wird ein Stück excidiert, welches bis in die Erosion hineinreicht. Am 5. Mai Eruption eines maculopapulösen Exanthems.

Im Levaditi-Präparat der Sklerose *Spirochaetae pallidae* im peripheren Infiltrat, im Bindegewebe der Umgebung, in Blut- und Lymphgefäßen, sowie in den Nerven des subkutanen Gewebes. Phagocytosen in den Bindegewebszellen, der Endolymphangitis, den Leukocyten, den Endothelien der Blut- und Lymphgefäße.

Fall 2. G. S., 34 Jahre alt, aufgenommen am 8. Mai 1906 mit der Diagnose *Phimosis e sclerosi*. An der linken Seite des phimotischen Praeputiums ist eine circa bohnen große derbe Infiltration zu tasten. Der Rand selbst knorpelhart, exkoriert, zeigt eine sehr dünne Schicht grünlichen Belages und von unten her beginnende Ueberhäutung. Aus dem Infiltrat entwickelt sich ein in der Mitte des Penis tastbarer dicker, rechts und links davon je ein dünnerer, härlicher Strang. Alle drei Stränge verlieren sich allmählich gegen die Wurzel zu. Die Drüsen beiderseits, walnußgroß indolent, kein Exanthem, am 10. Mai Amputation des Praeputiums, am 14. Mai maculöses Exanthem ist sichtbar, im Levaditi-Präparat an der Uebergangsstelle der Erosion in dem überhäuteten Rand findet man Spirochäten im Rete Malpighii unterhalb des dünnen Belages, sowie seitwärts in dem tief ins Gewebe reichenden verlängerten Zapfen des Rete Malpighii der Umgebung. In Blut- und Lymphgefäßen des Papillarkörpers sowie in den infarzierten Lymphgefäßen an einem zweiten Präparat aus der Peripherie Spirochäten auch im Infiltrate, im Bindegewebe, im Nerven des Subkutangewebes und zahlreiche Phagocytosen, im Belage, der sich scharf vom übrigen Epithel abhebt, keine Spirochäten, nur kurze Stäbchen mit abgerundeten Enden (saprophytische Bakterien).

Fall 3. K. S., 25 Jahre alt, auf dem rechten Pol des recht großen Labiums eine circa hellerstückgroße Sklerose, im Zentrum von einem schwärzlich-grünen

1) Der Umstand, daß nur in einem Bruchteile der Fälle die Phagocytose dargestellt wurde, beruht zweifellos nicht immer darauf, daß sie fehlen, sondern daß sie nur durch die uns zur Verfügung stehenden Methoden nicht dargestellt werden. An zwei Blöcken einer und derselben Sklerose, die zu verschiedenen Zeiten gefärbt wurden, war bei völlig gelungener Färbung der Spirochäten die Phagocytose nur auf einem Block, dafür aber reichlich und sehr wohl ausgebildet zu finden. Die Levaditische Methode (die erste hat sich mir am besten bewährt) ist offenbar nicht imstande, die Spirochäten in allen Fällen mit absoluter Sicherheit nachzuweisen, denn gewiß sind viele Mißerfolge, wo sie uns im Stiche läßt, auf die unbekanntenen Bedingungen ihres Gelingens zu beziehen. Man findet nämlich zuweilen blaßgefärbte Spirochäten und deren Nähe fädige Gebilde, die gar nicht gefärbt sind und die man doch nicht gut als einfache Gewebefasern bezeichnen kann. Noch viel weniger sind uns die Bedingungen bekannt, die Phagocytosen mit Sicherheit darzustellen. Ich halte mich aber für berechtigt, da ich sie in 5 Fällen in prächtigster Ausbildung gefunden habe, sie nicht nur für ein allgemeines Vorkommnis zu halten, sondern auch die Verhältnisse an den gelungenen Präparaten als Grundlage für die hier vorgebrachten Ansichten aufzustellen.

Schorf bedeckt. Die peripheren Anteile zeigen intakte Epidermis und braunrote Färbung. Drüsen in der rechten Leiste multipel, haselnußgroß, indolent; links bohngroß, ebenso beschaffen. Nach 4 Wochen erst Exanthem.

Auf Levaditi-Präparaten in der Epidermis, selbst wo sie noch von der Hornschicht gedeckt ist, zahlreiche Spirochäten des Typus *Pallida* in den Epidermishöhlen freiliegend, in den seitwärts befindlichen geröteten Zapfen des Rete Malpighii fast überall im Infiltrat und im peripheren Bindegewebe, besonders viele in den erweiterten Venen und Lymphgefäßen. Phagocytosen im peripheren Infiltrat und Bindegewebe.

Fall 4. W. L., 25 Jahre alt, aufgenommen am 17. Juni 1906, auf dem linken großen Labium in der Mitte ein circa erbsengroßes, mit steilen Rändern versehenes nässendes Geschwür von massig derber Konsistenz, an der Innenseite beider kleinen Labien mehrere flache nässende Geschwüre. In den beiden Leisten multiple indolente haselnußgroße Drüsen. Links längs des Sternocleidomastoideus geschwollene indolente Drüsen.

18. Juni. Excision des Geschwüres vom linken großen Labium.

25. Juni. Sämtliche Geschwüre der Genitalien abgeheilt. Die Tonsillen vergrößert, belegt, doch lassen sich Papeln daselbst nicht mit Sicherheit feststellen.

28. Juni. Die Drüsen daselbst nur wenig noch vergrößert. Auf den seitlichen Partien spärliche Bacillen.

3. Juli. Papeln auf den Tonsillen.

Im Levaditi-Präparat zahlreiche Spirochäten, vorwiegend im Epithel und Papillarkörper.

Fall 5. K. W., 26 Jahre alt, 19. Juni 1906 aufgenommen mit der Diagnose Sclerosis in monte veneris, Transformatio in situ. Auf dem Mons veneris über der Peniswurzel zeigt die Haut folgende Veränderungen: Eine circa kreuzergroße, mit lackartigem Belage versehene, derb sich anfühlende, scharf begrenzte, in der Mitte ausgehöhlte Effloreszenz von braunroter Farbe, umgeben von aneinander gereihten linsengroßen kupferfarbigen, plateauartig elevierten Infiltraten. Die ganze erkrankte Hautpartie hat die Größe und Form eines Hühnereilängsschnittes. Die die Sklerose umgebenden Papeln sind teils schuppig, teils von Krusten bedeckt und nässend und deren Begrenzung eine serpiginäre oder polycyclisch verlaufende Linie. Die zwischen der Sklerose und den Papeln gelegene Hautpartie zeigt außer deutlicher Hyperämie keine makroskopischen Veränderungen. — Primäraffekt mit Transformatio in situ und regionäre Metastasen. Auf dem Thorax und den Extremitäten sowie im Gesicht ein papulo-krustöses Syphilid, breite Kondylome zwischen den Zehen. Die Inguinaldrüsen taubeneigroß.

Auf den Levaditi-Präparaten zeigt sich das Epithel der Sklerose selbst in der Peripherie gewuchert, zahlreich von *Spirochaetae pallidae* in den Interspinalräumen und mit Leukocyten erfüllten Höhlen, in den Gefäßen der Papillenkörpers spärlich. In der unteren Bindegewebsschicht sowie im peripheren Bindegewebe etwas reichlicher, aber doch weniger als sonst.

In den Papeln der gewöhnliche Befund: Spirochäten vorwiegend in der Epidermis, in den Spitzen der Papillen. In den oberen Schichten des speckigen nekrotischen Belages *Spirochaete refringentes*, keine solchen in den gut erhaltenen Epidermisschichten.

Fall 6. O. U., 27 Jahre alt, aufgenommen mit der Diagnose Sclerosis Lymphangitis dorsalis indurativa. Auf der inneren Lamelle des Praeputiums rechts eine knotenförmige leicht erodierte Sklerose. Von dort ziehen dorsalwärts zwei bleistift-dicke Stränge bis zur Symphyse und enden in den Lymphdrüsen der linken Leiste. Die Drüsen taubeneigroß, leicht schmerzhaft, r. walnußgroß, indolent. Auf dem Stamm makulöses Exanthem. Die Sklerose und ein 2 cm langes Stück des Stranges werden exzidiert. Spirochäten finden sich nur in einem Lymphgefäß an der Unterfläche der Sklerose und deformierte Exemplare stellenweise sehr reichlich im Lymphstrang.

Fall 7. T. Marie, 10. Juli aufgenommen mit der Diagnose Oedema indurativum labii maior dextri. Das große Labium auf mehr als das Doppelte vergrößert, von kautschukartiger Konsistenz, braunrot, schuppig. Auf der Innenfläche beider Labien zahlreiche kreisrunde, scharfbegrenzte, linsengroße Papeln. Die Drüsen in der Leiste multipel, indolent, rechts über haselnußgroß, links über erbsengroß, auf dem Stamm und den Extremitäten maculopapulöses Exanthem. Excision an einer Stelle, wo eine nässende flache Papel auf Oedema indurativum sitzt, zum Teil aber die intakte Umgebung betrifft. In dem sich scharf abhebenden Belag *Spirochaetae refringentes* in ganzen Kasen, im erhaltenen Epithel *Spirochaetae pallidae* in den Einschmelzungslücken des Rete.

Fall 8. Sophie Z., am 7. Okt. 1906 aufgenommen mit Oedema indurativum, Schmerzhaftigkeit an den Ansätzen verschiedener Sehnen. Das rechte große Labium ist auf das Doppelte angeschwollen, kautschukartig resistent, nicht druckempfindlich, düster blaurötlich bis bräunlichrot verfärbt, lokale Temperatur nicht erhöht, der Fingerdruck bleibt nicht bestehen, die Epidermis überall intakt, eine Sklerose oder Narbe ist





Fig. I.

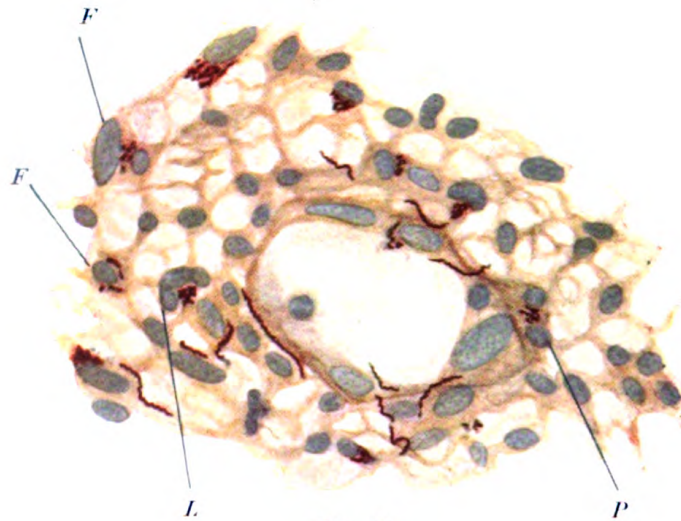


Fig. II.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

nicht zu finden. Die Drüsen in der Leiste rechts walnußgroß, links bohngroß, rundlich. Am 23. Okt. abends Temperatur 38°, Ausbruch eines makulösen Exanthems aus dem Oedema induratum wird vom Rande des großen Labiums excidiert, zahlreiche degenerierte Spirochäten in den Lymphbahnen.

Fall 9. Anna E., aufgenommen am 30. Aug. 1906, seit 3 Tagen Exanthem, die kleinen Labien sind angeschwollen, pergamentartig, bläulich verfärbt, die Drüsen über walnußgroß, indolent. Auf dem Stamm und den unteren Extremitäten ein großes makulöses Exanthem, livid und bräunlich-rot. Am 31. Aug. Excision einer Roseola, 4 Querfinger unterhalb des Angula scapulae. Spirochäten finden sich in den kapillaren und subkapillaren Gefäßen des Stratum reticulare und den Papillen. In den angeschwollenen Bindegewebszellen um die Gefäße und in den Perithelien sowie in spärlichen Leukocyten.

Fall 10. F. G., aufgenommen den 21. Juni 1906. Pat. ist 28 Jahre alt, Schlosser-gehilfe, mäßiger Potator. Keine Zeichen von Skrofulose. Seit 3 Wochen bemerkt Pat. die Affektion des Genitales, seit 6 Tagen das Auftreten des Ausschlages.

Status praesens: Das Praeputium, wallartig verdickt, enthält zu beiden Seiten knorpelartige Verhärtungen. Das Orificium urethrae klaffend, die Labien derb infiltriert, aus der Harnröhre schleimiges Sekret exprimierbar. In inguine beiderseits multipel geschwellte, kleinapfelgroße Drüsen. Auch die Cruraldrüsen angeschwollen. Auf dem Stamm, vielfach an den Follikelmündungen, lokalisierte pustulöse Effloreszenzen, die später eintrocknen und die Form der krustösen Papel annehmen (*Acne syphilitica*).

Auf dem Levaditi-Präparat zeigt sich im Pustelstadium eiteriger Erguß, in dem Ausführungsgang des Follikels ein perifollikuläres Infiltrat mit Oedem des Bindegewebes und Vergrößerung der Fibroblasten. Spirochäten finden sich im Epithel des Ausführungsganges und dem angrenzenden Bindegewebe, in den Gefäßen desselben Phagocytosen, in Fibroblasten und Leukocyten.

#### Literatur.

- 1) Bandi und Simonelli, Münch. med. Wochenschr. 1905.
- 2) Buschke und Fischer, Arch. f. Dermatol. 1906.
- 3) Ehrmann, Zur Pathologie der syphilitischen Initialsklerose des Penis. (Arch. f. Dermatol. 1903.)  
—, Ueber die Peri- und Endolymphangitis syph. (Ibid. 1906.)  
—, Ueber Befunde der Spirochaete pallida in den Nerven des Praeputium bei syphilitischer Initialsklerose. (Deutsche med. Wochenschr. 1906.)  
—, Zur Topographie der Spirochaete pallida in der krustös werdenden Papel. (Derm. Zeitschr. 1906.)  
—, Lymphangitis syphil. (Wien. klin. Wochenschr. 1906.)  
—, Die Phagocytose und die Degenerationsformen der Spirochaete pallida im Primäraffekt und Lymphstrang. [Vorläufige Mitteilung.] (Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 27.)
- 4) Hofmann, Aetiologie der Syphilis. Monographie. 1906.
- 5) Levaditi, L'histologie pathologique de la syphilis héréditaire dans ses rapports avec le „Spirochaete pallida“. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1906.)
- 6) Metschnikoff, Immunitätslehre.
- 7) Paschen, Demonstrationen von Spirochaete pallida in Schnittpräparaten von syphilitischen Organen im Aerztl. Verein Hamburg. 1906 u. 1907.
- 8) Saling, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII, XLIII. 1907.
- 9) Versé, Med. Klinik. 1906.
- 10) Blaschko, Ueber Spirochätenbefunde im syphilitisch erkrankten Gewebe. (Med. Klinik. 1906.)
- 11) Lipschütz, Wien. klin. Wochenschr. 1906.
- 12) Mucha und Scherber, Wien. klin. Wochenschr. 1906.

#### Tafelerklärung.

Fig. I. Phagocytosen in verschiedenen Stadien an den vergrößerten Fibroblasten im wenig infiltrierten Gewebe. Vergrößerung Zeiss  $\frac{1}{18}$ , Kompensationsokular 12.

Fig. II. Makulöses Syphilid. Ein aus dem Kapillarnetz hervorgehendes kleinstes venöses Stämmchen. Spirochäten innen und außen angelagert, im Durchtreten begriffen und in der Peripherie im ödematösen Gewebe. Phagocytosen an den Fibroblasten und an den Leukocyten *F*, sowie an den Perithelien *P*. Letzteres weniger deutlich. Vergrößerung Zeiss  $\frac{1}{12}$ , Kompensationsokular 12.

Nachdruck verboten.

## Ueber das Vorkommen der *Spirochaete pallida* im Gewebe, nebst einigen Bemerkungen über Spirochätenfärbung und die Kernfärbung mit Silber imprägnierter Präparate.

[Aus der Kgl. dermatologischen Universitätsklinik in Breslau (stellvertr.  
Direktor: Privatdozent Dr. Zieler).]

Von Dr. Sh. Dohi aus Tokio, Japan.

Ueber den Nachweis der *Spirochaete pallida* in Gewebsschnitten syphilitischer Organe ist schon eine reichliche Anzahl Arbeiten von verschiedenen Seiten erschienen<sup>1)</sup>. Auch ich habe derartige Untersuchungen bei angeborener Syphilis, sowie Kontrolluntersuchungen bei normalen Geweben vorgenommen. Im Verlaufe dieser Gewebsuntersuchungen habe ich sowohl die für die Färbung der *Spirochaete pallida* angegebenen Methoden (Imprägnierung mit Silbernitrat) als auch die für die versilberten Präparate angegebenen Nachfärbungen geprüft und miteinander verglichen. Die hauptsächlichlichen Methoden sind folgende: Die von Bertarelli und Volpino<sup>2)</sup>, die von Levaditi<sup>3)</sup>, die neue von Levaditi und Manouélian<sup>4)</sup>, sowie die von Sakurane<sup>5)</sup>, der diese letzte insofern modifizierte, als er die Imprägnierung in der Silberlösung ohne Pyridinzusatz bei 37° vornahm und im übrigen sich an die Vorschrift von Levaditi und Manouélian hielt. Das Nähere über diese Methoden siehe bei E. Hoffmann (a. a. O.).

Bei der Vergleichung der erwähnten vier Silbermethoden habe ich folgende Resultate bekommen: Nach der Methode von Bertarelli und Volpino färben sich die Spirochäten weniger braun oder braunschwarz als nach den anderen und ich fand immer eine relativ geringe Zahl von Spirochäten in Geweben, in denen ich vorher zahllose Spirochäten durch andere Methoden nachgewiesen hatte; darum glaube ich, daß sich vielleicht nicht alle Spirochäten nach dieser Methode färben lassen; außerdem scheint mir dieses Verfahren kaum empfehlenswert wegen der unvermeidlichen, reichlichen punktförmigen Silberniederschläge, die das Auffinden einer geringen Menge von Spirochäten erschweren. Das entspricht auch den Erfahrungen anderer Untersucher. Nach meiner Erfahrung gibt die alte Levaditische Methode die besten, schönsten und sichersten Resultate; daher empfehle ich, diese Methode zuerst zu benutzen, wenn man Gewebe auf den Gehalt an Spirochäten untersuchen will. Bei diesem Verfahren muß man als Reduktionsmittel frische Pyrogalluslösung benutzen, weil diese einige Vorteile bietet, wie Entz<sup>6)</sup> nachgewiesen hat. Wenn das Gewebe mit einer frischen Pyrogalluslösung behandelt wird, treten die intensiv schwarz gefärbten Spirochäten sehr deutlich hervor, während das Bindegewebe leicht gelb gefärbt ist. Wird das Gewebe dagegen mit einer schon bräunlichen alten Pyrogalluslösung behandelt, so erscheinen die Spirochäten weniger intensiv schwarz, das Grundgewebe bräunlich gefärbt. Dadurch wird das Auffinden der Spirochäten, besonders wenn nur wenige vorhanden sind, sehr erschwert. Um das Gewebe sicher mit der Silberlösung zu imprägnieren, muß man möglichst dünne Scheiben (1—2 mm dick) verwenden. Für die Uebertragung aus der Silberlösung in die Pyrogalluslösung hielt ich stets zwei Flaschen bereit. Zunächst werden die Stückchen aus dem Silber direkt in die erste übertragen und in dieser gut geschüttelt; dann kommen sie sofort in die andere Flasche. Durch dieses einfache Verfahren kann man die Silberniederschläge größtenteils vermeiden. Die Flaschen

1) Wegen der Literatur sei verwiesen auf das Referat von E. Hoffmann, Die Aetiologie der Syphilis nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse (Verhandl. d. Deutsch. dermatol. Ges. 9. Kongr. Bern 1906).

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906.

3) Compt. rend. soc. biol. 1905. No. 29.

4) Compt. rend. soc. biol. 1906. No. 3.

5) Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXXXII. 1906.

6) Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXXXI. 1906.



mit der Silber- und Pyrogalluslösung müssen natürlich jedesmal mit destilliertem Wasser ganz rein ausgewaschen werden. Dieses alte Färbungsverfahren von Levaditi hat nur den einen Nachteil, daß es ziemlich lange Zeit dauert, bis das Präparat fertig wird. Deshalb haben Levaditi und Manouélian eine neue Methode angegeben, die infolge der Verwendung von Pyridin das Silbernitrat in das Gewebe schnell und sicher eindringen läßt. Zur Beschleunigung der Reduktion werden Pyridin und Aceton mit der Pyrogalluslösung vermischt. Diese neue Methode bewirkt eine bedeutende Zeitersparnis; man kann die Färbung mit ihr in etwa 48 Stunden beenden; doch liefert diese Methode nicht so zuverlässige Ergebnisse wie die alte, wenn auch oft schönere Präparate. Durch die Sakuranese Methode erhielt ich in ebenso kurzer Zeit wie bei der neuen Methode Levaditis meist gleich schöne Bilder wie bei dem alten Verfahren. Doch habe ich den Eindruck, als ob sich bei dem Rapidverfahren leichter reichliche Silberniederschläge entwickelten. Um die *Spirochaete pallida* im Gewebe nachzuweisen, empfehle ich deshalb zunächst immer das alte Verfahren von Levaditi, das schöner und sicherer als die anderen Methoden ist; wenn aber die Untersuchung schnell beendet werden muß, rate ich, das Verfahren von Sakurane anzuwenden.

#### Kernfärbung nach Silberimprägnation.

Eine Kernfärbung der versilberten Präparate kann man anwenden, wenn man die Gewebsstruktur noch deutlicher darstellen will; jedoch kann man die Veränderungen des Gewebes und die Lagebeziehungen zwischen Spirochäten und Gewebsbestandteilen schon ohne besondere Kernfärbung ziemlich gut beurteilen.

Levaditi färbte nach der Entparaffinierung mit Giemsa'scher Lösung oder mit Toluidinblau in konzentrierter wässriger Lösung. Schlimpert<sup>1)</sup> behandelte 3 bis 5 Minuten mit verdünnter Neutralrot- oder Karbolfuchsinlösung (1:20), dann wurde das Präparat nach Neutralrotfärbung gar nicht, bei Karbolfuchsinfärbung etwa eine Minute lang in 1-proz. Essigsäurelösung differenziert, bis die Schnitte gelbrötlichen Ton annehmen, darauf in Alcohol absolutus schnell entwässert und durch Xylol in Balsam übergeführt. Huebschmann<sup>2)</sup> erhielt einigermaßen brauchbare Bilder mit Safranin und sehr gute Resultate mit Thionin in konzentrierter wässriger Lösung. Schindler<sup>3)</sup> sah schöne Uebersichtsbilder mit Brillantgrün extra, d. h. einige Minuten wird mit konzentrierter wässriger Lösung des Farbstoffes gefärbt und leicht mit Wasser abgespült, dann in reinem Aceton oder in Alcohol absolutus differenziert. Außerdem haben einige Autoren nach van Gieson oder mit polychromem Methylenblau gefärbt.

Alle oben beschriebenen Nachfärbungen habe ich an versilberten Präparaten geprüft, und ich fand, daß die Gewebsstruktur wohl besser hervortrat; aber die nachgefärbten Präparate boten nie so schöne Bilder wie die, welche man mit den gewöhnlichen Kernfärbungsmethoden erzielen kann. Man kann sogar sagen, daß bei Geweben, in denen nur wenig Spirochäten vorhanden sind, eine Nachfärbung das Aufsuchen erschwert. Zur genauen histologischen Untersuchung empfohlen Gierke<sup>4)</sup>, Entz und Sakurane u. a., aus der direkten Nachbarschaft des für die Levaditische Methode benutzten Gewebestückes Schnittpräparate anzufertigen und sie nach gewöhnlicher Kernfärbung mit den Silberpräparaten zu vergleichen. Dieses Verfahren ist viel besser als Nachfärbungen der nach Levaditi imprägnierten Schnitte, aber es ist natürlich zum Vergleich weniger geeignet. Denn es ist nicht nur der Reichtum an Spirochäten an benachbarten Stellen durchaus nicht immer der gleiche, auch die histologischen Veränderungen sind oft verschieden. Will man nun diese genauer untersuchen, so ist es deshalb am besten, möglichst den auf das Spirochätenschnittpräparat folgenden Gewebsschnitt zu wählen. Aus diesem Grunde versuchte ich, wie Versé<sup>5)</sup>, versilberte Schnittpräparate zu entsilbern und sie dann wieder mit den gewöhnlichen Kernfärbungsmethoden zu färben. Versé verwendete dazu eine Jodjodkaliumlösung, in welcher er die Präparate einige Zeit stehen ließ, um sie nach kurzem Abspülen in einer konzentrierten Natriumthiosulfatlösung zu entfärben, und er schreibt: „Dasselbe erreicht man (analog dem bei der Photographie gebräuchlichen Verfahren) mit Ferricyankali (10-proz. Solution) und nachfolgender Behandlung mit Natriumthiosulfatlösung (25-proz.) oder auch mit konzentrierter Sublimatlösung allein. In allen Fällen muß man natürlich nachher gründlich auswaschen.“ Meine Versuche, die ich ohne Kenntnis der Arbeit von Versé begonnen hatte, hatten am meisten Erfolg bei der Anwendung des zur Beseitigung von Silberflecken angegebenen Verfahrens. Zunächst werden, wie gewöhnlich,

- 1) Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 26.
- 2) Berliner klin. Wochenschr. 1906. No. 24.
- 3) Siehe Sakuranese Arbeit, Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. LXXXII. 1906.
- 4) Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 9.
- 5) Med. Klinik. 1906. No. 24—26.

Serienschnitte angefertigt oder viele Schnittpräparate von einem Gewebsstücke, das schon mit der alten Levaditischen Methode behandelt wurde. Diese Präparate werden einestheils zur Spirochätenuntersuchung, anderenteils zur histologischen Gewebsuntersuchung verwendet. Ich benutzte zur Entsilberung folgende Methoden:

## I.

- 1) Paraffinschnitte der Silberpräparate in Xylol 10—20 Minuten.
- 2) Einige Minuten in absolutem Alkohol.
- 3) Einige Minuten in Wasser.
- 4) 30 Sekunden bis 1 Minute in der Lugolschen Lösung (Jod 1,0 + Jodkali 2,0 + Aq. dest. 300,0).
- 5) 1—3 Minuten in einer Aetzammonlösung (1—5-proz.).
- 6) Auswaschen in Wasser, dann folgt Kernfärbung.

## II.

- 1—3) Wie oben.
- 4)  $\frac{1}{2}$ —1 Minute in Jodtinktur oder 2—10fach mit Wasser verdünnter Jodtinktur.
- 5) Uebertragen auf 1—3 Minuten in eine Natriumsulfidlösung (5—20-proz.).
- 6) Auswaschen in Alkohol, dann in Wasser.

## III.

- 1—3) Wie oben.
- 4) Uebertragen auf  $\frac{1}{2}$ —1 Minute in Kaliumcyanidlösung (1—5-proz.).
- 5) Auswaschen in Wasser.

Diese drei Verfahren und Versés Verfahren bieten fast gleiche Resultate. Nach der Entsilberung des Präparates habe ich zur Kernfärbung hauptsächlich Hämatoxylin-Eosin verwandt. Bei solchen Präparaten kann man die histologischen Veränderungen viel deutlicher erkennen und beim Vergleich mit den nächstfolgenden Spirochätenpräparaten übersieht man die Beziehungen zwischen den Spirochäten und den Gewebsveränderungen noch besser als bei anderen Methoden. Obgleich man nun fast immer äußerst zahlreiche Parasiten in den Organen mazerierter, syphilitischer Föten findet, lohnen sich diese Fälle weniger für die Entsilberung der Schnitte und nachträgliche Kernfärbung. Dafür sind nicht mazerierte Organe geeigneter.

Im folgenden gebe ich zunächst eine tabellarische Uebersicht der untersuchten Fälle von kongenitaler Syphilis, von denen mir meist nur einzelne Organe zur Verfügung standen. Ich habe auch mehrfache Fälle erworbener Syphilis untersucht. Das Ergebnis stimmt aber so völlig mit den Befunden anderer Autoren überein, daß ich auf eine nähere Besprechung verzichte (s. Tabelle p. 249—251).

Wenn ich nun die Befunde der unten in der Tabelle aufgezählten Fälle zusammenfasse, so sind es folgende: Im ganzen habe ich 18 Fälle von sicherer kongenitaler Syphilis untersucht, unter denen in 15 Fällen die *Spirochaete pallida* aufgefunden wurde. Ein weiterer Fall von mazerierter Totgeburt ohne nachweisbare Syphilis ergab keine Spirochäten (Fall IV).

Die Resultate der Untersuchung gehen aus der Tabelle hervor:

## Leber.

12 positive Befunde unter 15 Untersuchungen. Bemerkenswert war Fall XIX. Hier findet man bei makroskopischer Betrachtung an der Schnittfläche zahlreiche graugelbliche Flecke meist unter Stecknadelkopfgroße, die mikroskopisch aus nicht scharf umschriebenen Anhäufungen von gelapptkernigen Leukocyten bestehen und in der Mitte zum Teil der Koagulationsnekrose anheimgefallen sind. Die im Nekrosebezirk vorhandenen Chromatinerfallprodukte sind im wesentlichen auf zerfallene Leukocyten zurückzuführen. Es sind Veränderungen, wie sie von Guleke<sup>1)</sup>, Kokubo<sup>2)</sup> u. a. beschrieben worden sind, die nicht miliaren Gummen entsprechen, sondern eher den Veränderungen bei Eklampsie gleichen. Dem entspricht auch die zum Teil reichliche Einlagerung von Fibrinmassen in den Nekrosen. Es handelt sich also um ganz frische akute entzündliche Veränderungen, wie sie ja auch

1) Virchows Archiv. Bd. CLXXIII. p. 519.

2) Centralbl. f. allgem. Pathol. etc. 1903. p. 666.

**Tabellarische Uebersicht der untersuchten syphilitischen Fälle.**  
 (In den Tabellen bedeutet + Spirochaete pallida spärlich, ++ Sp. pallida reichlich, +++ Sp. pallida sehr reichlich, ++++ Sp. pallida äußerst zahlreich, — Sp. pallida negativ.)

Fall	Datum der Sektion	Krankengeschichte	Klinische und anatomische Diagnose	Antigenreaktion	Untersuchtes Gewebe	Nachweis der Spirochaete pallida	Histologischer Befund
I	5. VI. 1906	Mazierter Fötus. Ueber Syphilis der Mutter nichts bekannt	Angeborene Syphilis. Osteochondritis syphilitica	+	Leber Lunge Milz Niere Nebenniere Nabelschnur Placenta	++ ++ ++ ++ ++ ++ ++	Starke Mazeration, keine deutlich erkennbaren histologischen Veränderungen Geringe Zellinfiltration der Gefäßwände. Fibrinthromben, herdwaise starke Leukocytenansammlung sowohl unter der Decidua, wie unter dem Amnion.
II	14. VI. 1906	Mazierter Fötus. Syphilis der Mutter nicht bekannt	Angeborene Syphilis. Osteochondritis syphilitica	+	Leber Lunge Niere Nabelschnur	++ ++ ++ ++ ++ ++ (körniger Zerfall d. Sp.)	Stark mazeriert
III	VII. 1906	Mazierter Fötus. Syphilis der Mutter sicher	Angeborene Syphilis	Nicht geprüft	Leber	++ ++ ++ ++ ++ (körniger Zerfall d. Sp.)	Stark mazeriert
IV	10. IX. 1906	Kind. Syphilis der Mutter sicher	Kein Zeichen von Syphilis	Nicht geprüft	Lunge Knochen	— —	Keine histologischen Veränderungen
V	28. IX. 1906	Mazierter Fötus. Syphilis der Mutter sicher	Makroskopisch keine sicheren syphilit. Erscheinungen	+	Leber Lunge Milz Niere	++ ++ ++ ++ ++	Mazeriert, stellenweise geringe Rundzellenanhäufung im bindegewebigen Gerüst
VI	10. X. 1906	Fast ausgetragenes Kind. 8 Tage vor der Geburt abgestorben. Syphilis der Mutter nicht sicher	Angeborene Syphilis. Osteochondritis syphilitica. Milzvergrößerung	+	Leber Lunge Milz Niere	++ ++ ++ ++ ++	Mazeriert Rundzellenvermehrung im Bindegewebe, besonders in der Rinde und in der Kapsel

Fall	Datum der Sektion	Krankengeschichte	Klinische und anatomische Diagnose	Antigenreaktion	Untersuchtes Gewebe	Nachweis der <i>Spirochaete pallida</i>	Histologischer Befund
VII	21. X. 1906	Mazierter Fötus. Syphilis der Mutter sicher	Angeborene Syphilis. Osteochondritis nicht deutlich	Nicht geprüft	Leber Lunge Milz  Niere	++ ++ ++ ++ ++  ++ (körniger Zerfall d. Sp.)	Stark mazeriert  (Geringe Rundzelleneinlagerung im Gerüst) Ohne besondere Veränderungen außer der Mazeration
VIII	21. X. 1906	Mazierter Fötus. Syphilis der Mutter sicher	Angeborene Syphilis. Osteochondritis syphilitica	+	Leber Lunge Milz Niere Nebenniere	++ ++ ++ ++ ++ ++	Hochgradige fettige Degeneration (Ohne besondere Veränderungen) Geringe parenchymatöse Veränderungen, keine im interstitiellen Bindegewebe
IX	1. XI. 1906	Ausgetragenes Kind. 7 Wochen nach der Geburt gestorben an multiplen Abscessen. Syphilis d. Mutter sicher. Infektion vor 8 Jahren	Angeborene Syphilis. Papulo-pustulöses Syphilid (bei der Aufnahme), einige Zeit vor dem Tode abgeheilt	+	Leber Lunge Milz Niere	— — — —	Keine ausgesprochenen pathologischen Veränderungen  Geringe zellige Wucherung im Bindegewebe der Kapsel, besonders unter Keine pathologischen Veränderungen
X	2. XI. 1906	Mazierter Fötus. Syphilis der Mutter unklar	Makroskopisch keine Zeichen von Syphilis	+	Leber Lunge Milz  Niere	++ ++ ++ ++ ++  ++ (körniger Zerfall d. Sp.)  (körniger Zerfall d. Sp.)	Keine ausgesprochenen pathologischen Veränderungen  Geringe zellige Wucherung im Bindegewebe der Kapsel, besonders unter Keine pathologischen Veränderungen
XI	3. XI. 1906	Mazierter Fötus. Ueber Syphilis der Mutter nichts bekannt	Kein sicherer Zeichen von angeborener Syphilis	+	Placenta  Leber Lunge Milz Nebenniere	— — — —	Mazeriert, ohne besondere erkennbare pathologische Veränderungen
XII	13. XI. 1906	Fast ausgetragenes Kind. Ueber Syphilis der Mutter nichts bekannt	Angeborene Syphilis. Osteochondritis syphilitica, Milzvergrößerung	+	Leber Lunge Milz  Placenta	++ ++ ++ ++ ++  ++ (körniger Zerfall d. Sp.)	Stark mazeriert Mäßige Rundzellenansammlung in den Trabekeln Ausgedehnte Fibrinthromben, stellenweise Nekrose und Verkalkung von Zotten

XIII	10. XI. 1906	Mazierter Syphilis der Fötus, nicht bekannt	Osteochondritis und Organveränderungen nicht nachweisbar	+	Leber Lunge Milz Niere Placenta	++ - ++ ++ +	Stark mazeriert Geringe Rundzelleneinlagerung in Gefäßwänden Stellenweise Fibrinthromben, Zottennekrose, sonst keine Veränderungen
XIV	5. XI. 1906	Ausgetragenes Kind, Syphilis der Mutter sicher	Gesund	+	Leber Milz Placenta	- - -	Stark mazeriert, ohne besondere pathologische Veränderungen Starke zellige Infiltration in der Wand der Nabelgefäße und ihrer Verzweigungen, vorwiegend aus gelapptkernigen Leukocyten bestehend
XV	27. XI. 1906	Mazierter Fötus, Syphilis der Mutter unsicher	Angeborene Syphilis, Osteochondritis syphilitica	+	Haut	+	Rundzelleninfiltration der Papillarge-webe, Auflockerung und Aufquellung der Epithelien, Blasenbildung in der Epidermis, meist im Stratum mucosum
XVI	31. I. 1906	Kind, Nach der Geburt gestorben. Syphilis des Vaters sicher. (Aus d. pathol. Inst. zu Köln)	Angeborene Syphilis, Osteochondritis syphilitica, Pemphigus syph., Milzschwellung	Nicht geprüft	Haut	+	Rundzelleninfiltration des Papillarkörpers und Blasenbildung in der Epidermis, teils zwischen Hornschicht und Stratum mucosum, teils im Stratum mucosum
XVII	1901	(Aus dem patholog. Inst. zu Göttingen)	Angeborene Syphilis, Pemphigus syphiliticus	Nicht geprüft	Hautstücke v. vier Pemphigusblasen der Füße	+	Rundzelleninfiltration des Papillarkörpers u. Blasenbildung in der Epidermis Keine besonderen anatomischen Veränderungen Mäßige herdförmige Rundzelleninfiltration in dem Gerüst, besonders unter der Kapsel Herdförmige interstitielle Zellanhäufung in der Kindensubstanz. Thrombophlebitis in einem Ast der Vena renalis Geringe Rundzelleninfiltration der Gefäßwände und deren Umgebung
XVIII	1901	Kind, Nach der Geburt gestorben. Syphilis der Mutter sicher. (A. d. pathol. Inst. zu Göttingen)	Angeborene Syphilis, Pemphigus syphiliticus	Nicht geprüft	Haut Leber Lunge Milz Niere Nabelschnur	++ ++ - - -	Vergl. Text
XIX	20. XII. 1906	Kind, Syphilis der Mutter sicher	Angeborene Syphilis, Abgeheiltes papulöses Syphilit. Tod an Pneumonie	+(sehr schwach)	Leber	+	

sonst bei kongenitaler Syphilis beobachtet worden sind<sup>1)</sup>. In solchen wenig zirkumskripten Zellanhäufungen fand ich nur vereinzelte Spirochäten. In den anderen positiven Fällen war eine zahlreiche Menge von Spirochäten stets nachweisbar und im allgemeinen disseminiert vorhanden. Zu den Fällen III und X machte ich die bemerkenswerte Beobachtung, daß die Spirochäten nicht nur in einzelnen Exemplaren auftraten, sondern sich zu einer dichten Ansammlung vereinigten, die schon bei schwacher Vergrößerung als ein schwarzer Herd ins Auge fiel. Bei stärkerer Vergrößerung erkannte ich am Rande dieses Herdes die Ansammlung der schwarz gefärbten und ganz typisch ausgebildeten Spirochäten und in der Mitte derselben massenhafte, schwach bräunlich gefärbte Fragmente von Spirochäten, die teils zu einer körnigen Masse, teils zu einer mit einigen Windungen versehenen und etwas gequollenen Masse sich verändert hatten. Eine Verwechslung mit nervösen Elementen war völlig ausgeschlossen.

#### Lunge.

7 positive Befunde unter 13 Untersuchungen. Die anatomischen Befunde, auch die Lagerungsverhältnisse der Spirochäten bieten nichts, was von den bekannten Befunden abweicht. Die Spirochäten liegen meist in den Alveolarsepten, dem peribronchialen und perivaskulären Bindegewebe, hauptsächlich parallel mit der Faserrichtung. Einzelne Exemplare findet man in den Alveolen, den Bronchien und in den Gefäßen, nur in einem Präparate bemerkte ich in einer Alveole eine büschelförmige Anhäufung von Spirochäten.

#### Milz.

8 positive Befunde unter 12 Untersuchungen. Die Spirochäten waren in einigen Fällen sehr spärlich und in den anderen äußerst zahlreich vorhanden. Sie fanden sich vorwiegend in den Trabekeln und an den Gefäßen entlang, mitunter im Gefäßlumen und in der Kapsel. Im Pulpagewebe waren sie nur spärlich vorhanden; nur bei reichlicher Anwesenheit sah ich sie herdförmig angeordnet im Pulpagewebe. Auch in der Milz bemerkte ich körnigen Zerfall der Spirochäten in den Fällen VII, X und XII, ähnlich wie bei der Leber.

#### Niere.

8 positive Befunde unter 10 Untersuchungen. In einigen Fällen fand sich eine Rundzellenvermehrung des Bindegewebes, besonders in der Rinde und in der Kapsel. Spirochäten waren überall in großer Menge vorhanden, aber im allgemeinen seltener in der Marksubstanz als in der Rindenzone. In den Fällen II und VIII fand ich dicht aneinander gedrängte, enorm reichliche Spirochäten in der Umgebung der Glomeruli, nämlich an den Bowmanschen Kapseln in ring- oder halbringförmiger Anhäufung; in einem Präparate (Fall II) sah ich auch zerfallene Spirochäten wie bei der Leber. Die Parasiten fanden sich besonders an den Gefäßen entlang, sowohl zwischen den gewundenen als auch den geraden Harnkanälchen, mitunter auch im Harnkanälchen- und Gefäßlumen, sowie in der Kapsel und dem Fettgewebe der Nierenumgebung.

#### Nebenniere.

2 positive Befunde unter 3 Untersuchungen. Histologische Veränderungen fehlten in allen Fällen. Die Spirochäten fanden sich in großer Zahl, besonders in der peripheren Schicht der Rindensubstanz und zwischen der Rinden- und Marksubstanz. In der Mitte der Marksubstanz waren nur wenige Exemplare nachzuweisen.

1) Einen Teil der Leber dieses Falles verdanken wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Geheimrat Ponfick, dem wir auch an dieser Stelle unseren verbindlichsten Dank sagen.

Herr Oberarzt Dr. Harriehausen, der den Fall sezirt hat und über ihn auch aus anderen Gründen noch genauer berichten will, hat weder in Ausstrichen noch in Schnitten der Leber (Kulturen, die von der Leber angelegt wurden, blieben steril) irgendwelche sonstige Mikroorganismen gefunden; dagegen konnte er sowohl in nach Giemsa gefärbten Ausstrichen wie in Schnitten blasse typische Syphilisspirochäten stellenweise sehr reichlich nachweisen, zum Teil im Ausstrich sogar reichlicher als in Schnitten! Andere Organe erwiesen sich völlig frei von Spirochäten, besonders auch die von histologischen Veränderungen freien Nebennieren, die sehr eingehend untersucht worden sind.

Auf eine „Sekundärinfektion“ mit saprophytischen Keimen können also die Veränderungen in der Leber nicht gut bezogen werden. Saprophyten, die von der äußeren Haut eingedrungen wären und zu einer „Spirochätensepsis“ (Saling) geführt hätten, müßten sich sonst in anderen Organen (Nebennieren u. s. w.) ebensogut finden.

Zieler.

**Placenta.**

2 positive Befunde unter 5 Untersuchungen. Ueber die recht geringen histologischen Veränderungen gibt die Tabelle Auskunft. Spirochäten waren nur sehr spärlich vorhanden; nach langem Suchen fand ich die Mikroben in einem Falle (I) in der Membrana chorii und in einem anderen Falle (XIII) in den Chorionzotten, die direkt unter der Membrana chorii lagen.

**Nabelschnur.**

2 positive Befunde unter 3 Untersuchungen. In den mäßig von Rundzellen durchsetzten Wandungen der Nabelarterien konnte ich nur eine sehr geringe Zahl von Spirochäten auffinden.

**Haut.**

3 Untersuchungen, sämtlich positive Befunde. In den Pemphigusblasen fand ich eine mäßige Menge von Spirochäten, desgleichen im Blaseninhalt und den erweiterten Interspinalräumen, sowie in der Subpapillarschicht, besonders an den Gefäßen entlang, mitunter auch im Epithel der Schweißdrüsenausführungsgänge. Ebenso fand ich eine starke Zellinfiltration der Gefäßanordnung entsprechend um Haarbälge, Schweiß- und Talgdrüsen. Spirochäten waren sehr zahlreich vorhanden in den vergrößerten Papillen und den Retezapfen, sowie in den oberen Cutislagen, mitunter zwischen den Zellen der Haarbälge.

Meine Ergebnisse stimmen mit denen der meisten Autoren im wesentlichen überein, weshalb ich auch von einer eingehenderen Schilderung meiner Befunde Abstand genommen habe; wenigstens mit meinem Material habe ich die Erfahrung gemacht, daß die Syphilisspirochäten nicht nur nicht in den inneren Organen gleichmäßig verteilt, sondern im allgemeinen in etwas herdförmiger Anordnung vorhanden sind.

Was die Frage der Lagerung der *Spirochaete pallida* gegenüber den Zellen anlangt, so konnte auch ich die Parasiten vorwiegend extracellulär, nur sehr selten intracellulär nachweisen. Im Bindegewebe fanden sich die Spirochäten meistens zwischen den Bindegewebsfasern, entweder einzeln oder gruppenweise, und zwar in der Richtung der Fasern angeordnet; am häufigsten in der Umgebung kleinerer und größerer Blutgefäße oder Lymphbahnen, die man als eine Prädilektionsstelle bezeichnen könnte. Wenn auch in sehr geringer Menge, so fanden sich doch gelegentlich Exemplare von *Spirochaete pallida* im Lumen der Blutgefäße und häufiger im Pemphigusblaseninhalte. Aus der Tatsache, daß die Parasiten in den Harnkanälchen und den Schweißdrüsenausführungsgängen gefunden wurden, kann man darauf schließen, daß der Harn oder der Schweiß syphilitischer Patienten gelegentlich ebenso infektiös sein kann wie Blut, Lymphe und Eiter.

Im Gewebe zeigte die *Spirochaete pallida* in gut gefärbten Präparaten eine ebenso charakteristische Form wie bei den Ausstrichpräparaten. Die tiefschwarz gefärbten Spirochäten hatten 12–20 ganz regelmäßige, feine, korkzieherartige, steile Windungen und eine Länge von 10–17  $\mu$ ; aber sie erschienen manchmal etwas gestreckt, nicht steil gewunden und bisweilen mit etwas umgeschlagenen Enden; außerdem konnte ich die Spirochäten in verschiedenen Formen entweder nur als schwarze Punkte oder als kurze, etwas gewundene Stäbchen auffinden, je nachdem die Parasiten ganz quer oder schief geschnitten worden waren.

Es ist auch bemerkenswert, daß ich den körnigen Zerfall einer großen Menge von Spirochäten in Leber, Milz und Niere nachweisen konnte, wie Bosc, Doutrelepont, Levaditi (Leber, Niere, Nebenniere u. s. w.), Versé (Darmwand, Leber), Simmonds (Mekonium) u. a. Nach dieser Tatsache scheint es mir, daß die Spirochäten hauptsächlich an den genannten Stellen zu Grunde gehen.

Wenn es auch kaum mehr zweifelhaft sein kann, daß die spezifischen Gewebsveränderungen durch die Wirkung der *Spirochaete pallida* her-

vorgerufen werden, so geht doch die Menge von Parasiten im Gewebe nicht immer streng parallel mit der Intensität der spezifischen Gewebsveränderungen. Das ist aber durchaus nichts Auffälliges, wie uns die Erfahrungen der allgemeinen Pathologie zeigen. Es sei hier nur an die sehr ähnlichen Verhältnisse bei der Tuberkulose erinnert, bei der die Menge der Bacillen durchaus nicht immer der Stärke der pathologischen Veränderungen entspricht. [Vergl. J. Orth<sup>1)</sup>, Diskussion zu den Vorträgen von Blaschko und Benda.] Natürlich befanden sich die Spirochäten meist vorwiegend in den pathologisch veränderten Gewebsabschnitten.

In den inneren Organen von mazerierten syphilitischen Föten konnte ich fast immer eine enorme Menge von Spirochäten auffinden, während sie in den Organen der nicht mazerierten syphilitischen Föten oder Kinder verhältnismäßig seltener vorhanden waren. Aber aus dieser Tatsache kann man nicht darauf schließen, daß die *Spirochaete pallida* wirklich den mazerierenden Einflüssen länger als die Gewebsbestandteile widerstehen kann. Eher scheint es wohl gerechtfertigt, anzunehmen, daß eine postmortale Vermehrung der Spirochäten in den mazerierten Organen syphilitischer Föten stattgefunden haben könne.

Was die Untersuchung auf Syphilisantigen<sup>2)</sup> anlangt, so ist diese in 13 Fällen angestellt worden. Hiervon ergaben 10 eine positive Antigenreaktion bei gleichzeitigem Spirochätennachweise; bei 3 wurden Spirochäten nicht gefunden, davon waren 2 mazeriert, also wohl auch ein Beweis, daß die Syphilisspirochäten nichts mit Mazeration zu tun haben, beim dritten Fall handelte es sich um eine klinisch abgeheilte Erkrankung. Es waren hier also wohl Giftstoffe vorhanden, die durch den Zerfall von Spirochäten bedingt waren, während Spirochäten selbst sich nicht mehr nachweisen ließen. Da aber aus äußeren Gründen (vielfach waren uns nur einzelne Organe überlassen worden) meist nur wenige Organe untersucht werden konnten, so ist das nicht sehr auffallend. Von 3 weiteren Fällen war die Antigenreaktion nicht geprüft

#### Kontrollversuch.

Fall	Datum	Material	Mazerationsbehandlung	Untersuchtes Gewebe	Nachweis der <i>Spirochaete pallida</i>
I	25. VIII. 1906	Normaler Affe	3 Tage im Wasser, dann Formalinhärtung	Leber Lunge Niere	— — —
II	27. VIII. 1906	Normales Kaninchen	Desgl.	Milz Leber Niere	— — —
III	20. IX. 1906	Normales Meer- schweinchen	Desgl.	Leber Niere	— —
IV	24. IX. 1906	Normales Kaninchen	Desgl.	Leber Niere Pankreas	— — —
V		Nicht syphilitisches Kind	Formalinhardtung	Leber Lunge	— —

1) Berliner med. Gesellsch. 6. März 1907; Ref. Berliner klin. Wochenschr. 1907. No. 11. p. 319.

2) Siehe Neisser, Bruck und Schucht, Diagnostische Gewebs- und Blutuntersuchung bei Syphilis. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 48.)



worden. Davon fehlten in einem Falle Spirochäten (Fall IV). Bei den letzten Fällen (XVI—XVIII) handelte es sich um ältere Präparate, von denen nur einzelne Stücke aufgehoben worden waren.

Saling<sup>1)</sup> hat in jüngster Zeit wiederholt die Ansicht vertreten, daß die „Silberspirochäten“ nichts anderes als Nervenfibrillen oder andere Gewebsbestandteile — elastische und kollagene Fasern, Zellgrenzen etc. — seien.

So sagt er: „Sehr gute Resultate erzielte ich auch bei 2 Kaninchen, die erst 3 resp. 4 Tage nach dem Exitus zur Sektion gelangten. Die hier eingetretene Mazeration war also durch Lockerung des Gewebes der Silberimprägnierung sehr förderlich gewesen. Aus demselben Grunde erweisen sich stark mazerierte Gewebe Neugeborener günstiger für den Spirochätennachweis als frisches Leichenmaterial.“ Ich habe nach meiner Anweisung die inneren Organe von Tieren nach dem Tode 3 Tage lang in Wasser gelegt, dann mit Formalin gehärtet und zuletzt nach der alten Levaditischen Methode gefärbt. Dabei konnte ich niemals eine typische „Silberspirochäte“ in den genannten Präparaten, wie Saling und Schulze<sup>2)</sup>, auffinden. Es soll hier nicht weiter darauf eingegangen werden, daß Saling die Begriffe Mazeration (aseptische Autolyse in utero) und Fäulnis (Einlegen in Wasser etc.) durcheinanderwirft. Er vergleicht so Prozesse, die durchaus nichts Gemeinsames haben. Daß auch bei Mazeration ohne Syphilis keine Syphilisspirochäten gefunden werden, hat besonders eingehend Simmonds nachgewiesen. Die Mazeration an sich hat ja mit Syphilis nichts zu tun. Im allgemeinen unterscheiden sich die Nervenfibrillen und andere Gewebsbestandteile durch die nicht steilen und unregelmäßigen Windungen, durch verschiedene Form und Größe, sowie durch den braunen oder braunschwarzen Farbenton von der *Spirochaete pallida*. Natürlich kann man nicht immer in syphilitischen Gewebe die charakteristische Form der Spirochäten auffinden. Wie Buschke und Fischer<sup>3)</sup> betonten, zeigen die Spirochäten bei ihrer aktiven Lokomotion im straffen Bindegewebe häufig ganz abgeflachte Windungen und andererseits zeigten die feinsten Nervenfibrillen durch die Härtung eine der *Spirochaete pallida* sehr ähnliche Form. Deswegen muß man bei der Untersuchung vorsichtig sein, um sicher unterscheiden zu können, ob es sich um Parasiten oder um andere Gewebsbestandteile handelt, besonders in solchen Fällen, in welchen die Parasiten sehr spärlich vorhanden sind oder das Präparat nicht gut gefärbt ist. Wer ein gut gelungenes Präparat mit Silber imprägnierten syphilitischen Gewebes gesehen hat, in dem eine enorme Menge von Spirochäten dicht beisammen vorhanden ist, kann nicht mehr im Zweifel sein, daß die „Silberspirochäten“ gar keine Nervenfibrillen oder andere Gewebsbestandteile, sondern sicher Mikroorganismen sind. Dieser Punkt ist in letzter Zeit von den verschiedensten Seiten so eingehend behandelt worden [Bab<sup>4)</sup>, Beitzke<sup>5)</sup>, Gierke<sup>6)</sup>, Levaditi<sup>7)</sup>, Wolff<sup>8)</sup> etc.], daß sich ein näheres Eingehen auf diese Frage erübrigt. [Vergl. auch

- 1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906.
- 2) Berliner klin. Wochenschr. 1907. No. 37.
- 3) Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXXX. 1906.
- 4) Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 7.
- 5) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907.
- 6) Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 3.
- 7) Ibid. 1906. No. 42.
- 8) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907.

Diskussion zu den Vorträgen von Blaschko und Benda<sup>1)</sup> zur Spirochätenfrage.]

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Neisser, für die gütige Ueberlassung des Materials, sowie Herrn Privatdozenten und Oberarzt Dr. Zieler für die liebenswürdige Unterstützung bei dieser Arbeit meinen besten Dank auszusprechen.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine neue Cestodenform.

Von Dr. Pasquale Mola.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Mit 1 Tafel.

In der Spiralklappe eines großen Fisches, der im Indischen Ozean gefangen, aber noch nicht bestimmt worden ist, fanden sich wenige Exemplare und Bruchstücke von Cestoden, welche einer einzigen Species angehören.

Bei der Feststellung der anatomischen Characteristica dieser Species, deren Organisation bis jetzt noch nicht studiert worden war, bereitete mir der schlechte Konservierungszustand des Materials nicht geringe Schwierigkeiten.

Die Individuen dieser neuen Cestodenform sind 70—80 mm lang; ihre größte Breite beträgt 6—7 mm.

Die Strobila ist fast gleichmäßig breit, nur vorn, wo sich der Hals bildet, ist sie etwas schmaler, hinten dagegen, wo sich die letzten reifen Proglottiden befinden, wird sie etwas breiter (Fig. 1).

Die ganze Oberfläche des Tieres zeigt eine charakteristische Haarlosigkeit.

Der Scolex, der ziemlich lang und ein wenig breiter als der darunterliegende Hals ist, hat eine tetragonale Gestalt; die 4 elliptischen Saugnapfe, deren größere Achse in der Längsrichtung liegt, befinden sich an den 4 Ecken des Scolex, und zwar liegen sie der Mittellinie näher als den Seiten. Sie stellen in der Mitte jeder Oberfläche der Strobila einen ziemlich ausgesprochenen Vorsprung dar. Im ganzen macht er den Eindruck eines facettierten Stockknopfes. An der Spitze des Scolex beobachtet man eine leichte kalottenförmige Erhebung, in deren Mitte sich ein kleiner Saugnapf befindet; dieser ist von einem Kranze kleiner und zahlreicher sichelförmiger Häkchen umgeben, deren Schneide gekrümmt ist und in eine Spitze ausläuft und deren Heft an der Cuticula befestigt ist. Die Spitzen der Häkchen sind nach außen und unten gebogen und ihre Konvexität liegt nach oben. Dieselbe Anordnung und Größe findet sich an allen 4 Saugnäpfen des Scolex wieder (Fig. 2—7).

Der morphologische Wert des 5. Saugnafes an der Spitze und seine besondere Bewaffnung wird Gegenstand weiterer Untersuchungen sein, welche ich in einer besonderen Arbeit zu veröffentlichen beabsichtige. Vorläufig will ich nur bemerken, daß die Bewaffnung des

1) Berliner med. Gesellsch. März 1907; Berliner klin. Wochenschr. 1907. No. 9—12.

5. Saugnapfes an der Spitze wie auch die der anderen Saugnäpfe als ein besonderes mit Rücksicht auf die sonstige Haarlosigkeit des Körpers des Tieres entstandenes Gebilde anzusehen ist. Dasselbe habe ich auch über das Vorkommen der Haken an der Endkuppel des Scolex von *Anchistrocephalus microcephalus* gesagt.

In dem Scolex dieses Cestoden habe ich eine Larve encystiert gefunden, welche aller Wahrscheinlichkeit nach einem Cestoden angehört (Fig. 9).

Auf den Scolex folgt ein ziemlich langer Hals, der anfangs eine gewisse Strecke lang ein wenig eingeschnürt ist, sich dann aber allmählich bis zu dem Punkte verbreitert, wo sich die ersten Andeutungen der Proglottiden bemerkbar machen. Diese erscheinen zunächst in der Gestalt von mehr oder weniger deutlichen Falten, dann treten sie nach und nach klarer hervor und nehmen eine rechtwinklige Form an, wobei die längeren Seiten transversal stehen. Diese Gestalt haben sowohl die reifen Glieder als auch die anderen, bei denen die Geschlechtsorgane kaum angedeutet sind. Die Fig. 1 stellt das Aussehen der Strobila und die Form dar, welche die Proglottiden annehmen.

#### Geschlechtsorgane.

Haben sich die Proglottiden durch einen deutlichen Einschnitt an der Außenseite von einander abgegrenzt, so beginnen die Umrisse der Geschlechtsorgane sichtbar zu werden; den Vorrang in der Reihenfolge haben hierbei die männlichen Geschlechtsorgane, während die weiblichen etwas später folgen.

Die Geschlechtsöffnungen, welche über der Mitte des Proglottidenrandes gelegen sind, sind randständig und unregelmäßig abwechselnd; sie münden am Grunde eines Atrium genitale, und zwar die männliche in der Tiefe und dorsalwärts, die weibliche unmittelbar darüber und ventralwärts (Fig. 3).

Das Atrium öffnet sich nach außen durch eine sehr enge rundliche Öffnung, welche am seitlichen Proglottidenrande durch die dort befindliche Vertiefung bemerkbar wird (Fig. 10).

#### Männliche Geschlechtsorgane.

Die Hoden liegen in einer dorsalen Ebene, ohne in den Bereich der anderen Organe zu kommen; ihre Zahl beträgt in den reifen Proglottiden 50—70; sie verlieren hier durch den gegenseitigen Druck ihre ursprüngliche rundliche Form und nehmen verschiedene Gestalten an.

Die von den Hoden eingenommene Ebene befindet sich in dem Rindenparenchym, und zwar besonders in dem dorsalen Teile zwischen dem Haut- und dem inneren Muskelsacke; seitlich wird sie von den dorsalen Exkretionsgefäßen begrenzt (Fig. 5 u. 14).

Die Hodenmassen differenzieren sich zu der Zeit, wo sich die Proglottiden an der Außenseite ganz deutlich bemerkbar machen; in den jüngsten Proglottiden zeigen sie sich als kleine rundliche, aus runden Zellen bestehende Haufen. In den letzten Proglottiden treten sie uns als zahlreiche Bündel von Spermatozoen entgegen.

Die Ausführungswege nehmen ihren Anfang bei den Hoden; sie halten sich immer in der Dorsalebene der Hoden und fließen untereinander zusammen, bis sie schließlich einen einzigen Gang, das Vas deferens, medial ungefähr in der Mitte der Proglottis, bilden. In fast horizontalem Verlaufe begibt es sich in das Innere, tritt durch die innere

Muskelschicht hindurch, biegt sich bald nach rechts und bald nach links, je nach der Lage des Antrum genitale, und geht mit einer gewissen Zahl angeschwollener und kleiner Schlingen in den Cirrusbeutel. Nach dem Eindringen in den Cirrusbeutel vermindert sich sein Kaliber, das während seines ganzen Verlaufes fast konstant geblieben ist; ganz verwickelt und in zahlreiche Schlingen gewunden, mündet es an der Spitze des Penis.

Ueber die Länge und die Form des Penis kann ich nur wenig sagen, weil ich ihn in keinem meiner Präparate ausgestülpt sehen konnte.

Die verhältnismäßig weite Penistasche nimmt den Penis auf, wenn er eingestülpt ist, und außerdem die zahlreichen Schlingen der Ductus ejaculatorius; ihre Form ist länglich, sackförmig und nach dem Seitenrande der Proglottis hin eingeschnürt (Fig. 10).

### Weibliche Geschlechtsorgane.

Das Ovarium wird von zwei unregelmäßigen, in der Querrichtung länglichen, birnförmigen Massen gebildet; in der Mitte haben sie eine Einziehung, die Ovarialbrücke, welche die beiden unregelmäßig geformten Massen verbindet. Das Ovarium nimmt den zentralen Teil des hinteren Viertels eines jeden Gliedes ein (Fig. 3).

An der Stelle, wo die beiden Massen konvergieren, fast in der Mitte des Verbindungsstranges, bemerkt man eine ringförmige Verdickung, den Ovarialsphinkter, der den Anfang des Eileiters umgibt (Fig. 11 u. 12). Derselbe beschreibt einen Bogen mit medialwärts gerichteter Konkavität und verläuft von links nach rechts. Nachdem sich der Eileiter an seinem Ende etwas eingeschnürt hat, mündet er mit der Vagina in einen einzigen Gang größeren Kalibers und läuft in fast horizontaler Richtung eine kurze Strecke nach links, indem er in ganz kurzer Entfernung von der erwähnten Vereinigung die Mündung der Eiweißdrüse (Dotterstock) aufnimmt (Fig. 11, 12 u. 13).

Alsdann steigt er wieder in einem Bogen empor, dessen Konkavität ebenfalls medialwärts, aber derjenigen des Eileiters entgegengesetzt ist, bis er etwas oberhalb der Ovarialmassen in den geräumigen Uterus mündet. Das Kaliber ist nicht während seines ganzen Verlaufes gleich, sondern wird von seinem Anfange bis zur Vereinigung mit der Vagina etwas kleiner; alsdann wird es wieder stärker und behält seine gleiche Größe bis zur Einmündung in den Uterus bei.

Im letzten Abschnitte des Eileiters bei seiner Mündung in den Uterus bemerkt man eine Zellanhäufung, welche den Ovidukt nach Art einer Hülle umgibt. Die Zellen dieser Umhüllung haben eine nicht gut erkennbare Form, was vielleicht durch den schlechten Konservierungszustand des Materials bedingt ist. Diese Zellenanhäufung wird als Schalendrüsenzellen und der von ihr umschlossene Teil des Oviduktes als Ootyp gedeutet, wenn sich auch eine Vergrößerung des Kalibers des Eileiters nicht erkennen läßt (Fig. 17 u. 19).

Der Uterus hat die Form eines eingedrückten Sackes; er nimmt den ventralen Teil der Proglottis ein, ist jedoch noch in den inneren Muskelsack mit eingeschlossen. Ist er mit Eiern angefüllt, so ragt er etwas auf der ventralen Fläche der Proglottiden hervor. Eine ständige äußere Oeffnung des Uterus habe ich nicht beobachtet, sondern nur einen Einriß der Uteruswände in der Längsrichtung in denjenigen Gliedern, die mit Eiern dicht gefüllt sind. Dieser Einriß ist nur durch die starke Kompression des Uterus bedingt, welche durch die Menge der

Eier und durch die Kontraktion der Längsmuskeln des äußeren Sackes ausgeübt wird; man muß daher den Einriß nur als eine provisorische Oeffnung betrachten, welche den Eiern den Austritt gestatten soll (Fig. 5 u. 6).

Die Vagina entsteht am Grunde der Atriemeinbuchtung, oberhalb der Einmündung des Penis, läuft fast parallel mit dem Cirrusbeutel und geht dann medialwärts und zum Zentrum der Proglottis; dort biegt sie nach unten um und geht fast senkrecht und dorsalwärts bis zum Ovarium, hier biegt sie aber plötzlich nach der ventralen Seite um, indem sie über das Ovarium hinweggeht. An der Umbiegungsstelle bemerkt man eine spindelförmige Anschwellung, das Receptaculum seminis; alsdann mündet sie an der obenerwähnten Stelle (Fig. 5 u. 11).

Der Dotterstock ist eine unpaare sackförmige Masse, welche dorsalwärts in jeder Proglottis und in der Höhe des Ovariums liegt. Mitten in dieser Masse beginnt der Dottergang der Drüse, der einen fast horizontalen S-förmigen Verlauf hat und auf der ventralen Seite und neben dem Ovidukt mündet (Fig. 4, 14, 15 u. 16).

Der in Rede stehende Cestode zeigt außer dem gewöhnlichen Hautmuskelsacke, der aus einer äußeren Ring- und in einer inneren Längsschicht besteht, einen mächtigen inneren Muskelsack, der um so deutlicher wird, je mehr er sich dem Scolex nähert; am Scolex konvergieren die Längsfasern zunächst nach der Basis desselben, von da aus divergieren sie wieder nach allen Richtungen und verlieren sich allmählich zwischen den Fasern des subkutanen Muskelsackes. Nur eine bestimmte Anzahl vereinigt sich zu 5 Bündeln, von denen 4 stärker als das 5. sind und ziehen zu den Saugnäpfen, und zwar besonders zu ihrer dorsalen Fläche (Fig. 8).

Seitlich in jeder Proglottis und mitten in dem inneren Muskelsacke verlaufen parallel in 2 Gruppen die hauptsächlichsten Exkretionsgefäße; in jeder Gruppe hat der vordere (ventrale) Exkretionskanal ein Kaliber, welches dreimal so stark ist als das des hinteren (dorsalen). An dem Berührungspunkte zweier angrenzender Proglottiden wird das Kaliber der Kanäle etwas stärker (Fig. 8).

Die Nervenstränge durchziehen die Strobila an der äußeren Seite der Hauptexkretionsgefäße und in paralleler Richtung mit denselben.

Nach der anatomischen Beschreibung, die ich eben gegeben habe und bei der Besprechung der morphologischen Bedeutung des 5. Saugnäpfes noch geben werde, muß man annehmen, daß dieser Cestode den Typus eines neuen Genus bilden kann, für welches ich nach der charakteristischen Form des Scolex den Namen *Phanobothrium* vorschlage.

Die einzige Species, die zu diesem Genus gehört, werde ich Herrn Prof. F. S. Monticelli von der kgl. Universität zu Neapel als ein kleines Zeichen meiner großen Verehrung widmen. So wird also der neue Cestode die Bezeichnung *Phanobothrium Monticellii* n. g. n. sp. tragen.

Tivoli, Zoologisches Institut, im Januar 1907.

**Literatur.**

1878. v. Linstow, O., Compendium der Helminthologie. Nachtrag (1878—1889). Hannover.
1886. Fritsch, G., Die Parasiten des Zitterwelses. (Sitzungsber. Akad. Wiss. Berlin. Jahrg. 1886. p. 99. 1 Taf.)
1891. Monticelli, F. S., Notizie su di alcune specie di Taenia. (Boll. Soc. dei Naturalisti in Napoli. Ser. I. Vol. V. Anno V. Fasc. II. 1891.)
1896. Riggenschach, E., Das Genus Ichthyotaenia. (Rev. Suisse. T. IV. p. 165. Pbc. 7—10.)
1900. Braun, M., Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreiches. Würmer: Cestoden. Leipzig (1894—1900).
1903. Mola, P., Su di un cestode del Carcharodon Rondeletii. (Arch. Zool. Vol. I. Fasc. 3—4. 1903.)
1906. Mola, P., Osservazioni sul tegumento (ectoderma) dell'Anchistrocephalus microcephalus (Rud.). (Arch. parasitol. Paris. T. X. 1906.)

**Tafelerklärung.**

Allen Figuren gemeinsame Buchstaben.

*ac* Stacheln. *ag* Antrum genitale. *af* Apertura genitalis feminina. *am* Apertura genitalis masculina. *cl* Collector ovaricus. *d* Deferens. *de* Ductus ejaculatorius. *ef* Efferens. *gg* Schalendrüse. *l* Larva. *mc* Musculi circulares. *ml* Musculi longitudinales. *ml<sub>i</sub>* Musculi longitudinales interni. *nl* Nervi longitudinales. *od* Oviductus. *ot* Ootyp ov Ovarium. *p* Penis. *rs* Receptaculum seminis. *sfo* Sphinkter ovarii. *t* Testiculi. *tp* Penistasche. *ut* Uterus. *v* Vagina. *vi* Unpaarer Dottergang. *vg* Dotterstock. *vt* Saugnapfe.

Alle Figuren mit Ausnahme von Fig. 5 sind mit Hilfe des Mikroskops Koristka und des Zeichenapparates von Abbe-Apáthy hergestellt; die Zeichenebene war in der Höhe des Objektisches.

Fig. 1. Gesamtansicht des *Phanobothrium Monticellii* nach einem in Alkohol konservierten Exemplar.

Fig. 2. Scolex desselben, stark vergrößert; von einer Seite gesehen.

Fig. 3. Frontalschnitt durch 2 Proglottiden, Dorsalseite; man sieht die topographischen Verhältnisse der Geschlechtsorgane.

Fig. 4. Querschnitt einer Proglottis, welcher die Dottersäcke und die Mündung des Dotterganges zeigt.

Fig. 5. Schematische Figur, aus sagittalen und transversalen Serienschnitten rekonstruiert, um die gegenseitigen Beziehungen der weiblichen Geschlechtsorgane und die Lage der Hoden zu erläutern.

Fig. 6. Eier aus dem Uterus, stark vergrößert.

Fig. 7. Haken aus dem Hakenkranze der Saugnapfe.

Fig. 8. Querschnitt einer Proglottis, welcher den inneren Muskelsack, die topographische Lage der Nervenstränge und der exkretorischen Längsgefäße erkennen läßt.

Fig. 9. Im Parenchym des Scolex encystierte Larve, Längsschnitt.

Fig. 10. Frontalschnitt einer Proglottis, welcher die Mündung der Vagina in Beziehung zum Penis im Antrum genitale zeigt.

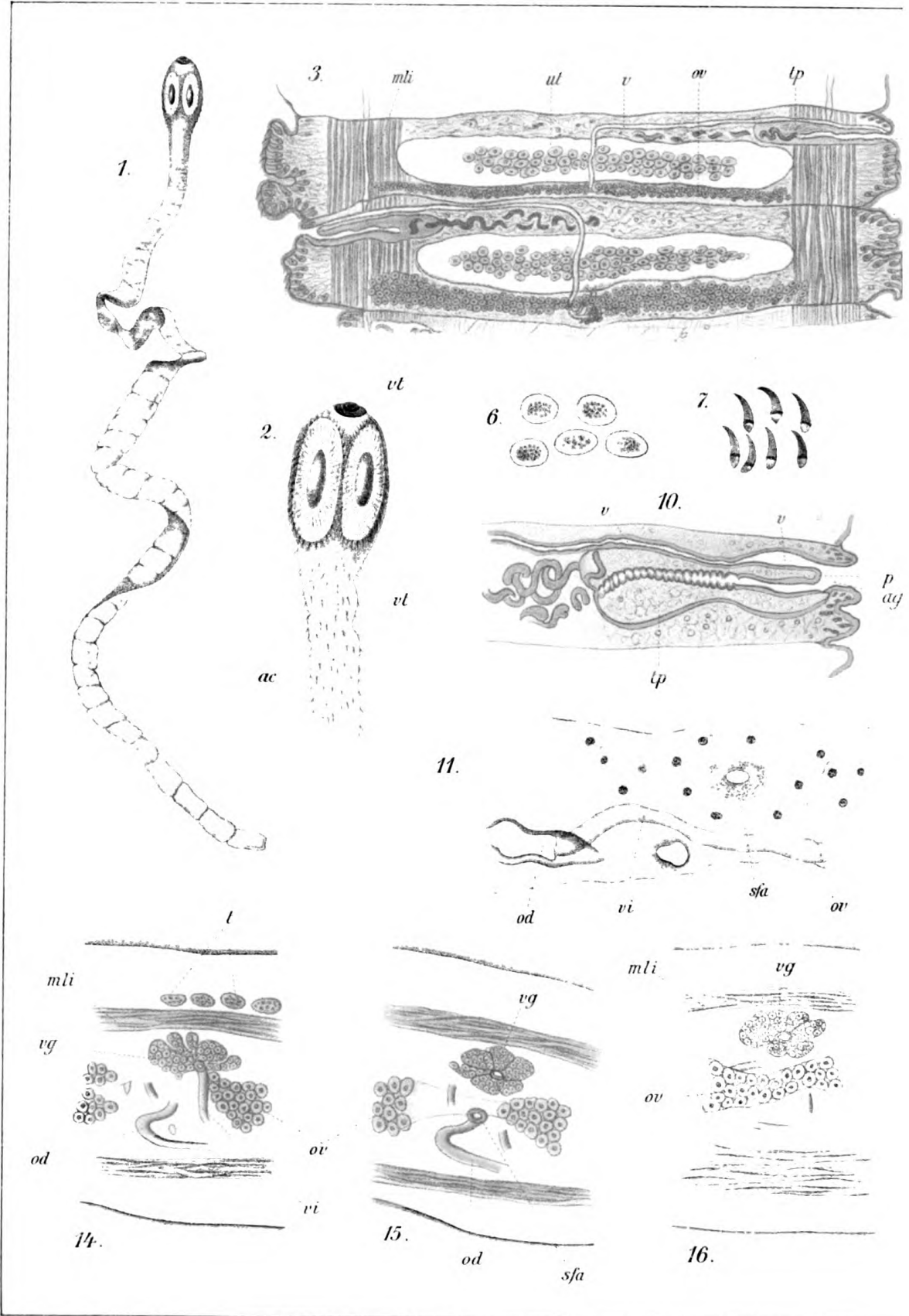
Fig. 11. Frontalschnitt einer Proglottis, auf dem man den Ovarialsphinkter und die Einmündung des Dotterganges in den Ovidukt sieht.

Fig. 12. Frontalschnitt einer Proglottis, auf dem der Ovidukt von seinem Anfange an bis zur Einmündung der Vagina sichtbar ist.

Fig. 13. Frontalschnitt einer Proglottis, auf dem man den Ovidukt, den Dottergang und die Vagina mit dem aufsteigenden Teile des Oviduktes sieht.

Fig. 14—19. Querschnitte einer Proglottis, auf denen folgendes zu erkennen ist: die gegenseitigen Beziehungen der weiblichen Geschlechtsorgane, der Dotterstock mit dem Dottergange, der Ovidukt und die Hoden (Fig. 14), der Ovidukt mit dem Ovarialsphinkter (Fig. 15), die Ovarialbrücke und der Dotterstock (Fig. 16), der von der Schalendrüse umgebene Ovidukt und die Einmündung in den Uterus (Fig. 17), Uterus und Ovarium (Fig. 18 u. 19).

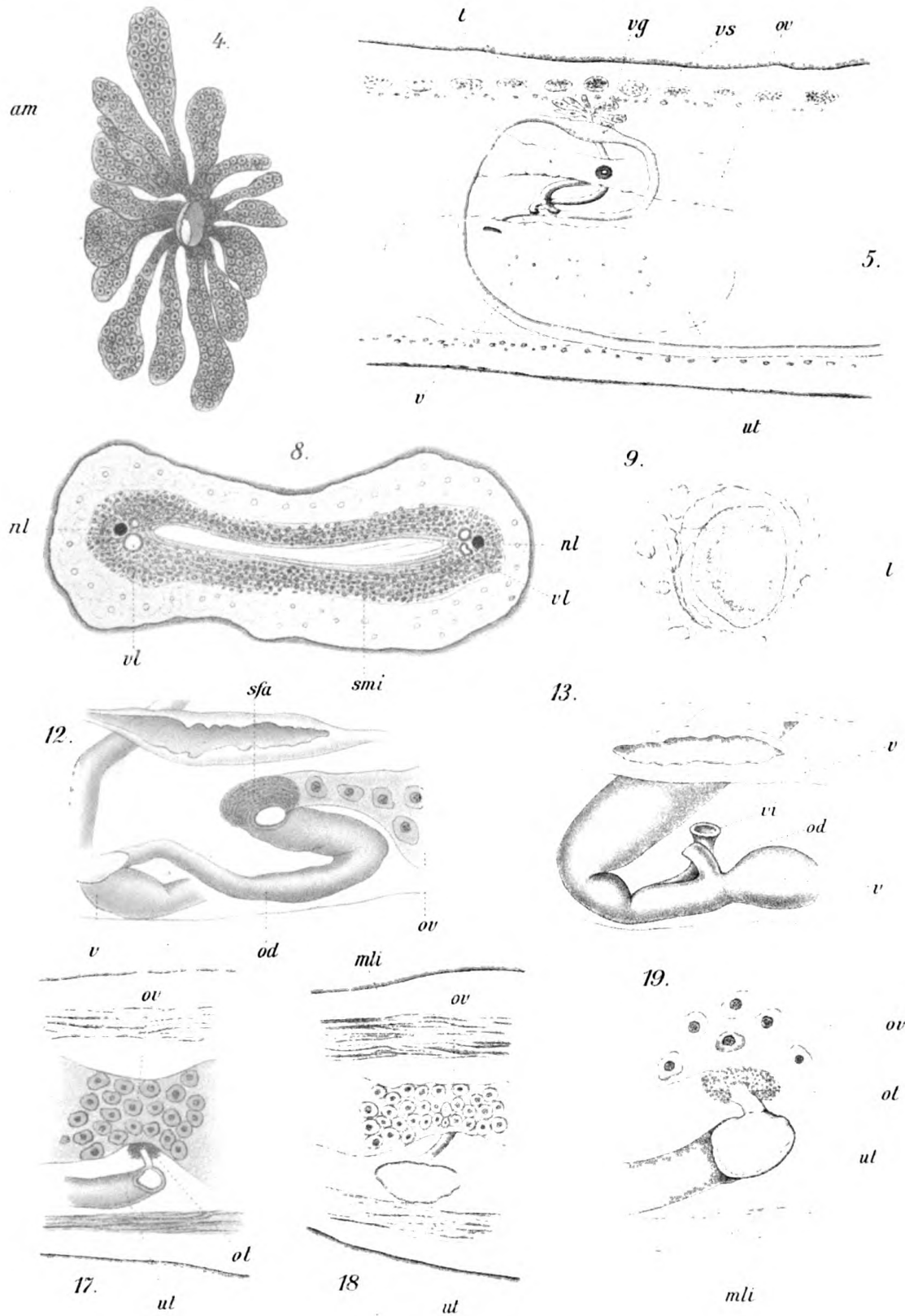




M. J. C. S.

M. J. C. S. (1914)







Nachdruck verboten.

***Moniezia diaphana* n. sp.****Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Cestoden aplacentaler Säugetiere.**Von **F. Zschokke**, Basel.

Mit 1 Figur.

Der Satz, daß die Darmcestoden der aplacentalen Säuger der alten Welt (Australien, Celebes, Neuguinea) ausschließlich der Gruppe der Anoplocephalinen angehören, erhält eine neue Stütze durch die Untersuchung eines Bandwurms aus der Leber von *Phascolomys wombat* Pér. Prof. Dr. G. Neumann aus Toulouse hatte die Freundlichkeit, mir den Parasiten zu übergeben. Bei näherer Prüfung zeigte es sich, daß der Wurm die typischen Merkmale der Gattung *Moniezia* R. Blanch. trägt. Die folgende kurze Schilderung mag dies beweisen.

Aus den vorliegenden Bruchstücken, die von mindestens drei verschiedenen Ketten stammen, läßt sich für die Strobila von *Moniezia diaphana* n. sp., wie der Wurm aus dem Wombat heißen mag, eine Länge von 8—9 cm berechnen.

Der Scolex verbreitert sich nach vorn rasch und ausgiebig, so daß sein Querdurchmesser von etwa 1 mm die Länge um mehr als den doppelten Betrag übertrifft. Er trägt 4 starke, vorspringende, nach vorn sich öffnende Saugnäpfe. Ein „Hals“ fehlt. Jede der 250—350 Proglottiden umfaßt mit dem Hinterrand sich stark vorwölbend den Vorder- rand des folgenden Gliedes. So erhalten die Seitenränder der Strobila ein deutlich gesägtes Aussehen. Die größte Breite erreicht der Wurm mit 3,5—3,9 mm nahe seinem Hinterende; nach vorn nimmt der Querdurchmesser allmählich ab, um unmittelbar hinter dem Scolex auf 0,5 mm zu sinken. Auch die Endglieder verjüngen sich etwas.

Alle Proglottiden sind breiter als lang, die ersten haben querstabförmiges Aussehen, während die Breite der geschlechtsreifen Glieder etwa den fünffachen Betrag ihrer Länge ausmacht. Nur die letzten Segmente nehmen mehr gestreckte, glockenförmige Gestalt an.

Ein besonderes Merkmal des Cestoden liegt in seinem durchscheinenden, diaphanen Aussehen. So lassen sich die 2 Gruppen der Genitalorgane schon bei schwacher Vergrößerung ohne besondere Präparation als weißliche Flecke erkennen. Nahe dem hinteren Gliedende springt jeder Seitenrand zu einer Genitalpapille vor.

Durch starke Entwicklung zeichnet sich die innere Längsmuskulatur aus. Ihre Fasern schließen sich in kleiner Zahl zu wenig umfangreichen Bündeln zusammen, von denen je 50 bis 60 dorsal und ventral vom Innenparenchym eine Querreihe bilden. Von Bündel zu Bündel springen zahlreiche Fibrillen über, so daß die einzelnen Faserzüge ihre scharfe Begrenzung verlieren und die Längsmuskulatur auf Flächenschnitten das Bild eines reichen Netz- oder Gitterwerks bietet.

Nach innen schließen sich an die weit in die Tiefe der Proglottis gerückten Longitudinalmuskeln stark entwickelte Quermuskelzüge. Auch dorsoventral gerichtete Muskelfasern treten in großer Zahl auf.

Das Exkretionssystem verfügt rechts und links über zwei dicht aneinandergeschmiegte, je nach dem Kontraktionszustand der Glieder mehr oder weniger ausgiebig gewundene Längsgefäße. Einer der beiden Stämme

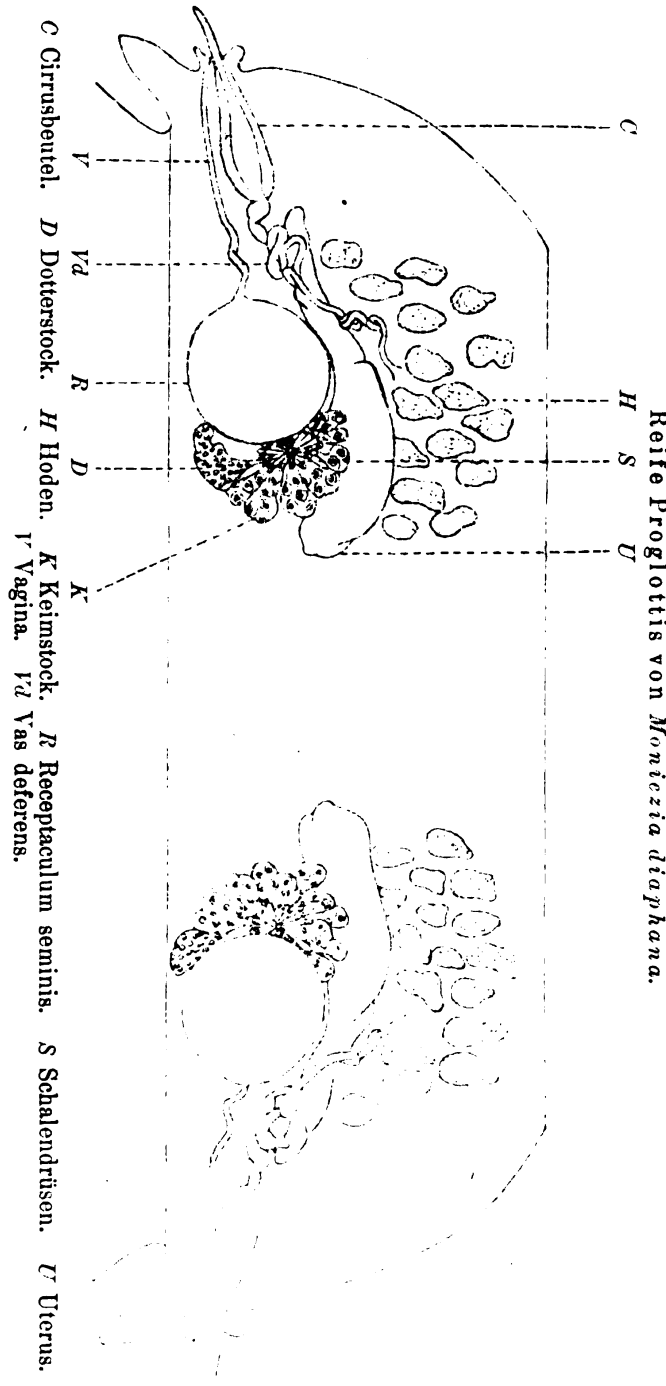
ist in der Regel 6—8mal umfangreicher, als der andere; er besitzt eine dünnere Wandung und liegt median und etwas ventral von dem dickwandigen Gefäß mit engerem Lumen. Am Hinterrand jeder Proglottis

verbinden sich die beiden ventralen Stämme durch ein weites Quergefäß. An derselben Stelle erhalten auch in den meisten Gliedern die dorso-lateralen Längsgefäße eine enge, mehrfach gewundene, durch dicke Wandung ausgezeichnete Querbindung.

Unmittelbar außerhalb der longitudinalen Exkretionsröhren liegt rechts und links ein umfangreicher, aber weniger scharf umschriebener Markstrang.

Jede Proglottis umschließt in der für das Genus *Moniezia* typischen Weise zwei vollkommen getrennte Gruppen männlicher und weiblicher Geschlechtsorgane. Die beiden Genitalöffnungen werden von einem lateral nahe dem hinteren Proglottidenrand gelegenen, stark papillenförmig vorspringenden Ringwulst umgeben. So münden die Pori im Grunde eines muskulösen, napfartigen Gebildes, aus dem in reiferen Gliedern der Cirrus als kurzer, schlanker Faden hervorragt. Die Vagina öffnet sich unmittelbar hinter dem männlichen Porus und etwas ventral von demselben. An den letz-

teren schließt sich ein schlanker, schwach nach vorn gerichteter und bis in das Gebiet der longitudinalen Exkretionsstämme sich erstreckender Cirrusbeutel, in dessen Binnenraum das Vas deferens eine langgezogene Samenblase bildet. Die Länge des Cirrusbeutels beträgt etwa



Reife Proglottis von *Moniezia diapkhana*.

$\frac{1}{7}$ — $\frac{1}{8}$  der ganzen Gliedbreite; seine Wandungen besitzen nur im mittleren und inneren Abschnitt eine kräftigere Muskulatur. Vom inneren Ende des Beutels wendet sich das Vas deferens, nachdem es zuerst eine kurze, birnförmige Erweiterung gebildet hat, in zahlreichen, zusammengeschobenen Schlingen nach vorn. Auf diesem Wege wird der Samenleiter von sehr lockerem Parenchym umgeben. Er erreicht, vor dem kugeligen Receptaculum seminis sich hinziehend, das nach außen von den Längsgefäßen, nach vorn vom vorderen Gliedrand, nach hinten vom sich allmählich entwickelnden Uterus begrenzte Hodenfeld. Median berühren sich die Hodengruppen der beiden Gliedhälften nicht; es bleibt zwischen ihnen ein Streifen frei, der etwa dem vierten Teil der ganzen Proglottidenbreite entspricht.

Die Hoden stellen in der Längsrichtung des Gliedes unregelmäßig oval gestreckte Bläschen dar. Sie folgen sich von vorn nach hinten in 3 bis 5, von rechts nach links in 7 bis 9 dichtgedrängten, in einander sich schiebenden Reihen. Dorsoventral ordnen sich die Bläschen in eine einzige Schicht. Das ganze Hodenfeld gehört mehr dem dorsalen, als dem ventralen Teil der Proglottis an. Aus jedem Hodenbläschen entspringt ein recht deutlich begrenztes Vas efferens; die Samenkanälchen verbinden sich allmählich dendritisch zu größeren Gängen, die zuletzt zum Vas deferens zusammenfließen.

An die hintere Fläche des Cirrusbeutels schmiegt sich als enges Rohr die Vagina an. Sie zieht, wie der männliche Leitungsweg, dorsal an den Exkretionsstämmen und dem Längsnerven vorbei. Ihr Verlauf ist gestreckt, oder höchstens leicht wellenförmig gebogen. Innerhalb der Längsgefäße erweitert sich die Scheide unvermittelt zu einem Receptaculum seminis, das in den geschlechtsreifen Gliedern gewaltigen Umfang erreicht. Zuerst in der Querrichtung der Proglottis als kurzovaler Behälter sich ausdehnend, schwillt das Receptaculum allmählich zu einer umfangreichen, mit Samen prall gefüllten Kugel an. Es berührt beinahe den hinteren Gliedrand und besitzt einen Durchmesser von etwa  $\frac{1}{8}$  der Proglottidenbreite.

Auf das Receptaculum seminis folgt nach innen unmittelbar der Komplex der weiblichen Drüsen. Im Zentrum desselben liegt der ziemlich umfangreiche Haufen der Schalendrüsen, der sich dem vorderen Teil des Samenbehälters anschmiegt. Mehr nach hinten verlagert sich der kleine und plumpe Dotterstock. Der Keimstock endlich bildet einen plump gelappten, nur aus 8 bis 10 kurzen Schläuchen zusammengesetzten Fächer mit nach innen gewendeter konvexer Fläche. Er umhüllt dorsal, vorn und medianwärts die Schalendrüse und berührt mit seinen vordersten Aesten das Receptaculum, mit den hintersten die Innenfläche des Dotterstocks. Die Hauptmasse des Keimstocks entwickelt sich in den dorsalen Teilen der Proglottis, der Dotterstock liegt ventral, die Schalendrüsen nehmen die Mitte zwischen den beiden soeben genannten Organen ein.

Aus der medialen Fläche des Receptaculum entspringt der Befruchtungsgang. Er wendet sich in scharfer Abknickung dorsalwärts und nach hinten, nimmt den umfangreichen Keimgang auf, zieht dann, eine ventral offenstehende Schleife bildend, gegen die Bauchfläche und durchbohrt den Komplex der Schalendrüsen, nachdem sich noch unmittelbar vorher der nach vorn gerichtete Dottergang mit ihm vereinigt hat. Von den Schalendrüsen aus läuft ein spiralig gedrehter Eileiter nach vorn, um sich medial vom Receptaculum in rechtem Winkel in den Uterus zu öffnen.

Der Uterus legt sich frühzeitig als schmaler, quergestellter Gang an. Allmählich schwillt er zu einem plumpen, nur selten und seicht eingeschnittenen Sack auf, der sich zwischen die Hoden einerseits und das Receptaculum sowie die weiblichen Drüsen andererseits eindrängt und diese Organe immer schärfer von einander trennt. Auch zur Zeit der stärksten Ausbildung verschmelzen die Uteri der beiden Seiten median nicht; ihre Wandungen bleiben scharf begrenzt wenn sie sich auch unmittelbar berühren. Lateral wachsen die Uterussäcke bis zu den Längsgefäßen aus. Manchmal drängen sie sich sogar zwischen den beiden Exkretionsstämmen durch und erreichen den äußersten Seitenrand der Glieder. Durch den ventral liegenden, mit kugeligen Eiern angefüllten Uterus werden Scheide, Cirrusbeutel und Receptaculum allmählich immer mehr dorsalwärts verlagert.

Im Gegensatz zu den meisten anderen Cestoden zeichnen sich die Spermatozoen von *Moniezia diaphana* durch starke Entwicklung des kugeligen Kopfes, der sich scharf von dem zarten und langgezogenen Schwanz absetzt, aus. Sie erinnern an die Samenkörper von *Bothridium pythons*.

Der Bandwurm aus dem Wombat fügt sich in allen Hauptmerkmalen in die Diagnose der Gattung *Moniezia* ein. Einige kleine Abweichungen fehlen indessen nicht. So besitzt *M. diaphana* die den Gattungsgenossen gewöhnlich zukommenden Interproglottidaldrüsen nicht. Der dorsale Exkretionsstamm liegt dorsolateral und nicht dorsomedian vom Ventralkanal. Die Eier tragen einen nur wenig hervortretenden, aus zwei kurzen, höckerartigen Hörnern bestehenden „birnförmigen Apparat“; die Hörner endigen mit keiner Scheibe. Cirrus und Vagina liegen hintereinander und nicht nebeneinander, ein Verhältnis, das sich indessen auch bei anderen *Moniezia*-Arten (z. B. *M. beauforti* Janicki und *M. spec.* Janicki) findet. Eine Spaltung der Gattung *Moniezia* lassen die eben besprochenen Unterschiede, die zwischen einzelnen Arten herrschen, kaum als gerechtfertigt erscheinen.

Einstweilen bleibt der Satz bestehen, daß alle Darmcestoden aplacentaler Säugetiere der alten Welt (Neuholland, Neuguinea, Celebes) der Gruppe der Anoplocephalinen angehören. Es läßt sich in dieser Beziehung folgende Liste zusammenstellen:

Parasit	Wirt	Geographisches Vorkommen
1. <i>Triptotaenia mirabilis</i> Boas	<i>Petrogale penicillata</i>	Australien
2. <i>Moniezia festiva</i> Rud.	<i>Macropus giganteus</i>	Australien
3. <i>M. diaphana</i> Zsch.	<i>Phascolumys wombat</i>	Australien
4. <i>Bertia obesa</i> Zsch.	<i>Phascolarctus cinereus</i>	Australien
5. <i>B. edulis</i> Zsch.	<i>Phalanger ursinus</i>	Celebes
6. <i>B. sarasinorum</i> Zsch.	<i>Phalanger ursinus</i>	Celebes
7. <i>B. rigida</i> Janicki	<i>Phalangista spec.</i>	Neuguinea
8. <i>Linstowia echidnae</i> A. W. Thompson	<i>Echidna hystrix</i>	Australien
9. <i>Linstowia scomi</i> Zsch.	<i>Perameles obesula</i>	Australien
10. <i>Cittotaenia zschokkei</i> Janicki	<i>Macropus spec.</i>	Neuguinea

Nachdruck verboten.

## Neue und bekannte Nematoden.

Von Dr. v. Linstow.

Mit 1 Tafel.

Die hier beschriebenen Nematoden gehören der Sammlung der Senckenbergischen naturforschenden Gesellschaft in Frankfurt a. M.

### *Oxyuris microon* n. sp.

Fig. 1—2.

aus dem Rectum von *Nyctipithecus trivirgatus*. Cuticula quergebüngelt, am Kopfende blasig aufgetrieben, mit ringförmigen Einschnürungen; Kopfende mit 3 innen rundlich vorgezogenen Lippen; der Oesophagus ist sehr lang; er nimmt beim Männchen  $\frac{1}{2,3}$ , beim Weibchen  $\frac{1}{6}$  der ganzen Länge ein und endigt hinten mit einem kugelförmigen Bulbus, der von dem eigentlichen Oesophagus durch einen schmalen Hals getrennt ist; der Porus excretorius liegt hinter dem Ende des Oesophagus und teilt den Körper beim Weibchen von vorn nach hinten im Verhältnis von 4:15.

Das Männchen ist 1,42 mm lang und 0,13 mm breit; das gerade Spiculum mißt 0,049 mm; am Schwanzende stehen dorsal und ventral blasige Auftreibungen und ventral jederseits eine zapfenförmige Papille; der Körper endigt hinten mit einem geraden, 0,023 mm langen griffelförmigen Fortsatz.

Das Weibchen hat eine Länge von 4,43 mm und eine Breite von 0,31 mm; das Schwanzende, das  $\frac{1}{4}$  der ganzen Körperlänge einnimmt, ist lang und fein zugespitzt; die Vulva liegt in der vorderen Körperhälfte und teilt die Tierlänge im Verhältnis von 9:25; die Vagina verläuft nach hinten, ein Uterus zieht nach vorn, der andere nach hinten, die Eier sind klein und sehr zahlreich; sie sind 0,042 mm lang und 0,023 mm breit.

### *Filaria acuminata* n. sp.

Fig. 3—4.

aus den Lungenarterien von *Lutra vulgaris*, die embryonale Larvenform im Blute.

Es sind nur Weibchen vorhanden, deren Länge 45—85 mm beträgt bei einer Breite von 0,75—1,42 mm. Das Kopfende ist abgerundet, die Mundöffnung ist kreisrund; sie führt in einen flachen, nach hinten verbreiterten Mundbecher, dessen Tiefe sich zur Breite verhält wie 1:4; die Cuticula ist glatt und 0,0052—0,0056 mm dick; am Kopf- und Schwanzende ist sie stark verdickt; um die Mündung des Oesophagus herum in der Mundkapsel stehen 6 geknöpfte Papillen; der Oesophagus ist sehr kurz; er nimmt nur  $\frac{1}{52}$  der Tierlänge ein; 3 Oesophagusdrüsen münden 0,52 mm vom Kopfende in das Lumen. Der Darm ist vorn etwa doppelt so breit wie der Oesophagus und bildet vorn einen ringförmigen Wall; ein Nervenring umgibt den Oesophagus 0,24 mm vom Kopfende; das Schwanzende ist kurz und kegelförmig: es nimmt nur  $\frac{1}{205}$  der Gesamtlänge ein und endigt hinten mit einer kleinen, pyramidenförmigen Spitze. Die Vulva liegt ganz vorn, sie teilt die Länge des Tieres im Verhältnis 1:85. Zwischen jeden der beiden Uteri und den Ovarien liegen 2,57 mm lange und 0,99 mm breite Receptacula

seminis. Die Muskulatur ist mächtig entwickelt, die kontraktile Substanz nimmt  $\frac{1}{10}$  des Durchmessers des Körpers ein; die Marksubstanz ist dorsal und ventral am stärksten, nach den Seiten zu nimmt sie an Stärke ab; dorsal und ventral nimmt sie  $\frac{3}{10}$  des Querdurchmessers des Körpers ein. Dorsal und ventral ist die Muskulatur durch einen schmalen Strang unterbrochen, welcher den dorsalen und ventralen Längsnerven stützt, der an der Innenseite der kontraktilen Muskelsubstanz verläuft. Die Seitenfelder nehmen etwa  $\frac{1}{9}$  der Körperperipherie ein und sind in Abständen von etwa 0,18 mm mit Querleisten versehen; eine von rechts nach links ziehende Leiste teilt sie in eine dorsale und ventrale Hälfte; im Gewebe liegen unregelmäßig verteilt große Kerne; ein Längsgefäß fehlt.

Die Eier haben eine membranöse Hülle und sind 0,101 mm lang und 0,065 mm breit; die Art ist vivipar und die unzählbaren Embryonen sind 0,37 mm lang und 0,016 mm breit; das Kopfende ist kegelförmig, das kurze Schwanzende ist zugespitzt und nimmt  $\frac{1}{36}$  der Gesamtlänge ein, der Oesophagus  $\frac{1}{9}$ ; von derselben Beschaffenheit ist die embryonale Larvenform, welche im Blute lebt.

Blutfilarien sind in Wirbeltieren aller Ordnungen gefunden, die Geschlechtsform lebt in den verschiedensten Organen.

Im Menschen sind beobachtet:

*Filaria Bancrofti* Cobbold; Lymphgefäße.

*Filaria perstans* Manson, auch im Schimpansen; Mesenterium.

*Filaria Magalhaesi* Blanchard; Herz.

Die Geschlechtsform ist unbekannt oder ungenügend beschrieben bei:

*Filaria Demarquayi* Manson,

*Filaria Ozzardi* Manson und

*Filaria diurna* Manson.

In Säugetieren:

*Filaria immitis* Leidy; Herz des Hundes.

*Filaria recondita* Grassi; im Nierenfett des Hundes.

*Filaria Poelii* Vryburg; Aorta von *Bos bubalus*.

*Filaria labiato-papillosa* Aless.; Peritoneum von *Cervus* und *Bos*.

*Filaria equina* Abildg.; Brust- und Bauchhöhle von *Equus*.

*Filaria Evansi* Lewis; Lungenarterien des Dromedars.

*Filaria spirocauda* Leidy; im Herzen von *Phoca vitulina*.

In Vögeln:

*Filaria tricuspidis* Fedtsch; Bauchhöhle von *Corvus*, *Pica* und zahlreichen anderen Arten.

*Filaria Mazzantii* Railliet; unter der Haut von *Columba domestica*.

*Filaria Corvi torquati* Cobbold u. Manson; im Herzen von *Corvus torquatus*.

*Filaria Picae mediae* Cobbold u. Manson; im Herzen von *Pica media*.

Annett, Dutton und Elliott haben bei sehr zahlreichen afrikanischen Vögeln Blutfilarien gefunden:

*Filaria Cypseli*; unter der Haut von *Cypselus affinis*.

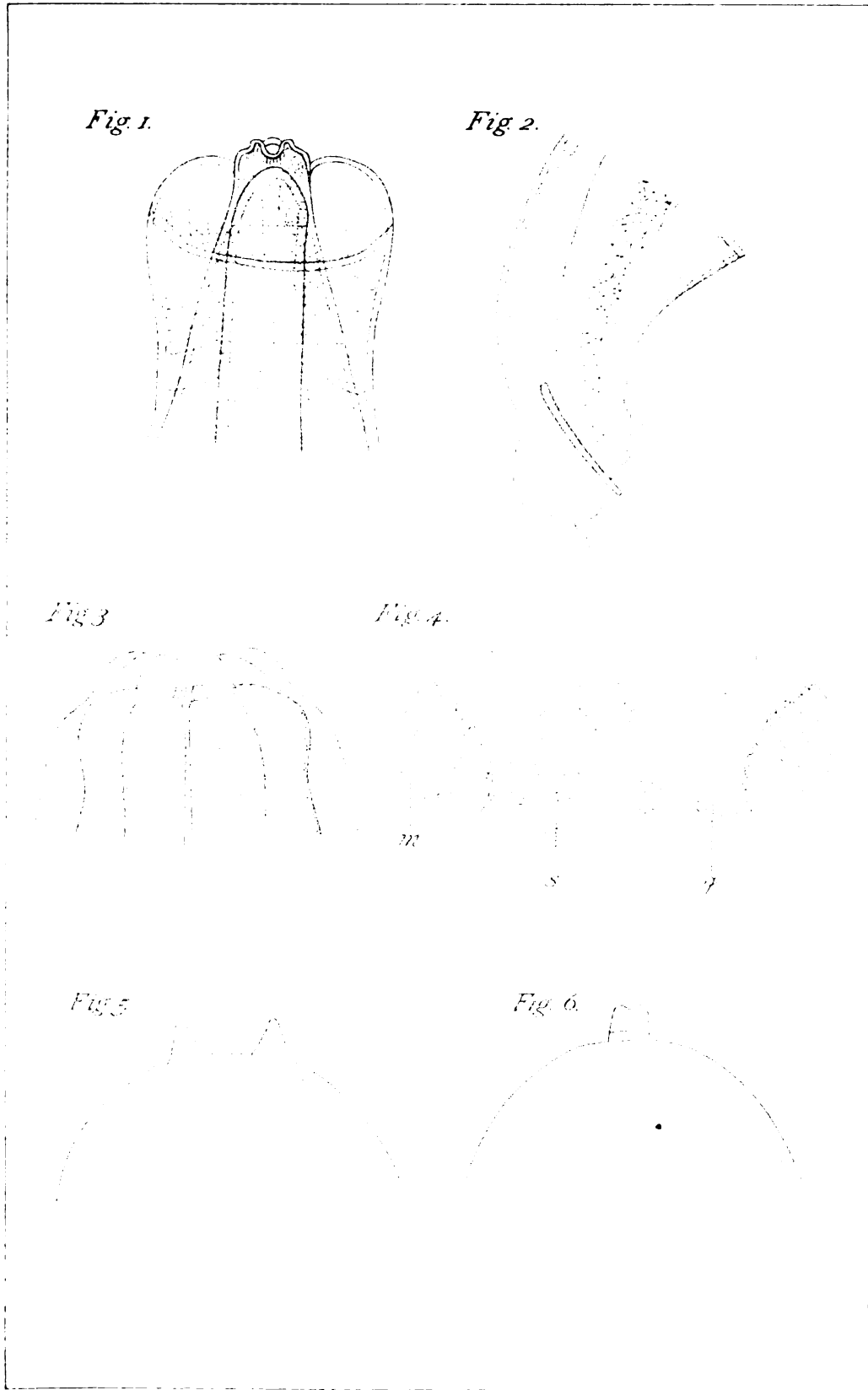
*Filaria spiralis avium*; in Sehnenscheiden am Fuße von *Hyphantornis*, *Muscicapa* u. a.

*Filaria fusiformis avium*; in der Brust- und Bauchhöhle von *Spermetes*, *Hyphantornis* u. a.

*Filaria spiralis avium major*; in Sehnenscheiden am Fuße von *Sitagra* und *Hyphantornis*.







v. Linstow del.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

F. Weise, Lith. Jena.

*Filaria falciiformis*; unter der Haut von *Cinuyris*.

*Filaria bulbosa*; unter der Haut von *Cinuyris*.

*Filaria capsulata*; am Oesophagus von *Pycnonotus* und *Sitagra*.

*Filaria Shettletoni*; im Herzbeutel von *Cypselus* und *Hyphantornis*.

Nur die Blutfilarien wurden gefunden von:

*Filaria serpentiformis* bei *Cinuyris*,

*Filaria opolensis* bei *Hyphantornis*.

*Filaria calabarensis* bei einem unbestimmten Vogel.

In Reptilien:

*Filaria tuberosa* v. Linst.; in der Leibeshöhle von *Mabuia carinata*.

*Filaria Cistudinis* Leidy; im Herzen von *Cistudo carolina*.

In Amphibien:

*Filaria rubella* Rud.; unter der Haut von *Rana temporaria* und *R. esculenta*.

*Filaria columbia* Blanch.; in *Bufo* spec.

In Fischen:

*Filaria obturans* Prenant; in den Lungenarterien von *Esox lucius*.

Das Hineingelangen in das Gefäßsystem der embryonalen Larvenform ist ohne weiteres klar bei den Arten, deren Geschlechtsformen im Herzen, in den Lungenarterien und im Lymphsystem leben; wenn aber die Geschlechtsform in der Brust- und Bauchhöhle, in Sehnen-scheiden, im Herzbeutel, unter der Haut wohnt, kann die embryonale Larvenform nur durch eine selbständige, instinktive Einwanderung in das Gefäßsystem gelangen; solche selbständige Einwanderungen in ganz bestimmte Organe scheinen bei den Helminthen sehr häufig vorzukommen, wie wir sie unter anderem bei *Polystomum*, *Ankylostomum* und *Trichina* kennen gelernt haben.

### *Filaria labiato-papillosa* Aless.

Fig. 5--6.

= *Filaria terebra* Dies. = *Filaria cervina* Duj.

In der Leibeshöhle von *Cervus elaphus*, *C. capreolus*, *C. columbianus*, *C. virginianus*, *C. rufus*, *C. wambi*, *C. simplicicornis* und *Bos taurus*.

Die Art trägt am Kopfende, nicht wie Dujardin, Diesing, Molin, Perroncito u. Railliet angeben, 4, sondern wie Schneider richtig sagt, 2 Zähne; von der dorsalen oder ventralen Seite gesehen, sind die Zähne kegelförmig, im seitlichen Bilde haben sie vorn eine Einbuchtung; sieht man das Kopfende nicht genau von der dorsalen oder ventralen Seite, sondern etwas seitlich verschoben, so werden die vorderen, rundlichen Vorbuchtungen der Zähne sichtbar, und dadurch kann die Vorstellung entstehen, daß unter den beiden sichtbaren Zähnen noch 2 andere liegen. Filarien mit 2 Zähnen am Kopfende aus Cerviden kennt man schon eine ganze Reihe, *Filaria bidentata* Mol.; *F. bicoronata* v. Linst.; *F. effilata* v. Linst.; *F. cornuta* v. Linst.; *F. caelum* v. Linst.; *F. sclaprum* v. Linst. und *F. transversata* v. Linst.

### Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1—2. *Oxyuris microon*, 1 Kopfende, 2 männliches Schwanzende von rechts.

Fig. 3—4. *Filaria acuminata*, 3 Kopfende, 4 Querschnitt durch die Muskulatur und ein Seitenfeld, durch eine Querleiste desselben; *m* kontraktile Muskelsubstanz, *s* Seitenfeld, *q* Querleiste.

Fig. 5—6. *Filaria labiato-papillosa*, Kopfende, 5 von der dorsalen oder ventralen Fläche, 6 von der Seitenlinie.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Hämolysine und Antihämolysine in menschlichen Transsudaten und Exsudaten.

[Aus dem kgl. Juliusspital in Würzburg (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. v. Leube).]

Von Dr. **H. Lüdke**, I. Assistenten der medizinischen Klinik.

Während die biologischen Blutuntersuchungen in der Diagnostik der Infektionskrankheiten allgemeine Anerkennung gefunden haben, liegen diagnostisch verwertbare biologische Untersuchungen bei anderen Krankheitszuständen nur in recht spärlichen Angaben vor. So boten die Hämolysestudien, abgesehen von der methodischen Anwendung des hämolytischen Vorganges bei der Komplementablenkung, nur theoretisches Interesse. Erst die Beziehungen hämolytischer Prozesse zur Bakteriolyse, die durch die grundlegenden Arbeiten Ehrlichs und Morgenroths über den Mechanismus der Hämolyse klargelegt wurden, führten zu vergleichenden Untersuchungen, die eine verständlichere Vorstellung und tieferes Eindringen in die Vorgänge bei der Immunität ermöglichten. Die nach dem Schema hämolytischer Untersuchungen begonnenen Cytotoxinstudien gewährten Einblicke in das dunkle Feld der biologischen Zellverwandtschaften, die zu eingehender Forschung aufforderten.

Die geringe Ausbeute für klinisch-diagnostische Zwecke mag die Ursache gewesen sein, daß die biologischen Untersuchungen bisher wenig Eingang in die Klinik fanden.

Bei einem kurzen Ueberblick finden wir in den Arbeiten über die Hämolysine und Hämagglutinine doch einige bemerkenswerte Angaben über das Vorkommen und Verhalten dieser Antikörper bei verschiedenen Erkrankungen.

Einige Autoren, unter denen wir Landsteiner (1) hervorheben, beschäftigten sich mit den Isolysinen und Isoagglutininen im menschlichen Blutserum. Landsteiner wies Isoagglutinine im Blut gesunder Menschen nach und untersuchte in pathologischen Zuständen die Beziehungen der isoagglutinierenden Stoffe zu dem Krankheitsprozeß, wobei er besonders den Grad des Agglutinationsvermögens berücksichtigte. Damit näherten sich Landsteiners Untersuchungen den Arbeiten Ascolis (2), der fand, daß bei normalen Individuen dem Serum die Fähigkeit der Isoagglutination nur in geringem Grade zukomme, während bei pathologischen Prozessen höhere Agglutinationswerte beobachtet würden. Landsteiner und Leiner (3) fanden jedoch keine Unterschiede zwischen den isoagglutinierenden Substanzen bei Gesunden und Kranken; Isolyse war ebenfalls nicht regelmäßig nachweisbar.

Größeres klinisches Interesse konnten die Untersuchungen über Schwankungen im Komplementgehalt bei pathologischen Zuständen beanspruchen. Während im Blutserum gesunder Individuen ein fast stets gleicher Komplementgehalt konstatiert wurde, wies Sweet (4) bei vorübergehender Glykosurie infolge von Phloridzininjektionen eine Zunahme hämolytisch wirksamer Komplemente nach. Bei der Erzeugung von Diabetes mellitus durch Exstirpation des Pankreas trat dagegen eine Abnahme des Komplementgehaltes ein. Ebenso sahen Abbot

und Bergey (5) bei alkoholvergifteten Tieren ein Schwinden von hämolytischen Komplementen eintreten. Dagegen beobachteten ich (6) wie Kentzler (7) in schweren Phthisisfällen niemals eine erhebliche Einbuße des Komplementgehaltes.

Weiter sind die Untersuchungen von Neisser und Doering (8) zu erwähnen, die in Fällen von Urämie eine Hemmung der Hämolyse des Kaninchenblutes durch eine Mischung von inaktivem und aktivem Urämieserum fanden. Eigene (9) Untersuchungen, über die noch berichtet werden soll, zeigten nur sehr selten eine stärkere Hemmung der Hämolyse.

Eine größere Ausdehnung nahm die Bearbeitung der Antikörper, die im Serum normaler Tiere vorkommen, an. Das Studium dieser Antikörper führte zu positiveren Ergebnissen wie die Untersuchungen über den Komplementgehalt und seine Schwankungen unter pathologischen Verhältnissen. Eingeleitet wurden diese Arbeiten durch den Befund von Diphtherieantitoxin im Blutserum normaler Menschen von Wassermann. Eine größere Reihe von Untersuchern beschäftigte sich danach mit dem Nachweis anderer Antikörper in Normalseris. Man erkannte in diesen Antistoffen physiologische Analoga der künstlich erzeugten Immunsustanzen. Ein weiterer Versuch im Rahmen der Ehrlichen Anschauungen war der Nachweis der Vielheit dieser Antikörper, der von M. Neisser (10) für die antihämolytischen Substanzen des Serums erbracht wurde.

Es galt nun, menschliche Normalsera auf solche Antikörper zu untersuchen. Dies gelang Marshall und Morgenroth (11) in ihrer Arbeit über Antikomplemente und Antiambozeptoren in normalen Seris. Im normalen menschlichen Serum war nach diesen Autoren sowohl eine Antikomplementwirkung wie eine Hemmung der Bindung des Ambozeptors nachzuweisen, wobei die Antikomplementwirkung weit stärker ausgeprägt war. In anderen Versuchen wurde neben der antihämolytischen Wirkung des Menschenserums gegen auf Menschenblut wirkende spezifische Hämolyse die gleiche Schutzwirkung für Ochsenblutkörperchen konstatiert.

Marshall und Morgenroth dehnten diese Untersuchungen auch auf pathologische Exsudate aus. Sie untersuchten insbesondere Ascitesflüssigkeiten und fanden im wesentlichen Resultate, die mit den im normalen Blutserum erhobenen Befunden übereinstimmten.

Für klinische Zwecke war durch die Arbeit Marshalls und Morgenroths eine Untersuchungsmethodik geboten, die zur eingehenderen Prüfung pathologischer Exsudate und Transsudate anregte. Es war von Interesse, die antihämolytische Wirkung solcher Körperflüssigkeiten in größerem Umfang zu prüfen und den Anteil der Einzel Faktoren dieser antihämolytischen Funktion zu bestimmen, da die Möglichkeit vorlag, biologische Differenzen zwischen Exsudaten und Transsudaten auf diese Weise aufzudecken. Unter pathologischen Bedingungen, in denen Resorption, Dissimilation und Ausscheidung größeren Schwankungen unterworfen sind, mußte die Zusammensetzung der Körperflüssigkeiten einem beständigen Wechsel unterliegen, so daß die Möglichkeit differenter Versuchsergebnisse bei der Prüfung verschiedener Körperflüssigkeiten gegeben war.

In den vorliegenden Untersuchungen über den Antikörpergehalt pathologischer Exsudate und Transsudate wurde zunächst die hämolytische Fähigkeit dieser Flüssigkeiten unter Berücksichtigung der ein-

zelenen Komponenten der Hämolyse geprüft. Im zweiten Teil wurde versucht, den Gehalt der Exsudate und Transsudate an Antikomplementen und Antiambozeptoren zu bestimmen.

Eingehendere Untersuchungen über den hämolytischen Charakter pathologischer Exsudate und Transsudate wurden von Hedinger (12) angestellt. Hedinger benutzte Ascitesflüssigkeit bei Lebercirrhose, Herzfehlern und Nephritiden und beobachtete in allen Fällen eine gut ausgeprägte Hämolyse des defibrinierten Kaninchenblutes. Individuelle Schwankungen wurden bei den einzelnen Körperflüssigkeiten notiert; die hämolytische Wirkung soll jedoch im allgemeinen nicht so prompt eingetreten sein wie bei der Wirkung des Blutserums. Nur in einem Falle trat eine Hemmung der Hämolyse auf: Bei einer Patientin mit atrophischer Lebercirrhose zeigte sich bei einer 3-fachen Dosis der aktiven Flüssigkeit nur eine minimale Spur einer lackfarbenen Verfärbung. Es handelte sich in diesem Falle allerdings um eine trübe, opaleszierende (Paramucin enthaltende?) Ascitesflüssigkeit.

Hedingers einfache Untersuchungsmethodik erstreckt sich allein auf die Bestimmung der hämolytischen Fähigkeit der Exsudate und Transsudate; während Angaben über den Gehalt an Antikörpern, den Nachweis von Komplementen und Ambozeptoren, fehlen. Nach seinen Untersuchungen konnte die einfache Bestimmung der hämolytischen Funktion der untersuchten Körperflüssigkeiten keine für diagnostische Zwecke verwertbare Ergebnisse bieten.

Außer den Ascitiden bei oben zitierten Krankheiten untersuchte Hedinger noch die Bauchhöhlenflüssigkeiten in Fällen von tuberkulöser und carcinomatöser Peritonitis. Diese Ascitesflüssigkeiten wiesen eine mehr oder minder starke Hemmung der Hämolyse auf. Ebenso zeigten die bei Pleuritis gewonnenen Liquida öfter Hemmungen der Lösungsfähigkeit. Er faßt seine Resultate darin zusammen, daß bei Transsudaten vorwiegend normales hämolytisches Verhalten vorherrsche, während Exsudate sehr oft auf die Hämolyse hemmende Eigenschaften aufwiesen.

Diese Befunde von Hedinger standen im Widerspruch mit Untersuchungen von Strauss und Wolff (13), die die hämolytische Eigenschaft der Exsudate besonders ausgesprochen fanden. Strauss und Wolff machten in ihrer Erklärung der hämolytischen Funktionen des Serums und Körperflüssigkeiten die Stärke der Lösungskraft von der Menge der Eiweißkörper abhängig, da es sich nach Ehrlich-Morgenroth bei den Lysinen um hochmolekulare Eiweißstoffe handeln sollte. Ebenso wie Hedingers Experimente, führten unsere Untersuchungen über die Hämolyse durch seröse Flüssigkeiten zu dem Ergebnis, daß Transsudate, in denen die Eiweißmenge gegenüber Exsudaten erheblich verringert war, im allgemeinen besser lösten wie die eiweißreicheren Exsudate. Nach unseren Prüfungen hängt die Intensität der Hämolyse weder von dem Eiweißgehalt noch vom spezifischen Gewicht der serösen Flüssigkeit ab; weder die Art der Erkrankung, die zur Ansammlung der Höhlenflüssigkeit führte, noch das längere oder kürzere Bestehen der Flüssigkeitsansammlung war für die Stärke der Lösungskraft verantwortlich zu machen. Es handelt sich dabei im wesentlichen um biologische Phänomene, die sich im Auftreten von Antikörpern, die auf die lösenden Substanzen hemmend einwirken, äußern.

Granströms (14) Untersuchungen decken sich im wesentlichen mit unseren Befunden. Dieser Autor untersuchte die serösen Flüssigkeiten bei 46 verschiedenen Kranken. Er fand größere Schwankungen

der hämolytischen Kraft in den Exsudaten und Transsudaten und keinerlei differentialdiagnostische Merkmale für die Unterscheidung dieser beiden Flüssigkeiten. In eitrigen Exsudaten wurden nur geringe Mengen von Hämolyse konstatiert. Parallelen zwischen den hämolytischen Eigenschaften und der Eiweißmenge, dem osmotischen Druck, der Gerinnungsfähigkeit, der Menge der Leukocyten in den Exsudaten und Transsudaten konnten nach Granström nicht aufgestellt werden.

Grollo (15), der die differentialdiagnostischen Momente zur Trennung von Exsudaten und Transsudaten durch die Hämolyse prüfte, fand, daß Transsudate die Blutkörperchen von Kaninchen nicht lösten, da ihnen der entsprechende Ambozeptor fehlte. Exsudate dagegen lösten Kaninchenblutkörperchen gewöhnlich; in einzelnen Fällen blieb diese Hämolyse infolge Komplementmangels aus.

Zu unserer Verfügung standen 2 Ascitesflüssigkeiten und 4 aus der Brusthöhle entnommene Körperflüssigkeiten. Von den letzteren war in 2 Fällen die Diagnose „tuberkulöses Exsudat“ mit einem spezifischen Gewicht von 1018—1022 sichergestellt, während im 3. Falle eine Exsudatflüssigkeit (spezifisches Gewicht 1016) vorlag, die auf eine nicht tuberkulöse Pleuritis zurückzuführen war. In dem Zentrifugat dieses Exsudats waren bei wiederholter Untersuchung keine Tuberkelbacillen nachzuweisen; die Impfung von 10 ccm des Exsudats in die Meerschweinchenbauchhöhle ergab ein negatives Resultat. Im letzten Falle handelte es sich um ein Transsudat, das infolge eines ausgesprochenen Herzklappenfehlers entstanden war.

In den beiden Fällen von Ascites war die Diagnose „Cirrhosis hepatis“ begründet.

Sämtliche Exsudate und Transsudate wurden sofort nach der Entnahme auf ihre hämolytische Fähigkeit gegenüber Blutkörperchen geprüft. Danach wurde ein Teil der Flüssigkeiten inaktiviert und zu Untersuchungen über den Ambozeptorgehalt verwandt. Schließlich wurden noch Erhebungen über den Komplementgehalt der verschiedenen Körperflüssigkeiten angestellt. Von Blutkörperchenarten wurden die Erythrocyten von Menschen-, Ochsen-, Hammel-, Schweine-, Meerschweinchen-, Kaninchenblut, seltener die Blutkörperchen von Pferd und Huhn benutzt.

Zu dem Zwecke wurde das defibrinierte Blut sorgfältig mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, um die hemmende Wirkung des eigenen Serums auszuschalten und 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmungen hergestellt. Die Hämolyse wurde je nach dem Grade des Lackfarbenwerdens, der Höhe der Blutkörperchenkuppe bestimmt.

Zunächst wurde die hämolytische Fähigkeit der einzelnen Flüssigkeiten an sich geprüft. Als Maximaldosis wurde ein Zusatz von 1,0 ccm zu 1 ccm der 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung genommen. Von dieser Maximaldosis ab erhielten wir für die differenten Blutkörperchenarten verschiedene Lösungswerte, vom gänzlichen Fehlen jeder hämolytischen Fähigkeit bei 1,0 ccm Zusatz bis zur kompletten Lösung selbst bei 0,05 ccm Zusatz. Unsere tabellarischen Aufzeichnungen ergaben, daß eine Reihe differenter Hämolyse in Exsudaten und Transsudaten vorkommt.

Wir führen nur die Lösungsfähigkeit durch ein pleuritisches Exsudat und eine Ascitesflüssigkeit an. Hammelblutkörperchen wurden durch das pleuritische Exsudat noch bei 0,1 ccm Zusatz fast vollständig gelöst, Ochsenblutkörperchen ebenso bei 0,2 ccm Zusatz. Nach 0,4 ccm Zusatz

trat stärkere Lösung der Kaninchenblutkörperchen ein, Meerschweinchenblut löste sich nach 0,1 ccm Zusatz fast vollkommen auf. Hühnerblut wurde noch bei 0,2 ccm Zusatz zur Lösung gebracht, Pferdeblut desgleichen, dagegen wurde Schweineblut und Menschenblut selbst nach 1,0 ccm Zusatz nicht gelöst. Die Ascitesflüssigkeit (spezifisches Gewicht 1013) löste ebenfalls Menschen- und Schweineblutkörperchen nicht auf. Ochsenblut und Hammelblut wurde noch bei 0,1 ccm Zusatz stärker gelöst, Kaninchenblut wie Meerschweinchenblut bei 0,2 ccm Zusatz. Hühner- und Pferdeblut blieben ungelöst.

Unsere Resultate stimmten im wesentlichen mit den Ergebnissen der tabellarischen Aufzeichnungen Marshalls (16) überein; geringere Differenzen waren in einzelnen Fällen allerdings zu konstatieren.

Die Lösungskraft fehlte oder war nur sehr mäßig ausgesprochen gegenüber den Blutkörperchen des Menschen und des Schweines; nach Marshall auch bei der Verwendung von Enten-, Tauben- und Rattenblutkörperchen. Die Lösungsfähigkeit fast sämtlicher Fluida erwies sich diesen Blutsorten gegenüber auch in hohen Zusatzdosen als sehr gering, in einer Reihe von Fällen blieb jede Lösung auch bei 1,0 ccm Zusatz vollkommen aus.

Die Untersuchungen der hämolytischen Fähigkeit sämtlicher Exsudate und Transsudate lieferten uns danach diese Ergebnisse: Die Hämolyse trat verschiedenen Blutkörperchenarten gegenüber auf; war besonders ausgesprochen bei der Verwendung von Hammel-, Ochsen-, Meerschweinchen- und Kaninchenblutkörperchen. Nach Marshalls Befunden waren schwächere Lösungsgrade bei Verwendung von Ratten-, Gänse-, Hühner-, Pferde- und Taubenblut zu verzeichnen. In Uebereinstimmung mit Marshalls Befunden konstatierten auch wir eine äußerst schwache Lösungskraft der verwendeten Flüssigkeiten gegenüber dem Schweineblut; hier lösten 1 ccm der Ascitesflüssigkeit nur in mäßigem Grade, während die pleuritischen Exsudate keine Lösung veranlaßten. Noch schwächer war die Wirkung auf Menschenblutkörperchen ausgeprägt, indem nur die Transsudatflüssigkeit bei 1 ccm Zusatz in minimalem Grade löste.

Die in den untersuchten Körperflüssigkeiten nachgewiesenen Hämolyse besaßen den Charakter der Serumhämolyse: Nach  $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen auf 55–60° C war die hämolytische Fähigkeit verschwunden und konnte erst durch Komplementzusatz wieder reaktiviert werden.

Differenzen in der hämolytischen Kraft der verschiedenen Körperflüssigkeiten waren je nach der verwendeten Blutart und der verwendeten Körperflüssigkeit zu konstatieren.

So löste die Transsudatflüssigkeit im allgemeinen die verschiedenen Blutkörperchen sowohl in schwächeren Zusatzdosen wie in kürzerer Zeitdauer auf, während die Exsudatflüssigkeiten größere Dosen zur Hämolyse verlangten. Unterschiede nach der Provenienz der Flüssigkeit, der Dauer der Erkrankung, die zum Erguß führte, waren nicht mit Sicherheit nachweisbar.

In einigen Fällen wurde außerdem die Agglutination differenter Blutkörperchen durch die verschiedenen Körperflüssigkeiten geprüft. Im wesentlichen erhielten wir Ergebnisse, die mit den Untersuchungen über die Hämolyse übereinstimmten. Die Blutkörperchen vom Menschen, Schwein und Huhn, die nicht der Hämolyse verfielen, wurden ebenso nicht agglutiniert.

Ein Vergleich der lösenden Fähigkeiten des menschlichen Serums



und der verschiedener Körperflüssigkeiten lehrte, daß in einigen Fällen die Lösungskraft der Transsudate speziell oft stärker ausfiel als die des Serums. In anderen Fällen wieder überwog die Hämolyse durch Serum. Kaninchenblutkörperchen wurden meist durch schwächere Zusatzdosen von Transsudatflüssigkeit gelöst.

Eine weitere Reihe von Untersuchungen beschäftigte sich mit dem Nachweis von Ambozeptoren in den Körperflüssigkeiten. In der Mehrzahl der Fälle wurden Ambozeptoren für differente Blutkörperchenarten in den verschiedenen Exsudaten und Transsudaten nachgewiesen und zwar schienen Transsudate einen erheblicheren Anteil an Immunkörpern zu enthalten wie Exsudate. Für menschliche Erythrocyten wurde weder im pleuritischen Exsudat noch in den einzelnen Ascitesflüssigkeiten ein Ambozeptorgehalt konstatiert.

Marshall konstatierte in einer Ascitesflüssigkeit sowohl Ambozeptoren für Ochsen- wie für Hammelblutkörperchen. Ebenso gelang es uns in einer Ascitesflüssigkeit (spezifisches Gewicht 1012), die einem Fall von Lebersarkom entnommen wurde, zwei differente Ambozeptoren für Ochsen- und Hammelblut nachzuweisen. Im Mischungsversuch, in dem Komplement (frisches Meerschweinchenserum), Ochsenblut und inaktivierte Ascitesflüssigkeit zusammengefügt waren, wurde die Lösung vermißt.

Wie aus den weiter unten auszuführenden Tabellen hervorgeht, beruht diese Hemmung der Hämolyse auf vorhandenem Antikomplement, das durch Zentrifugieren der Mischung Blut und Ascitesflüssigkeit und nachträglichem Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung entfernt werden konnte. Danach bewirkten noch 0,1 ccm der Ascitesflüssigkeit bei 0,1 ccm Komplementzusatz sowohl Lösung der Hammel- wie Ochsenblutkörperchen. Wurde der Ochsenblutambozeptor durch Digerieren der Ascitesflüssigkeit mit Ochsenblutkörperchen abgesättigt, so enthielt die abzentrifugierte Ascitesflüssigkeit noch Ambozeptoren für Hammelblutkörperchen.

Die Untersuchungen über den Komplementgehalt menschlicher Exsudate und Transsudate ergaben ebenfalls mit den Versuchen Marshalls übereinstimmende Resultate. Leider stand uns das Serum einer mit Menschenblut behandelten Ziege nicht zur Verfügung, so daß unsere sämtlichen Prüfungen mit dem Ambozeptor im Serum von mit Ochsenblut behandelten Kaninchen ausgeführt wurden. Zwei Ascitesflüssigkeiten, die zur Komplementierung benutzt wurden, reaktivierten die Mischung Ochsenblut mit inaktiviertem Kaninchenserum nicht, während eine Exsudatflüssigkeit, die in einem Fall von tuberkulöser Pleuritis gewonnen wurde, noch in einer Zusatzdosis von 0,05 ccm den Ambozeptor reaktivierte. Der Gehalt an Komplementen in pleuritischen Exsudatflüssigkeiten schien jedoch großen Schwankungen unterworfen zu sein. Zwei weitere Exsudate, die sich nach ihrem Eiweißgehalt, spezifischem Gewicht und bezüglich der Dauer der tuberkulösen Erkrankung nicht von den ersteren unterschieden, vermochten selbst in Zusatzdosen von 0,8 resp. 1,0 ccm den Ambozeptor nicht zu reaktivieren.

Eine Uebersicht über unsere tabellarischen Aufzeichnungen, die den Komplementgehalt der Exsudate und Transsudate betrafen, ergab im allgemeinen übereinstimmende Resultate mit den Marshallschen Prüfungen: Die Körperflüssigkeiten enthielten Komplemente zur Aktivierung verschiedener Ambozeptoren. Diese reaktivierende Kraft war verschieden stark ausgeprägt in den differenten Flüssigkeiten, so daß

keine konstanten Ergebnisse für unsere Exsudate und Transsudate erhalten wurden. Die komplementäre Eigenschaft der Körperflüssigkeiten war häufiger intensiver als die des entsprechenden Bluteserums.

Im zweiten Teil unserer Untersuchungen über den Gehalt der Exsudate und Transsudate an Hämolytinen und Antihämolytinen wurde die Untersuchungsmethodik Marshalls und Morgenroths bei der Prüfung von Ascitiden auf Antihämolytine angewandt. Marshall und Morgenroth fanden, daß am ausgesprochensten die antihämolytische Wirkung bei ihren Ascitesflüssigkeiten gegenüber der Kombination Menschenblutambozeptor einer mit Menschenblut behandelten Ziege und Meerschweinchenserum war. Ebenso stark war die antihämolytische Wirkung gegenüber der Kombination Ochsenblutambozeptor von mit Ochsenblut behandelten Kaninchen- und Meerschweinchenserum. Diese Untersuchungen deckten sich mit den Befunden, die beide Autoren über den Antihämolytinegehalt menschlicher Sera erhalten hatten. Wurden andere Kombinationen, in denen andere Ambozeptoren wie Komplemente verwandt waren, gewählt, so trat die antihämolytische Wirkung nur schwach auf oder fehlte gänzlich.

Unsere Versuchsanordnung schloß sich, um vergleichende Resultate zu verzeichnen, an die Methodik von Marshall und Morgenroth an. Zur Verwendung kamen sowohl Ochsen- wie Hammelblutkörperchen, die aus frisch defibriniertem Blute nach wiederholtem Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung gewonnen wurden. Die Blutkörperchen wurden zu 5 Proz. in 0,875-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, zu jedem Versuch stets 1 ccm dieser Aufschwemmung benutzt. Als Immunkörper wurde das inaktivierte Serum der mit Ochsen- wie Hammelblut vorbehandelten Kaninchen verwandt, als Komplement in der Mehrzahl der Fälle frisch gewonnenes Kaninchenserum, seltener Meerschweinchenserum. Letzteres erwies sich bisweilen zur Komplementierung von Immuneris, die auf Ochsen- oder Hammelblut eingestellt waren, ungeeignet, indem größere Quantitäten wie die gebräuchliche Zusatzdosis von 0,1 ccm, die in einigen Fällen stärkeren Hämoglobinaustritt bewirkte, mehr oder minder starke Lösung dieser Blutkörperchen herbeiführten. Auch normale Kaninchensera zeigten verschiedentlich, in Mengen von über 0,1 ccm verwandt, lösende Fähigkeit für Ochsen- und Hammelblut, jedoch, wie uns schien, weniger ausgesprochen und weniger häufig wie Meerschweinchensera. Solche Sera, die in größeren Zusatzdosen stärkeren Hämoglobinaustritt resp. leichtere Hämolyse verursachten, mußten zwecks brauchbarer Resultate ausgeschaltet werden. Die Transsudate und Exsudate, deren antihämolytische Wirkung ausgetitriert wurde, waren in jedem Falle durch  $\frac{1}{2}$ -stündiges Erwärmen auf  $58^{\circ}$  C inaktiviert. Wie in den Untersuchungen von Marshall und Morgenroth, wurde auch in diesen Prüfungen Wert auf eine genaue Wertbestimmung von Immunkörper und Komplement gelegt. Bei genügendem Komplementzusatz (0,1 ccm) wurde die Bindungskraft des jeweiligen inaktivierten Immuneriums in fallenden Zusatzdosen geprüft. Für die in analoger Weise ausgeführten Komplementbestimmungen wurde von der 2-fach lösenden Immunkörpermenge ausgegangen.

Die zur Verwendung gelangten Exsudate und Transsudate wurden zunächst auf ihre einfache antihämolytische Wirksamkeit geprüft, indem mittels des „Mischungsversuchs“ Ambozeptor, Komplement und inaktiviertes Exsudat resp. Transsudat gemischt wurden und nach  $\frac{1}{2}$ -stün-

digem Stehenlassen bei Zimmertemperatur die betreffende Blutkörperchenart zugesetzt wurde.

In zweiter Linie wurde, den Angaben von Marshall und Morgenroth folgend, die Antiambozeptorwirkung der Exsudate wie Transsudate geprüft. Zu dem Zwecke wurde Blut und Ambozeptor mit dem inaktivierten Exsudat gemischt, nach 1-stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur zentrifugiert, die Blutkörperchen mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und schließlich Komplement zugefügt. Der nachträgliche Zusatz des Komplements bewirkt in dieser Versuchsanordnung im Gegensatz zum „Mischungsversuch“, daß das Komplement ungeschwächt zur Wirkung gelangen kann. Ein etwa vorhandener Antiambozeptor kann sich nach dieser Methodik durch Bindung der cytophilen Gruppe des Ambozeptors dokumentieren. Im ersteren Falle, dem „Mischungsversuch“, würde danach die Antikomplementwirkung zu Tage treten, zumal Versuche lehrten, daß die Antiambozeptorwirkung meist geringer ausgesprochen war als die antihämolytische Wirkung im Mischungsversuch.

Nach den grundlegenden Versuchen von Marshall und Morgenroth war jedoch bei der Prüfung von Exsudaten und Transsudaten noch eine Möglichkeit in Betracht zu ziehen. Bei einer Ascitesflüssigkeit fanden diese Autoren, als sie diese auf den Gehalt an Antiambozeptoren untersuchten, ein völliges Fehlen jeder die Bindung des Ambozeptors hemmenden Substanz, indem selbst 1,5 ccm der Ascitesflüssigkeit die Bindung der zur kompletten Lösung nötigen Menge des Ambozeptors nicht hinderte. Zur Kontrolle wurden daher Ascitesflüssigkeit und Blut 1 Stunde bei Zimmertemperatur gehalten, dann zentrifugiert, dekantiert, die Blutkörperchen von neuem aufgeschwemmt und mit komplementhaltigem Serum versetzt. Dabei trat komplette Lösung ein, während bei der Mischung von Blut, Komplement und Ascitesflüssigkeit jede Lösung ausblieb. Morgenroth und Marshall schlossen daraus, daß in der Ascitesflüssigkeit ein auf Ochsenblut wirkender Ambozeptor vorhanden war, der jedoch gewöhnlich dadurch larviert wurde, daß ein gleichzeitig vorhandenes Antikomplement seine Komplettierung verhinderte. Denn sobald zentrifugiert und das Antikomplement mit der abgegossenen Flüssigkeit entfernt wurde, konnte der Ambozeptor reaktiviert werden. Für praktische Zwecke war es daher notwendig, bei der Untersuchung auf Antiambozeptoren den Ambozeptor vorher dadurch zu entfernen, daß derselbe zuvor mit Ochsenblutkörperchen zusammengebracht werden mußte, um durch Bindung an die Blutkörperchen aus der Ascitesflüssigkeit entfernt zu werden. Erst die auf diese Weise gereinigte Flüssigkeit kann auf Antiambozeptor- und Antikomplementgehalt untersucht werden.

Wir führen zunächst die Untersuchungen von zwei Ascitesflüssigkeiten an. Die erstere war in einem Fall von Lebercirrhose entnommen, die zweite wurde bei einem an schwerem Herzfehler mit allgemeiner Stauung leidenden Patienten gewonnen (Tabelle p. 276 a und b).

Der Mischungsversuch ergab nach vorliegender Tabelle also eine ausgesprochene antihämolytische Wirksamkeit der Ascitesflüssigkeit, indem noch 0,03 ccm im stande waren, die Lösung stärker zu hemmen. Zur Verwendung kamen in diesen Versuchen 0,05 ccm als Ambozeptor = 2mal lösende Dosis. Als Komplement wurde 0,1 ccm normales Kaninchenserum benutzt = 2mal lösende Dosis.

## I. Ascitesflüssigkeit (Lebercirrhose).

## a) Mischungsversuch.

Inaktiviertes auf Ochsenblut wirken- des Kaninchen- serum (Ambozeptor)	Normales Kaninchenserum (Komplement)	Inaktivierte Ascitesflüssig- keit	Blut	Lösung
0,05	0,1	0,5	1 ccm 5-proz. Ochsenblut	0
0,05	0,1	0,3		0
0,05	0,1	0,1		0
0,05	0,1	0,07		0
0,05	0,1	0,05		0
0,05	0,1	0,03		stärker
0,05	0,1	0,01		sehr stark
0,05	0,1	—		vollständig

## b) Bindungsversuch I.

Inaktiviertes auf Ochsenblut wirken- des Kaninchen- serum (Ambozeptor)	Inaktivierte Ascitesflüssig- keit	Blut	Normales Kaninchenserum (Komplement)	Lösung
0,05	0,5	1 ccm 5-proz. Ochsenblut	0,1	vollständig
0,05	0,3		0,1	"
0,05	0,1		0,1	"
0,05	0,07		0,1	"
0,05	0,05		0,1	"
0,05	0,03		0,1	"
0,05	0,01		0,1	"
0,05	—		0,1	"

Der Bindungsversuch führte jedoch zu dem überraschenden Resultat, daß selbst bei 0,5 ccm Zusatz der Ascitesflüssigkeit die Lösung komplett war. Danach schien jede die Bindung des Ambozeptors hemmende Wirkung ausgeschlossen zu sein. Es galt nun nach dem Vorgang von Marshall und Morgenroth, die Ascitesflüssigkeit auf larvierte Ambozeptoren zu prüfen.

## c) Nachweis von larvierten Ambozeptoren.

Inaktivierte Ascitesflüssig- keit	Blut	Normales Kaninchenserum (Komplement)	Lösung
0,5	1 ccm 5-proz. Ochsenblut	0,1	vollständig
0,3		0,1	"
0,1		0,1	stark
0,07		0,1	0
0,05		0,1	0
0,03		0,1	0
0,01		0,1	0
—		0,1	0

Die Versuchsanordnung war in diesem Falle folgende: Inaktivierte Ascitesflüssigkeit und Blutkörperchen wurden 1 Stunde bei Zimmer-temperatur in Kontakt gehalten, danach zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgossen und die Blutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung sorgfältig gewaschen. Nach dem Zusatz von 0,1 ccm komplementhaltigen Kaninchenserums trat noch bei 0,1 ccm Ascitesflüssigkeit starke Hämolyse auf. Im Kontrollversuch blieb dagegen bei Mischung von Ambozeptor, Blut, Komplement und Ascitesflüssigkeit die

Lösung vollständig aus. Der in der Ascitesflüssigkeit vorhandene Ambozeptor war also durch ein gleichzeitig vorhandenes Antikomplement verdeckt worden. Durch Zentrifugierung und Abgießen der das Antikomplement enthaltenden Flüssigkeit wurde erst der Ambozeptor nachgewiesen.

Es galt daher, um die Untersuchung der Ascitesflüssigkeit auf Antiambozeptoren zu vollenden, den Ambozeptor durch vorausgehende Bindung an Ochsenblutkörperchen zu entfernen. Zu dem Zwecke wurde die Ascitesflüssigkeit wiederholt mit Ochsenblut zusammengebracht, bis jede Ambozeptorwirkung verschwunden war.

## d) Bindungsversuch II.

Gereinigte Ascitesflüssigkeit	Inaktiviertes auf Ochsenblut wirkendes Kaninchenserum (Ambozeptor)	Blut	Normales Kaninchenserum (Komplement)	Lösung
0,5	0,05	1 ccm 5-proz. Ochsenblut	0,1	0
0,3	0,05		0,1	0
0,1	0,05		0,1	Spur
0,07	0,05		0,1	"
0,05	0,05		0,1	stärker
0,03	0,05		0,1	vollständig
0,01	0,05		0,1	"
0,01	—		0,1	"

Es gelang also in diesem Fall, in der Ascitesflüssigkeit sowohl Antikomplement wie Antiambozeptoren und Ambozeptoren nachzuweisen und quantitativ zu bestimmen.

Wir haben in derselben Weise den Gehalt einer pleuritischen Exsudatflüssigkeit an Antikörpern quantitativ bestimmt. Es handelte sich um ein Exsudat tuberkulöser Provenienz mit spezifischem Gewicht 1020.

## I. Mischungsversuch.

Inakt. Exsudatflüssigkeit	Inakt. auf Hammelblut wirkendes Kaninchenserum (Ambozeptor)	Normales Kaninchenserum (Komplement)	Blut	Lösung
0,5	0,003	0,1	1 ccm 5-proz. Hammelblut	0
0,3	0,003	0,1		0
0,1	0,003	0,1		0
0,07	0,003	0,1		Spur
0,05	0,003	0,1		stärker
0,03	0,003	0,1		vollständig
0,01	0,003	0,1		"
—	0,003	0,1		"

## II. Bindungsversuch.

Inakt. Exsudatflüssigkeit	Ambozeptor	Blut	Komplement	Lösung
0,5	0,003	1 ccm 5-proz. Hammelblut	0,1	vollständig
0,3	0,003		0,1	"
0,1	0,003		0,1	"
0,07	0,003		0,1	"
0,05	0,003		0,1	"
0,03	0,003		0,1	"
0,01	0,003		0,1	"
—	0,003		0,1	"

Vor der Verwendung wurden Leukocyten, Pleuraendothelien durch Zentrifugieren nach Möglichkeit entfernt und das Exsudat  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $56^{\circ}$  C im Wasserbad erwärmt. Als Immunkörper wurde ein auf Hammelblut eingestelltes Kaninchenserum zu 0,003 ccm (= 3-fach lösende Dosis) verwandt, als Komplement normales Kaninchenserum (Tabelle p. 277 I u. II).

Nach den Tabellen war in diesem Fall lediglich eine Antikomplementwirkung zu verzeichnen; die Prüfung auf Antiambozeptoren durch den Bindungsversuch ergab ein vollständiges Fehlen der die Bindung des Ambozeptors hemmenden Substanzen.

Die Prüfung auf larvierte Ambozeptoren hatte dieses Resultat:

### III. Nachweis von larvierten Ambozeptoren.

Inakt. Exsudatflüssigkeit	Blut	Komplement	Lösung
0,5	} 1 ccm 5-proz. Hammelblut	0,1	0
0,3		0,1	0
0,1		0,1	0
0,07		0,1	0
0,05		0,1	0
0,03		0,1	0

Larvierte Ambozeptoren waren also nach vorstehender Tabelle in dem pleuritischen Exsudat nicht nachweisbar.

Während die quantitative Prüfung der ersten Ascitesflüssigkeit den Nachweis von Antikomplement, Antiambozeptor und Ambozeptor gestattete, erhielten wir bei der gleichen Prüfung einer zweiten Ascitesflüssigkeit, die ebenfalls in einem Fall von Lebercirrhose gewonnen wurde, durchaus differierende Resultate. Im Mischungsversuch waren selbst 0,5 ccm der Ascitesflüssigkeit nicht im stande, die Lösung zu hemmen; danach war ein Antikomplementgehalt in der Flüssigkeit nicht anzunehmen. Ebenso ergab die Untersuchung auf Antiimmunkörper durch den Bindungsversuch ein völliges Ausbleiben der Hemmung der Hämolyse durch Bindung des Ambozeptors an einen Antiambozeptor: 0,5 ccm der Ascitesflüssigkeit hemmt die Lösung nicht. Die Kontrolle, in der inaktivierte Ascitesflüssigkeit auf Blut mit nachträglichem Komplementzusatz einwirkte, ergab das Fehlen von Ambozeptoren.

Diese Ascitesflüssigkeit unterschied sich bezüglich ihres Eiweißgehalts, ihres spezifischen Gewichts keineswegs von der ersteren, die ebenso in einem Fall von Lebercirrhose erhalten wurde.

Wir kommen danach zu dem Schluß, daß der Gehalt von Antikörpern in den Ascitesflüssigkeiten erheblichen Schwankungen unterliegen muß; während in einzelnen Flüssigkeiten drei differente Antikörper sich nachweisen ließen, fehlen in anderen selbst Spuren einer antihämolytischen Wirkung. Am ausgesprochensten erwies sich jedenfalls in der Mehrzahl der Fälle die antikomplementäre Wirkung, während sich Antiambozeptoren nur selten und in geringeren Mengen konstatieren ließen. In Exsudaten waren im allgemeinen stärkere antihämolytische Wirkungen anzutreffen.

In einem weiteren Fall einer pleuritischen Exsudatflüssigkeit tuberkulöser Provenienz gelang es, weder Antikomplement noch Antiambo-

zeptor zu konstatieren. Wir können auch diesen Fall in Kontrast zu dem erst angeführten setzen, in dem noch bei 0,05 ccm Zusatz des Exsudats eine Antikomplementwirkung ersichtlich war.

In dem Punkt können wir mit Marshall und Morgenroth übereinstimmen, daß sowohl für Ochsen- wie Hammelblutkörperchen in unseren positiv ausgefallenen Untersuchungen larvierte Ambozeptoren nachweisbar waren. Leider konnten aus äußeren Gründen die Versuche Marshalls und Morgenroths einer Einwirkung der Exsudatflüssigkeiten auf Menschenblut nicht nachgeprüft werden.

Wir schließen daher auf ein inkonstantes Vorkommen dieser Reaktionskörper in menschlichen Körperflüssigkeiten, das zur exakteren Differenzierung von Exsudaten und Transsudaten keinen Anhaltspunkt bietet und für weitere Untersuchungen nur theoretisches Interesse hat.

Wir fügen schließlich noch biologische Untersuchungen über die Cerebrospinalflüssigkeit bei Gesunden und pathologischen Prozessen an. In 5 Fällen, in denen die Cerebrospinalflüssigkeit zwecks Lumbalanästhesie entnommen wurde, zeigte die Flüssigkeit keine hämolytische Fähigkeit für Kaninchen und Meerschweinchenblutkörperchen, während das Serum normaler Menschen diese Blutkörperchen noch in sehr geringen Zusatzdosen zur Lösung brachte.

Eine in einem Fall von Meningitis cerebrospinalis gewonnene, ebenso zwei bei Hydrocephalus entnommene Flüssigkeiten verhielten sich ähnlich. Nur in einem Fall von Hydrocephalus trat eine auch makroskopisch sichtbare stärkere Agglutination der Kaninchenblutkörperchen durch die Lumbalflüssigkeit auf. Ebensowenig gelang uns der einwandfreie Nachweis von Antihämolysinen in den uns zur Verfügung stehenden Lumbalflüssigkeiten. Damit stimmen diese Untersuchungen mit den Resultaten Massaglias überein, der entgegen Bard fand, daß der normale wie pathologische Liquor cerebrospinalis jeder hämolytischen Eigenschaft bar ist.

Für diagnostische Zwecke ergaben unsere Untersuchungen keine brauchbaren Anhaltspunkte. Weder die Menge der Eiweißkörper in der Zusammensetzung der einzelnen Körperflüssigkeiten, die, wie Strauss und Wolff annehmen, die Stärke der Hämolyse in Exsudaten bedingen soll, noch ein konstanter Gehalt an Hämolysinen oder Antihämolysinen ließ differential diagnostische Schlüsse für die Trennung von Exsudaten und Transsudaten zu. Sowohl die Menge der einzelnen nachweisbaren Hämolysine wie der Grad der Lösungskraft war in der untersuchten Flüssigkeit verschieden, im Gegensatz zu den Hämolysinen des Blutserums, das in den allermeisten Fällen konstante Verhältnisse in dieser Beziehung bietet. Der Nachweis von Antihämolysinen und deren einzelnen Faktoren, Antikomplementen und Antiambozeptoren, konnte nur in einigen Fällen erbracht werden.

#### Literatur.

- 1) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXVII. 1900.
- 2) Ascoli, Münch. med. Wochenschr. 1901.
- 3) Landsteiner und Leiner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5.

- 4) Sweet, Ref. s. Biochem. Centralbl. 1904. No. 520.
- 5) Abbot und Bergey, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. Heft 4.
- 6) Lüdke, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 44.
- 7) Kentzler, Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 11.
- 8) Neisser und Doering, Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 22.
- 9) Lüdke, l. c.
- 10) Neisser, Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 49.
- 11) Marshall und Morgenroth, Zeitschr. i. klin. Med. Bd. XLVII. Heft 3/4.
- 12) Hedinger, Arch. f. klin. Med. Bd. LXXIV. 1902. Heft 1/2.
- 13) Strauss und Wolff, Fortschr. d. Med. 1902. No. 1.
- 14) Granström, Ref. s. Biochem. Centralbl. 1906. No. 304.
- 15) Grollo, Policlinico. Vol. XII. 1906. Fasc. 10. (Ref. s. Biochem. Centralbl. 1906. No. 11.)
- 16) Marshall, Studies from the Rockefeller Institute for Med. Research. Vol. III. 1905.
- 17) Massaglia, Ref. s. Biochem. Centralbl. Bd. V. 1906. No. 4/5.

*Nachdruck verboten.*

## Aussaat und Züchtung der obligaten Anaeroben im luftleeren Raume.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bologna.  
Vorstand: Prof. G. Sanarelli.]

Von Dr. U. Biffi, Privatdozenten.

Mit 1 Figur.

Wie bekannt, wird unter den Kulturmethode der Anaeroben diejenige wegen ihrer Zuverlässigkeit und verhältnismäßigen Einfachheit am meisten angewendet, welche darin besteht, dieselben in einem luftleeren Raume wachsen zu lassen. Auch diese Methode hat aber ihre Nachteile, unter denen der Zeitverlust bemerkenswert ist, welchen die vollständige Luftentfernung erfordert, besonders jenes Teiles der Luft, welche in dem Nährboden enthalten ist: sowie die Schwierigkeit, die Kulturgefäße luftdicht zu erhalten, ohne zu der Schließung mittels der Lampe Zuflucht zu nehmen, welche die Gefäße für späteren Gebrauch unbrauchbar macht.

Mit dem im Nachstehenden beschriebenen Apparat kann man die obengesagten Unzukömmlichkeiten größtenteils beseitigen.

Der Apparat besteht wesentlich aus einer dickwandigen Erlenmeyerschen Flasche von einem Gehalt von ungefähr 250 ccm, welche mit einem Gummistopfen geschlossen ist. Durch denselben geht ein Glasröhrchen, welches bis zum unteren Teil des Stopfens reicht, ohne denselben jedoch zu überragen; er ragt über die obere Fläche des Stopfens um ca. 3 cm hervor. In das Glasröhrchen wird ein Stück Gummischlauch von passendem Kaliber und in der Länge von ungefähr 8 cm eingeführt. Der letztere trägt an seinem obersten Ende noch ein kleines Glasrohr von ungefähr 2 cm Länge, welches an der Stelle, wo es in dem Gummischlauch angebracht wird, etwas verengt ist. Das äußerste freie Ende wird mit Watte verstopft.

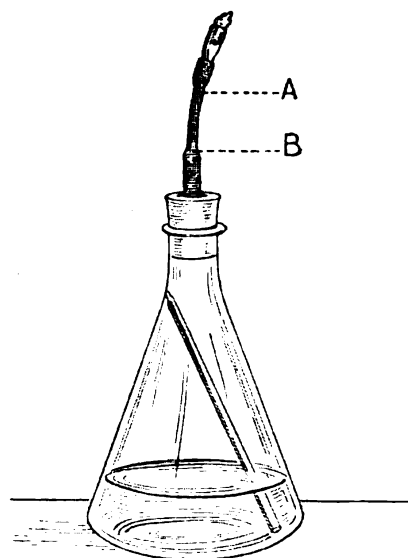
Man füllt die Flasche mit Bouillon oder mit einer anderen Kulturflüssigkeit bis zu ca.  $\frac{1}{3}$  ihrer Höhe und taucht ein dünnes Glasröhrchen hinein (2—3 mm innerer Durchmesser) so lange, daß, wenn es in der Flasche freigelassen wird, sein oberes Ende beinahe den Stopfen erreicht. Dieses Röhrchen muß an dem Ende, welches dem Stopfen zugekehrt



ist, geschlossen sein, während das andere Ende, welches in die Flüssigkeit getaucht ist und den Grund der Flasche berührt, offen bleibt. Wie man leicht versteht, dient dasselbe als Anzeichen des Druckes.

Der Apparat wird in dem Autoklaven sterilisiert; während dessen füllt sich das Manometerröhrchen mit der Flüssigkeit und bleibt auf diese Weise gebrauchsfertig. Darauf bewirkt man den hermetischen Verschuß durch eine dünne Schicht von Kanadabalsam (dieselbe Lösung in Xylol, die man für das Einschließen der Präparate benutzt) an allen Stellen, in welchen das Gummi des Stopfens mit dem Glas in Berührung kommt. Der Verschuß, welcher dadurch zu stande kommt, ist vollständig und sehr dauerhaft.

Nachdem der Apparat in dieser Weise vorgerichtet ist (die Figur enthebt mich eingehenderer Auseinandersetzungen), läßt man die Kulturflüssigkeit sieden, indem man die Flasche direkt auf einem Drahtnetz erhitzt. Die Erhitzung muß mit Vorsicht geschehen, damit die Flüssigkeit nicht etwa auf einmal in stürmische Wallung gelangt und teilweise aus dem oberen Rohr überläuft. Wenn der Nährboden im Begriff ist, zu sieden, was man an dem Erscheinen kleiner Bläschen in der Nähe des Manometerröhrchens bemerkt, nimmt man den Wattebausch heraus, indem man ihn mit der Cornetschen Pincette anfaßt, und legt denselben beiseite, in der Weise, daß die Watte in keine Berührung mit anderen Gegenständen kommt. Sobald der Dampf kräftig aus der obersten



Oeffnung des Rohres zu entweichen anfängt, ergreife man den Gummischlauch an seinem mittleren Teile zwischen *A* und *B* mit einer Péanschen Pincette, wie wenn man ein Blutgefäß bei einer chirurgischen Operation schließen wollte, und indem man gleichzeitig mittels der geschlossenen Pincette die ganze Flasche in die Höhe hebt, entfernt man sie sofort vom Feuer und stellt sie anderswo nieder. Man wird den Wattebausch wieder an seinen Platz bringen, nachdem man ihn durch die Flamme gezogen hat. Es ist nun angezeigt, die Péansche Pincette durch eine kleine Hoffmannsche Pincette mit Schraube zu ersetzen, welche den leeren Teil des Gummischlauches an seinem unteren Ende *B* zusammenpreßt. Es ist wohl überflüssig, zu sagen, daß man die Hoffmannsche Pincette sorgfältig zusammenpressen muß, ehe man die Pincette Péans herauszieht, um den Luftzutritt zu vermeiden.

Nachdem der Apparat abgekühlt ist, kann er angewendet werden. In seinem Innern entspricht der negative Druck dem atmosphärischen, welcher um so viel vermindert ist, als die Dampfspannung beträgt. Die Bedingungen für die Anaërobiose sind offenbar vollkommen erfüllt. Die Flasche bleibt während ziemlich langer Zeit wegen des hermetischen Verschlusses, welchen der Kanadabalsam bewirkt hat, luftleer. Ich habe monatelang hindurch einige dieser Apparate im Laboratorium aufbewahrt, ohne daß das Manometerröhrchen auch nur die geringste Veränderung des inneren Druckes angezeigt hätte. Das sehr empfindliche Manometer

zeigt eben an, ob der Apparat in dem Moment, in welchem man sich seiner bedienen will, gebrauchsfertig ist. Diese Gefäße können also in dem Laboratorium bereit stehen, und mittels derselben bedarf die Einrichtung einer streng anaëroben Kultur nicht viel mehr Zeitaufwand, als man für eine gewöhnliche Kultur verwendet.

Die Aussaat wird auf folgende Weise ausgeführt: Wenn das Kulturmaterial nicht flüssig ist, suspendiert man es in einer kleinen Quantität steriler Flüssigkeit und gießt es durch eine Pasteursche Pipette in den Gummischlauch, so daß es dessen freien Teil zwischen *A* und *B* ausfüllt. Indem man den Schlauch wiederholt zwischen dem Zeigefinger und dem Daumen zusammendrückt, vergewissert man sich, daß in der Flüssigkeit keine Luft eingeschlossen bleibt. Alsdann bringt man eine zweite Hoffmannsche Pincette in dem oberen freien Teil des Gummischlauches, bei *A*, an und nimmt die erste, bei *B* angebrachte weg. Die in dem Raume zwischen *A* und *B* des Gummischlauches enthaltene Flüssigkeit wird in den darunter stehenden Nährboden fallen. Es ist klar, daß die Menge der Flüssigkeit, welche man aussät, hinreichend sein muß, um den Raum zwischen *A* und *B* des Gummischlauches vollständig anzufüllen, sonst würde eine kleine Quantität Luft mit dem Sæstoff in den Apparat dringen. Nach der Aussaat muß das Manometerrohrchen zum Beweis, daß die Operation gut vollzogen wurde, leer bleiben.

Ich bediene mich dieses Apparates schon seit mehreren Jahren und kann versichern, daß er sehr gut funktioniert. Es ist jedoch nötig, bei dessen Herstellung eine gewisse Aufmerksamkeit anzuwenden, um Mißerfolge zu vermeiden. Die Erlenmeyersche Flasche muß dickwandig sein, um dem Luftdruck widerstehen zu können<sup>1)</sup>. Wenn man gewöhnliche Gefäße benutzen will, ist eine runde, kolbenförmige Flasche vorzuziehen, welche eine größere Widerstandsfähigkeit besitzt. Das Glasrohrchen soll, wie gesagt, die untere Fläche des Gummistopfens erreichen, aber nicht über dieselbe hinausgehen; man wähle ein dickwandiges und daher mit engem Lumen versehenes Röhrchen. Der Gummischlauch muß von sehr guter Qualität sein. Was die Größe desselben betrifft, so hat derjenige, welchen ich benutze, einen äußeren Durchmesser von 9 mm und eine Wand von der Dicke von 1,5 mm.

*Nachdruck verboten.*

## Eine neue praktische Methode für anaërobische Bacillenkulturen.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie an der Universität Rom.]

Von Dr. N. Pende und Dr. L. Viviani.

Die große Zahl von Methoden und Apparaten, die bisher für anaërobische Bacillenkulturen vorgeschlagen worden sind, ist ein Beweis für die Schwierigkeiten, die derartigen Kulturen im Wege stehen und

1) Jede Glasfabrik, welche gewöhnliche Erlenmeyersche Flaschen liefert, kann auch solche mit widerstandsfähigen Wänden liefern, welche in derselben Form wie die gewöhnlichen gemacht werden. Ihr Preis ist daher auch nur wenig höher. Diejenigen, deren ich mich bediene, wurden von Schott & Genossen in Jena fabriziert. Ihr Inhalt ist 250 ccm und das Gewicht 110 g.

somit das Studium dieser Bacillen in der klinischen Praxis noch nicht zur wünschenswerten Verbreitung haben gelangen lassen.

Ohne auf sämtliche im Gebrauch befindlichen Methoden hier einzugehen, erinnern wir nur daran, daß das verhältnismäßig einfache Verfahren von Liborius-Veillon, welches wohl am häufigsten angewandt wird, auf flüssige Kulturen nicht angewendet werden kann, und daß das allerneueste von Tarozzi — dem üblichen Nährboden frische, aseptisch entnommene Stücke von tierischen Organen hinzuzufügen, die es den anaerobischen Bacillen ermöglichen, sich auch an der Luft zu entwickeln — an sich von gutem Erfolg, aber teuer und umständlich ist.

Wir möchten auf ein wirklich praktisches Verfahren hinweisen, nach welchem eine anaerobische Kultur ebenso sicher und leicht gelingt wie eine aerobische, ohne kostspielige Apparate oder zeitraubende Vorbereitungen zu erfordern.

Unser kleiner Apparat besteht einfach aus einer Glasröhre, die an beiden Enden geschlossen ist und reines Wasserstoffgas in starker Verdünnung enthält. Das eine Ende der Röhre ist in eine feine Spitze von ca. 1 mm Durchmesser ausgezogen; bricht man diese unter der Oberfläche einer Flüssigkeit ab, so wird ein Teil der letzteren von der Röhre absorbiert. Nachdem dies geschehen, kann man die Spitze bequem an einer Flamme wieder zuschmelzen, ohne daß Luft eindringt, da die in der Röhre enthaltene Flüssigkeit das feine Kapillarende luftdicht abschließt.

Die Glasröhren werden folgendermaßen hergestellt:

So lange die Röhre noch an beiden Enden offen ist, wird ein Strom von reinem Wasserstoffgas durchgeleitet, bis alle Luft aus ihr vertrieben ist (der ausströmende Wasserstoff brennt dann farblos) — dann wird das ausgezogene spitze Ende rasch zugeschmolzen, während das andere noch mit dem Wasserstoffbehälter in Verbindung bleibt. Hierauf wird die ganze Röhre fast bis zum Schmelzpunkt des Glases erhitzt und dann auch das andere Ende rasch zugeschmolzen.

So hat man eine geschlossene Röhre, die vollkommen reines, aseptisches, durch die nachfolgende Abkühlung stark verdünntes Wasserstoffgas enthält.

Will man eine Kultur anlegen, so gießt man die infizierte Nährflüssigkeit in ein sterilisiertes Gläschen oder eine Petri-Schale. Handelt es sich um Agar- oder Gelatinekulturen, so wird der Nährboden erst durch Erwärmung flüssig gemacht, bis auf  $+45^{\circ}$  wieder abgekühlt, besät und rasch in die Röhre aufgesogen.

Um die Flüssigkeit aufsaugen zu lassen, wird die feine Spitze an einer Flamme sterilisiert, abgekühlt, eingetaucht und unter der Oberfläche mit einer sterilisierten Schere abgebrochen. Man halte die Spitze sorgfältig unter der Oberfläche, da die Flüssigkeit rasch und plötzlich eindringt. Die Röhre füllt sich für gewöhnlich bis zu  $\frac{2}{3}$  ihrer Höhe; dann wird die angebrochene Spitze wieder zugeschmolzen und die Röhre in den Thermostaten gestellt. Hält man sich eine Anzahl fertiger Röhren vorrätig, so kann man im Bedarfsfalle sehr schnell beliebig viele Kulturen anlegen. Gibt man dem mittleren Teil der Röhre die Gestalt einer Petrischen Kapsel (was die Sache allerdings verteuert), so kann man auch Plattenkulturen darin anlegen.

Für die Herstellung der Glasröhren wären zwei Typen vorzuschlagen: dünnere von ca. 1 cm Durchmesser, um die Nährflüssigkeit ohne weiteres Umgießen gleich aus den üblichen Probierröhrchen zu saugen, und weitere

von ca. 2 cm Durchmesser, um Kulturen in größerer Menge oder Flächenkulturen auf Agar und Gelatine oder aufgerollte Plattenkulturen anzulegen.

Diese beiden Typen dürften in der Praxis genügen.

Außerdem eignen sich die Röhren besonders gut, um die von den anaerobischen Keimen entwickelten Gase aufzufangen und der Analyse zugänglich zu machen. Die Herstellungskosten sind die denkbar geringsten<sup>1)</sup>.

*Nachdruck verboten.*

## Vergleichende Untersuchungen über die Eigenschaften des Sublimats und Sublamins.

[Aus der bakteriologischen Abteilung bei der Kgl. Technischen Hochschule Hannover. Vorstand: Prof. Dr. v. Drigalski.]

Von Dr. Francesco Scordo.

Die nachteiligen Folgen des zu Desinfektionszwecken unentbehrlichen Sublimates haben immer wieder nach Ersatzmitteln suchen lassen; z. B. reizt es die Haut und ist nicht selten Ursache heftiger, langdauernder Ekzeme und starker Rauheit und Sprödigkeit der Hände, Umstände, welche die Wirksamkeit je länger je mehr beeinträchtigen.

Auch kennen die Chirurgen und die Dermatologen sehr wohl die unangenehmen Folgen, welche die Anwendung des Sublimats zu Zwecken der Hautdesinfektion bei denjenigen Kranken mit sich bringt, welche an Ekzem leiden oder dazu neigen. Diese nachteiligen Eigenschaften treten besonders auf, wenn zwingende Gründe die Anwendung des Sublimats in konzentrierter Form als üblich erfordern.

Ueberdies hat das Sublimat bei Hautdesinfektionen eine nur schwache Tiefenwirkung, wie Doederlein und Gottstein mit Hilfe dünner Hautausschnitte gezeigt haben und Blumberg bestätigt hat. Das kommt daher, daß das Sublimat die eiweißartigen Stoffe gerinnen macht. Und weil zahlreiche und wertvolle Versuche demonstriert haben, daß die mechanische Desinfektion der Hände allein nicht genügt, vielmehr die mechanische Desinfektion mit der durch chemische Mittel kombiniert werden muß, so hat sich denn immer mehr das Bedürfnis eingestellt, dieses Desinfektionsmittel durch ein anderes zu ersetzen, welches einerseits die Wirksamkeit des Sublimats besäße, andererseits ohne die oben erwähnten schädlichen Einflüsse wäre.

Seit einigen Jahren hat das Haus Schering in Berlin ein neues Präparat, das Sublamin, herausgegeben, welches Quecksilbersulfat-Aethyldiamin ist und der Formel  $\text{HgSO}_4 \cdot 2 \text{C}^2\text{H}^8\text{N}^2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  entspricht. Es enthält also auf 1 Molekül Quecksilbersulfat, 2 Moleküle Aethyldiamin und 2 Moleküle Kristallwasser.

Es bildet weiße Nadeln, die in Wasser und in Glycerin sehr leicht löslich sind. Es enthält 44 Proz. Quecksilber; also hat  $1\frac{2}{3}$  g Sublamin, dieselbe Quantität Hg wie 1 g Sublimat.

1) Der Apparat ist im Januar 1907 in einer Sitzung der med. Akad. in Rom vorgeführt worden. Wir haben seine Zweckmäßigkeit mit Kulturen von streng anaerobischen Bacillen (z. B. des Welch-Fränkelschen Gasbacillus) zu wiederholten Malen erprobt.

Wegen seines Gehaltes an Aethylendiamin würde das Sublamin den Vorteil haben, die eiweißartigen Stoffe nicht gerinnen zu lassen und dadurch tiefer als das Sublimat zu wirken. Es gibt mit Seifenlösung keinen Niederschlag.

An diese Eigenschaften reiht sich, nach Blumberg, jene sehr schätzbare, daß das Sublamin keine Hautreizung bewirkt, und deshalb auch bei Anwendung von stärkeren Lösungen die Hände desjenigen nicht rauh macht, welcher zu einem gewohnheitsmäßigen Gebrauch des Mittels gezwungen ist.

Blumberg nahm gleich Veranlassung zu einer Untersuchung desselben, und er fand, daß es keine Hautreizung hervorbrachte, und daß es auch die Hände des Chirurgen nicht spröde machte<sup>1)</sup>. Außerdem machte er bakteriologische Versuche mit dem *Micrococcus tetragenus*, welcher für Mäuse hochpathogen, für Menschen dagegen nicht pathogen ist. Wir wollen von der Darstellung der Methode absehen und nur hinweisen auf den Vortrag, gehalten auf dem XXX. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie zu Berlin, 11. April 1901<sup>2)</sup>. Er zieht aus seinem Versuche den Schluß, daß das Quecksilbersulfat-Aethylendiamin dem besten der bekannten Desinfektionsmittel, dem Sublimat an Desinfektionskraft nicht nachsteht.

Da das Präparat in Deutschland erstaunlich rasch — insbesondere bei Frauenärzten und Geburtshelfern — Eingang gefunden hat, unterzog ich seine Eigenschaften weiteren Prüfungen.

Ich stellte mir die weitere Aufgabe, eine durchgreifende und genaue Vergleichung des Sublamins und des Sublimates vorzunehmen.

Zu diesem Zweck habe ich verschiedene Lösungen von Sublamin und von Sublimat hergestellt und habe mit gewöhnlichen Nährböden und mit verschiedenen Mikroorganismen — *B. coli commune*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Milzbrandbacillus*, *B. pyocyaneus* — die verschiedensten Experimente bezüglich der Zeit der Einwirkung und der Quantität des Desinfektionsmittels gemacht.

Ich habe in Reagenzgläsern mit destilliertem sterilem Wasser von jedem Mikroorganismus zahlreiche Keime hineingebracht; dann habe ich in diese Reagenzgläser Tropfen der verschiedenen Lösungen gegeben und zwar in der Weise, daß die Quantität der Lösungen in den einzelnen Gläsern in einem bestimmten Verhältnis zunahm. Aus diesen Reagenzgläsern nahm ich nach verschiedenen Zeiträumen mehrere Oesen des Inhalts heraus, welche ich in Bouillon- und in Peptonwasserröhrchen hineinbrachte. Die Spuren des Desinfektionsmittels, welche beim Transport der bakteriischen Keime an der Oese haften bleiben, haben keinen Einfluß auf die Entwicklung der Keime in der Nährflüssigkeit, wie zahlreiche Kontrollversuche erwiesen.

Aber um auch einen derartigen Zweifel völlig auszuschließen, habe ich, ehe ich die Oesen nahm, Schwefelammonium in die Reagenzgläser getan, und zwar in so großer Menge, daß das Desinfektionsmittel dadurch neutralisiert wurde.

Auch auf diese Weise erzielte ich immer den obigen völlig gleichmäßig entsprechende Resultate. Dasselbe Experiment wurde wiederholt mit dem Peptonwasser und mit der Bouillon.

1) Die Reizlosigkeit wurde ebenfalls von Kroenig, Imre, Dorn und vielen Anderen bestätigt, welche mit dem Sublamin experimentiert haben.

2) Arch. f. klin. Chir. Bd. LXIV. Heft 3.

Ich habe mich ferner bemüht zu untersuchen, welche Quantität von jedem der beiden Desinfektionsmittel — dem Sublamin und dem Sublimat — den Nährböden hinzugefügt werden muß, um die Entwicklung der Keime eben noch sicher zu verhindern. Zu dem Zweck wurden einige Tropfen der Desinfektionsflüssigkeiten in gleichmäßig zunehmenden Mengen sowohl in Peptonwasser und in Bouillon als auch in Agar und Gelatine gebracht. Das Agar und die Gelatine wurden nach dem Zusatze des Desinfektionsmittels in Platten oder Reagenzgläser (schräg) ausgegossen. Alsdann wurden daraus Streifen geschnitten und abermals in reichliche Mengen von Bouillon verbracht.

Ich möchte mich nicht damit aufhalten die Resultate meiner Versuche in Tabellen zusammenzustellen, vielmehr will ich dieselben so kurz wie möglich mit folgenden Worten resumieren: so sehr ich auch die Experimente und die Mikroorganismen variiert habe, stets waren die Resultate, abgesehen von wenigen ganz unwesentlichen Verschiedenheiten, dieselben; damit soll gesagt sein, daß dieselben Mengen von Sublamin — von besonderen Umständen abgesehen — auch dieselbe keimtötende Wirkung hatten und fähig waren, die Nährböden für die Entwicklung der Keime im allgemeinen so ungeeignet zu machen, wie eine gleiche Menge Sublimat.

Nur selten habe ich einen kleinen Vorteil des Sublimats vor dem Sublamin bemerken können.

Um zu sehen, ob die beiden Desinfektionsmittel die Milzbrandsporen in derselben Zeit vernichteten, habe ich kurze sterile Seidenfäden 24 Stunden in eine frische sporenhaltige Milzbrandbouillonkultur gelegt.

Dann wurden sie getrocknet und in die verschiedenen Sublamin- und Sublimatlösungen gelegt, dann in destilliertem und sterilem Wasser abgespült, kurze Zeit in Schwefelammonium gehalten, von neuem in destilliertem und sterilem Wasser abgespült und in Bouillon gebracht. Bei diesem Vorgehen habe ich keinen Unterschied zwischen den keimtötenden Kräften der zwei Desinfektionsmittel feststellen können. Nach 3 Tagen hatten die beiden 1-prom. wässerigen Lösungen alle Sporen getötet. Die 3-prom. Sublaminlösung hatte dasselbe in 2 Tagen bewirkt. Die 5-prom. Sublimat- und Sublaminlösungen hatten, mit einigen Ausnahmen, nach 1 Tage die Seidenfäden steril gemacht. Keine von diesen Lösungen hatte nach 3 Stunden alle Sporen getötet. Wenn man einige Tropfen einer 1-prom. wässerigen Sublimatlösung in Peptonwasser gießt, sieht man gleich eine deutliche Trübung, während das Peptonwasser, wenn man dieselbe Probe mit dem Sublamin wiederholt, gänzlich klar bleibt. Mit konzentrierten Lösungen Sublimats ist die Trübung natürlich noch stärker und nach kurzer Zeit sieht man die Bildung von Flöckchen, welche auf den Grund fallen.

Dasselbe Phänomen hat man mit Eiweißwasser. Mit Pferdeserum ist es nötig, eine größere Quantität Sublimatlösung hinzuzufügen, um diese Trübung zu erhalten; während es mit gleichen Quantitäten Sublamins immer klar bleibt.

Aus diesem Grunde hat das Sublamin einen großen Vorteil, wenn kleine Schnitte und Risse der Haut oder Wunden zu desinfizieren sind. Die durch das Sublimat bewirkte sofortige Eiweißgerinnung, welche zum Teil die Ursache seiner sehr geringen Tiefenwirkung ist, fällt bei Anwendung des Sublamins ganz fort.

### Tierversuche.

In ungefähr 10 ccm Pferdeserum habe ich in genügender Anzahl *Micrococcus tetragenus* gesetzt, dessen Pathogenität zuvor erprobt war. Dann habe ich eine gleiche Quantität von einer 1-prom. wässerigen Sublaminlösung hinzugefügt; dieselbe Operation wiederholte ich mit destilliertem Wasser an Stelle des Pferdeserums. Nach 15 und auch 10 Minuten fügte ich einige Tropfen Schwefelammonium hinzu, und impfte die Mäuse mit  $\frac{1}{4}$  ccm dieser Flüssigkeit. 10 so geimpfte Mäuse blieben am Leben, außer einer, bei welcher ich jedoch bei der Nekroskopie keine bemerkenswerte Wirkung habe sehen können: die Milz war nicht vergrößert. Die bakteriologische Untersuchung sowohl der Milz als des Blutes ergab keinen *Micr. tetragenus*.

Andere Mäuse, die in derselben Weise mit Sublaminlösung geimpft waren, lebten ebenfalls weiter. Das Kulturverfahren mit Bouillon ergab gleichfalls, daß die *Micr. tetragenus* vollständig abgetötet waren.

Ich habe auch versucht zu sehen, ob das Sublamin bei subkutaner Einverleibung toxischer als das Sublimat war und habe es Kaninchen eingeimpft; aber ich habe keinen Unterschied bemerken können. Sowohl auf Sublamin als auch mit Sublimat zeigte sich gleich eine heftige Albuminurie, die Tiere starben. Bei der Obduktion fand ich jedesmal starke Nierenentzündung.

Es bleibt noch zu sagen übrig, daß die im Dunkeln aufbewahrten verschiedenen Lösungen noch nach mehr als 2 Monaten ihre keimtötende Wirkung behalten haben. Auch bewahren sie ihre desinfizierende Wirkung nach Erwärmung auf 100° C. Die wenigen bakteriologischen Untersuchungen über das Sublamin wurden bisher von zahlreichen klinischen Erfolgen bestätigt, von welchen zu sprechen ich der Kürze wegen unterlasse. Vielmehr beschränke ich mich darauf, die bezüglichen Arbeiten anzuführen.

Aus meinen Versuchen ziehe ich folgende Schlüsse:

1) Das Sublamin besitzt eine keimtötende und sporentötende Wirkung, welche der des Sublimats gleich ist oder dieser nur sehr wenig nachsteht.

2) Wenn man das Sublamin in 3-prom. oder auch in stärkerer Lösung gebraucht, was wegen seiner chemischen Eigenschaften ohne Schaden für die Haut geschehen kann, so ist die desinfizierende Wirkung viel größer als in gewöhnlicher Lösung von 1-prom. Sublimat.

3) Das Sublamin besitzt die Fähigkeit, die Nährböden fast in demselben Verhältnis wie das Sublamin für die Entwicklung der Keime ungeeignet zu machen.

4) Aus meinen Versuchen ergibt sich nicht, daß das Sublamin, subkutan einverleibt, weniger giftig als das Sublimat ist.

5) Das Sublamin macht auch in konzentrierter Lösung die Eiweißlösung nicht gerinnen, während wenige Mengen von 1-prom. Sublimatlösung eine deutliche Trübung hervorrufen.

6) Die Sublaminlösungen bewahren ihre desinfizierende Wirkung wenigstens 10 Wochen lang.

### Literatur.

Kroenig und Blumberg, Wert der mechanischen und Alkoholdesinfektion der Hände gegenüber der Desinfektion mit Quecksilbersalzen, speziell dem Quecksilber-Aethylendiamin. (Münch. med. Wochenschr. 1900.)

- Schenk und Zaufal, Weitere Beiträge zur Bakteriologie der mechanisch-chemischen Desinfektion der Hände. (Münch. med. Wochenschr. 1900.)
- Krönig, Sublamin als Händedesinficiens. (Monatsschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. XX.)
- Blumberg, Experimentelle Untersuchungen über Quecksilbersulfat-Aethylendiamin in fester Form als Desinfektionsmittel für Hände und Haut. (Arch. f. klin. Chir. 1901.)
- Paul und Sarwey, Experimentaluntersuchungen über Händedesinfektion. (Münch. med. Wochenschr. 1901.)
- Engels, Lysoform, Bacillol und Sublamin in wässriger Lösung als Händedesinfizienten nach Vorbehandlung der Hände mit Alkohol. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1902.)
- Danielsohn und Hess, Alkohol und Sublamin als Händedesinfektionsmittel. (Deutsche med. Wochenschr. 1902.)
- Imre, Das Sublamin als Desinfektionsmittel der Conjunctiva. (Die Heilkunde. 1903.)
- Mendel, Zur endovenösen Applikation der Medikamente. (Therap. Monatsh. 1903.)
- Dorn, Verwendung von Quecksilberpräparaten als Desinfektionsmittel in der Rindviehpraxis. 1905.
- Doederlein und Kroenig, Operative Gynäkologie. Leipzig (Thieme) 1905.
- Rahne, Einiges über Sublamin. (Deutsche tierärztl. Wochenschr. Jahrg. XIII.)

*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.

- Biff, U.**, Aussaat und Züchtung der obligaten Anaeroben im luftleeren Raume, p. 280.
- Caminiti, E.**, Ueber eine neue Streptothrixspecies und die Streptothricheen im allgemeinen, p. 193.
- Dohi, Sh.**, Ueber das Vorkommen der Spirochaete pallida im Gewebe, nebst einigen Bemerkungen über Spirochätenfärbung und die Kernfärbung mit Silber imprägnierter Präparate, p. 246.
- Ehrmann, S.**, Ueber die Beziehungen der Spirochaeta pallida zu den Lymph- und Blutbahnen, sowie über Phagocytose im primären und sekundären Stadium, p. 223.
- v. Linstow**, Neue und bekannte Nematoden, p. 265.
- Lüdke, H.**, Ueber Hämolysine und Anti-hämolysine in menschlichen Transsudaten und Exsudaten, p. 268.
- Mola, Pasquale**, Ueber eine neue Cestodenform, p. 256.
- Neumann, Georg**, Beitrag zur Kenntnis der Erreger der Kälberruhr, speziell der Colibacillose, p. 213.
- Pende, N. und Viviani, L.**, Eine neue praktische Methode für anaerobische Bacillenkulturen, p. 282.
- Preisz, H.**, Ueber das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus, p. 209.
- Scordo, Francesco**, Vergleichende Untersuchungen über die Eigenschaften des Sublimats und Sublamins, p. 284.
- Tizzoni, Guido und Panichi, Luigi**, Weitere experimentelle Untersuchungen über die Pellagra, p. 210.
- Zschokke, F.**, Moniezia diaphana n. sp. Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Cestoden aplacentaler Säugetiere, p. 261.



Ein Beitrag zur kulturellen Differenzierung der  
Kapselbacillen.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militär-sanitätskomitees in Wien (Vorstand: Reg.-Arzt Dr. R. Doerr).]

Von Reg.-Arzt Dr. Viktor K. Russ.

Mit 1 Figur.

Bei einer Reihe von pathologischen Prozessen verschiedenster Art finden sich Mikroorganismen, die in kultureller wie morphologischer Hinsicht große Aehnlichkeiten zeigen. Man faßte sie kurz als Gruppe der „Kapselbacillen“ zusammen. Die von den ersten Entdeckern beschriebenen Differenzen von bereits bekannten Stäbchen dieser Art konnten im Verlaufe der zahlreichen späteren Untersuchungen anderer Autoren als inkonstant festgestellt werden, wodurch natürlich eine Abgrenzung einzelner Species nahezu unmöglich geworden war; die Provenienz entschied meist die Bezeichnung. Daraus ergab sich als Konsequenz, daß von einzelnen Forschern entweder die ätiologische Bedeutung eines bei irgend einer Erkrankung gefundenen Kapselbacillus überhaupt geleugnet oder aber auf Grund der kulturellen Untersuchung der Schluß gezogen wurde, daß ein und dieselbe Bakterien-species einmal die eine, einmal die andere pathologische Veränderung hervorrufen könne.

Es würde zu weit führen, wollte man die genannte Literatur auch nur auszugsweise wiedergeben, zumal die vorzügliche Zusammenstellung Abels im „Handbuch der path. Mikroorganismen“ (Kolle-Wassermann) und die kurz vorher erschienene Arbeit Clairmonts (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX) einen umfassenden Ueberblick gewährt. Es sei nur kurz hervorgehoben, daß die bisherigen Versuchen einer Differenzierung auf kulturellem Wege als fehlgeschlagen zu bezeichnen sind.

Die Mitteilungen von Porges<sup>1)</sup> und Eisler u Porges<sup>2)</sup> über die Agglutination und Präzipitation der Kapselbacillen zeigten zuerst in einwandfreier Weise, daß mit dieser Methode tatsächlich eine Artunterscheidung möglich sei; danach müßte man also morphologisch und kulturell nahezu vollständig identische Mikroorganismen verschiedenen Species zurechnen.

Bevor noch diese wichtigen Tatsachen konstatiert waren, hatte ich es mir zur Aufgabe gestellt, an einer größeren Zahl (26) von Stämmen auf Grund chemischer Leistungen den Versuch zu machen, die einzelnen Arten voneinander zu differenzieren.

Die von mir in Untersuchung gezogenen Kulturen verdanke ich teils der Liebenswürdigkeit mehrerer Autoren, teils züchtete ich mir selbst Stämme aus verschiedenen Materialien und reihte diese letzteren in jene Gruppen ein, in welche sie nach ihrer Herkunft gehörten.

Alle Stämme wurden natürlich vorher auf ihre Reinheit geprüft und dahin untersucht, ob sie die für Kapselbacillen charakteristischen Merkmale besäßen (gramnegative Kurzstäbchen, mit abgerundeten Enden,

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 1905.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. 1906.

geringer Tendenz zur Fadenbildung, fehlende Eigenbewegung, Kapselbildung im Tierkörper, Nichtverflüssigung der Gelatine, schleimiges und üppiges Wachstum auf Agar und Kartoffel etc.). Es sollen nun die verwendeten Stämme in folgender Gruppeneinteilung aufgezählt werden:

Gruppe I. *B. lactis aërogenes* Escherich:

- |       |              |                      |
|-------|--------------|----------------------|
| No. 1 | Aërogenes St | (Laboratoriumsstamm) |
| No. 2 | „            | Kn                   |
| No. 3 | „            | Kr                   |
| No. 4 | „            | Král                 |
| No. 5 | „            | P                    |

Gruppe II. *B. pneumoniae* Friedländer:

- |        |                   |                       |
|--------|-------------------|-----------------------|
| No. 1  | Friedländer L     | } Laboratoriumsstämme |
| No. 2  | „ LI              |                       |
| No. 3  | „ Gr              |                       |
| No. 4  | „ Ldst.           |                       |
| No. 5  | „ W               |                       |
| No. 6  | „ R               |                       |
| No. 7  | „ aus Otitiseiter | } selbst gezüchtet    |
| No. 8  | „ Pneumonie       |                       |
| No. 9  | „ Sputum          |                       |
| No. 10 | „ Leichenlunge    |                       |

Gruppe III. *B. mucosus ozaenae* Abel:

- |       |           |   |
|-------|-----------|---|
| No. 1 | Ozaena St | (Laboratoriumsstamm)                    |
| No. 2 | „         | Kr                                      |
| No. 3 | „         | Kind (selbstgezüchtet aus Ozaenasekret) |

Gruppe IV. *B. scleromatis* Paltauf-Eiselsberg:

- |       |            |  |
|-------|------------|--|
| No. 1 | Sklerom St | } Laboratoriumsstämme                  |
| No. 2 | „ St I     |  |
| No. 3 | „ F        |  |
| No. 4 | „ Gr       |  |
| No. 5 | „ Ld       |  |
| No. 6 | „ R        |  |
| No. 7 | „ a        | } aus Gewebspartikel (selbstgezüchtet) |
| No. 8 | „ b        |  |

Uebereinstimmend mit den Angaben früherer Untersucher konnte konstatiert werden, daß die verschiedenen Merkmale — wie Gasbildung auf Kartoffel, Koagulation der Milch, Bräunung der Gelatine — unzuverlässig und differentialdiagnostisch nicht verwertbar seien.

Unsere weiteren Experimente wurden nun nach drei Richtungen hin angestellt:

### I. Die Säurebildung.

Das Vermögen mancher Mikroorganismen, aus verschiedenen Kohlehydraten Säuren abzuspalten, hatte sich in differentialdiagnostischer Hinsicht innerhalb der Gruppe der Darmbakterien (Typhus — Coli — Dysenterie — Paratyphus etc.) gut bewährt. So lag daher auch der Gedanke nahe, ähnliche Untersuchungen mit Kapselbacillen anzustellen.

Wir verwendeten wegen leichter Herstellung und Handlichkeit flüssige Kulturmedien analog den von Barsikow für die Unterscheidung von Typhus und Coli angegebenen Lakmus-Nutrose-Nährböden, mit dem Unterschiede, daß eben verschiedene Kohlehydrate bei-

gemengt waren, und zwar: Dextrose, Galaktose, Lävulose, Laktose, Maltose, Saccharose, Stärke, Arabinose, Dextrin, Mannit, Dulcit und Erythrit.

Je 10 ccm des Substrates wurden in Eprouvetten verfüllt, mit je einem Stamm geimpft, durch Kautschukklappen verschlossen und während dreier Wochen im Thermostaten bei 37° unter täglicher Kontrolle gehalten.

Die Säurebildung drückt sich je nach ihrem Grade durch Rötung ohne oder mit Ausfällung des Eiweißes aus.

Die Menge der produzierten Säure wurde derart annähernd festgestellt, daß wir uns durch Zusatz von  $\frac{1}{10}$  Normalschwefelsäure zu unbeimpften Röhrchen jeder Zuckerart Testfarben herstellten, mit denen wir dann das endgültige Ergebnis unserer beimpften Proben verglichen.

Als Testobjekte nahmen wir an: 1) geringe Rötung (= 0,1 ccm  $\frac{1}{10}$  N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 2) deutliche Rötung (= 0,2  $\frac{1}{10}$  N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 3) deutliche Rötung und geringe Opaleszenz (= 0,5 ccm  $\frac{1}{10}$  N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), starke Rötung und starke Opaleszenz (= 0,65 ccm  $\frac{1}{10}$  N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 5) starke Rötung und Koagulation (= 0,9 ccm  $\frac{1}{10}$  N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Der Grad der Alkalibildung wurde in ähnlicher Weise durch kolorimetrischen Vergleich mit Testproben, denen verschiedene Mengen von  $\frac{1}{10}$  Normal-Natronlauge zugesetzt waren, festgestellt, und zwar: 1) geringe Bläuung (= 0,1 ccm  $\frac{1}{10}$  N-NaOH), 2) deutliche Bläuung (= 0,2 ccm  $\frac{1}{10}$  N-NaOH), 3) starke Bläuung (= 0,5 ccm  $\frac{1}{10}$  N-NaOH).

Es erwies sich im Laufe der Untersuchungen als wichtig, die Proben durch längere Zeit hindurch zu beobachten, weil bei den einzelnen Stämmen bezüglich des Auftretens der maximalen Säure- resp. Alkalibildung beträchtliche zeitliche Differenzen wahrzunehmen sind.

Nach Ablauf der Beobachtungszeit wurden Stichproben mit  $\frac{1}{10}$  N-NaOH (bei Säurebildung) oder  $\frac{1}{10}$  N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (bei Alkalibildung) auf die Farbe eines unter gleichen Bedingungen gestandenen unbeimpften Röhrchens zurücktitriert, um etwaige Fehler ausschließen und gleichzeitig die gefundenen Werte mit denen der Teströhrchen vergleichen zu können.

Im allgemeinen ließ sich feststellen, daß aus Mannit am meisten, weniger aus Dextrin, Saccharose, Maltose, Galaktose, Dextrose, Stärke, Glycerin, Arabinose, Laktose, am wenigsten aus Dulcit und Erythrit Säure gebildet wird.

Eine Abspaltung von Alkali findet in bestimmten Fällen nur aus Laktose, Dulcit und Erythrit statt. Daß natürlich nicht unbedeutende graduelle Verschiedenheiten bei den einzelnen Stämmen zu finden waren, ist selbstverständlich. *B. lactis aërogenes* und *B. mucosus* sind im allgemeinen starke, *B. pneumoniae* Friedländer mittlere und *B. scleromatis* schwache Säurebildner.

In differentialdiagnostischer Beziehung ergab sich:

I. Sklerombacillen allein lassen Laktose entweder unverändert oder bilden daraus Alkali, alle anderen hingegen größere oder geringere Säuremengen.

II. Ozaenabacillen allein spalten in Erythritnährböden Säure ab, während die übrigen Alkali produzieren, oder sie unverändert lassen.

III. Gegenüber Dulcit verhalten sich *B. aërogenes* und *Ozaena* stets als Säure-, *B. Friedländer* und *Sklerom* als

Alkalibildner oder sie lassen den Nährboden unverändert.

	<i>B. lactis</i> <i>Aerogenes</i>	<i>B. pneumoniae</i> <i>Friedl.</i>	<i>B. mucosus</i> <i>ozaenae</i>	<i>B. mares-</i> <i>scleromati-</i>
Laktose				
Dulcit				
Erythrit				

Diese Differenzen konnten konstant nachgewiesen und auch bei später aus entsprechenden Krankheitsfällen gezüchteten Stämmen von Kapselbacillen immer wieder festgestellt werden.

(Die dunkel gezeichneten Felder in der Figur deuten die Alkali-, die hellen die Säurebildung an.)

## II. Das Gärungsvermögen.

Alle erwähnten Stämme wurden auch auf das Vermögen, aus den genannten Kohlehydraten Gas zu bilden, untersucht, und zwar in der Weise, daß wir uns eine 2-proz. Kohlehydratbouillon herstellten, in die üblichen Gärungskölbchen abfüllten und beimpften. Die Proben blieben dann während dreier Tage im Thermostaten bei 37° stehen. Es ergaben sich folgende Resultate:

Gruppe I. *B. lactis aërogenes* Escherich vergärt fast sämtliche Kohlehydrate sehr stark, nur Stärke, Dulcit und Erythrit in geringerem Maße.

Gruppe II. *B. pneumoniae* Friedländer zeigt in der Gasbildung sehr starke Differenzen bei den einzelnen Stämmen. Es scheint auch solche zu geben, denen ein Gärungsvermögen überhaupt fehlt (Stamm No. 1). Eine Vergärung von Erythrit konnten wir bei keiner der untersuchten Kulturen nachweisen. Im allgemeinen ist das Gärungsvermögen gering.

Gruppe III. *B. mucosus ozaenae* Abel stimmt bezüglich der Gasbildung mit dem *B. lactis aërogenes* überein, nur scheint das Spaltungsvermögen geringer zu sein als bei jenem.

Gruppe IV. *B. scleromatis* ist nicht im stande, aus Kohlehydraten überhaupt Gas zu produzieren.

Was die einzelnen Kohlehydrate anlangt, so werden am leichtesten Mannit, dann Dextrose, Saccharose, Arabinose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Laktose, Dextrin, Glycerin, am geringsten Stärke, Dulcit und Erythrit zerlegt.

### Wachstum auf farbigen Nährböden.

Die Untersuchungen von Clairmont<sup>1)</sup> haben ergeben, daß die damals bekannten und gebräuchlichen Nährböden mit Farbenzusatz für eine Differenzierung in der Gruppe der Kapselbacillen nicht in Betracht kämen, eine Angabe, die wir vollinhaltlich durch unsere eigenen Nachprüfungen bestätigen können.

In der letzten Zeit wurden nun für die Differentialdiagnose der Mikroorganismen der Typhus-Coli-Gruppe verschiedene Nährmedien konstruiert, deren Wert wir auch für unsere Zwecke erprobten.

a) Der Endosche Laktose-Fuchsinagar.

Wenn wir die zu prüfenden Kulturen im Strich auf die Plattenoberfläche brachten und durch 24 Stunden im Thermostaten bei 37° wachsen ließen, so konnten wir konstante Resultate finden, denen wir

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX.

vielleicht eine praktische Verwertbarkeit zuschreiben dürfen.

Alle Aërogenesstämme (Gruppe I) wachsen unter lebhafter Rötung des Nährbodens, wie die Vertreter der Coligruppe.

Alle Friedländer- und Skleromkulturen lassen das Substrat ungefärbt wie *Bac. typhi*.

In der Mitte dieser beiden Extreme stehen die Ozaenastämme, die in rosa gefärbten Strichen gedeihen.

Eine Reihe von Stämmen, die seit Abschluß dieser Untersuchungen aus Pneumonien gezüchtet werden, konnten mit Hilfe dieses Nährbodens als Friedländersche Kapselbacillen angesprochen werden.

b) Die Grünlösungen nach Löffler.

Die genau nach der Vorschrift hergestellten Lösungen werden in Mengen von 10 ccm in Röhrchen gefüllt, mit den einzelnen Stämmen beimpft, durch Kautschukklappen verschlossen und während 10 Tagen im Thermostaten bei 37° gehalten.

Das Resultat dieser Prüfung ist in folgender Tabelle zusammengestellt:

Grünlösung	<i>B. lactis aërogenes</i>	<i>B. pneumoniae</i>	<i>B. mucosus ozaenae</i>	<i>B. scleromatis</i>
I	Gasbildung u. Koagulation, langsamere oder schnellere Verfärbung in hellgrün bis grünlich-gelb.	Koagulation u. Gasbildung (inkonst), langsamere oder schnellere Verfärbung in hellgrün oder gelblich-grün.	Koagulation u. Gasbildung, geringe Aufhellung der Farbe.	Koagulation, keine Veränderung der Farbe.
II	Gasbildung u. Koagulation, langsamere oder schnellere Verfärbung in hellgrau bis grünlich gelb.	Geringe Trübung u. schwache Aufhellung der Farbe.	Geringe Trübung, keine Veränderung der Farbe.	Geringe Trübung, keine Veränderung der Farbe.
III	Koagulation u. Verfärbung in Azurblau.	Geringe Trübung u. Bodensatzbildung, keine Veränderung der Farbe.	Geringe Trübung u. Bodensatzbildung, keine Veränderung der Farbe.	Geringe Trübung, keine Veränderung der Farbe.
IV	Trübung u. Bodensatz, Verfärbung in heller grün bis gelblich.	Spur Trübung, geringer Bodensatz, keine Veränderung der Farbe.	Geringe Färbung u. Bodensatzbildung, manchmal geringe Aufhellung der Farbe.	Keine Trübung und Veränderung der Farbe, geringe Bodensatzbildung.

*B. lactis aërogenes* grenzt sich von den drei anderen Arten durch die auffallenden Veränderungen, welche er in allen vier Grünlösungen hervorruft, von selbst ab. Von einer praktischen Verwertbarkeit dieser Nährböden zur Differenzierung der Pneumonie-, Ozaena- und Sklerombacillen untereinander kann nur mit Vorsicht gesprochen werden, da die Unterschiede zu wenig deutlich ausgeprägt sind.

Bekanntlich finden sich eine große Anzahl von Angaben über die Züchtung von Kapselbacillen aus den verschiedensten Materialien. Diese Mikroorganismen wiesen von den bis dahin bekannten verschiedene Differenzen auf und figurieren in der Literatur als besondere Species.

Ebenso wie man von *B. coli commune* eine bedeutende Menge

von Varietäten annehmen muß, so glauben wir, daß auch in dieser Gruppe ähnliche Verhältnisse herrschen.

Wir versuchten nun, einige wenige Stämme — nämlich *B. capsulatus* Pfeiffer, *B. mucosus capsulatus* Fasching, *B. capsulatus septicus* und *B. mucosus enteritidis* Gaffky — dahin zu untersuchen, ob wir sie vermöge ihrer chemischen Leistungen an eine der vier früher genannten Gruppen anschließen können.

Der Gang dieser Versuche deckte sich mit dem bei den früheren.

Bezüglich der Säurebildung und des Gärungsvermögens stimmen *B. capsulatus* Pfeiffer und *B. mucosus capsulatus* Fasching vollständig mit dem *B. lactis aërogenes* überein.

*B. capsulatus septicus* läßt die Farbe in Dulcit- und Erythritnährboden unverändert oder bläut gering, in allen anderen dagegen wird Säure gebildet; das Gärungsvermögen fehlt vollständig.

*B. mucosus enteritidis* Gaffky weist Eigenschaften auf, die mit denen des *B. capsulatus septicus* ziemlich übereinstimmen; dieser Stamm bildet nur sehr spärlich Gas aus Galaktose und Stärke, alle übrigen Kohlehydrate bleiben scheinbar unzerlegt.

Das Wachstum auf farbigen Nährböden zeigt, daß *B. capsulatus* Pfeiffer und *B. mucosus capsulatus* Fasching auf Endo-Agar intensiv rot wachsen und in den Löfflerschen Grünlösungen ebensolche Veränderungen hervorrufen, wie *B. lactis aërogenes*.

*B. capsulatus septicus* bewirkt in der Grünlösung I und II Koagulation ohne Gasbildung und Aufhellung der Farbe, in III geringe Trübung und Bodensatzbildung ohne Farbenveränderung, in IV keine Trübung, nur geringe Aufhellung und Bodensatzbildung.

*B. mucosus enteritidis* Gaffky wächst in Grünlösung I unter Koagulation und geringer Aufhellung, in II und III unter Trübung und geringer Aufhellung, in IV ohne Trübung mit geringer Bodensatzbildung und Aufhellung.

Aus diesen Untersuchungen glauben wir mit Recht schließen zu dürfen, daß *B. capsulatus* Pfeiffer und *B. mucosus capsulatus* Fasching mit dem *B. lactis aërogenes* **identisch** sind, also keine eigene Species darstellen.

Diese Versuchsergebnisse berechtigen zu dem Schlusse, daß die vier Vertreter der Kapselbacillengruppe — *B. lactis aërogenes*, *B. pneumoniae* Friedländer, *B. mucosus ozaenae* und *B. scleromatis* — wohlcharakterisierte Bakterienarten darstellen und nicht nur auf dem Wege biologischer Reaktionen, sondern auch durch geeignete kulturelle Methoden von einander zu differenzieren sind.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Katalyse des $H_2O_2$ durch Bakterien.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr.  
(Direktor: Prof. R. Pfeiffer).]

Von Dr. med. **D. Rywosch** und **Marie Rywosch**.

Die beschleunigende Wirkung verschiedener Zellen und Gewebe tierischer oder pflanzlicher Herkunft auf die Spaltung des  $H_2O_2$  in  $H_2O$  und Sauerstoff ist seit langer Zeit schon bekannt. Der Entdecker des  $H_2O_2$ , Thénard (1818), hat bereits darauf bezügliche Beobachtungen gemacht, aber erst durch die klassischen Arbeiten und geistreichen Auseinandersetzungen von Schönbein<sup>1)</sup> wurde das allgemeine Interesse für diese Eigenschaft geweckt. Schönbein faßte die Katalyse des  $H_2O_2$  als „Urbild“ für alle Gärungs- und fermentativen Prozesse auf, und glaubte es dadurch begründen zu können, daß Hefe und alle Fermente in hohem Maße diese Eigenschaft besitzen; er vermutet, daß durch die letztere die Oxydationsprozesse im Organismus ermöglicht werden. In der ersten Zeit schlossen sich viele Forscher seiner Ansicht an. Die weiteren Untersuchungen aber haben die Schönbeinsche Theorie nicht in allen ihren Teilen bestätigen können. Vor allen Dingen hat Jacobsen<sup>2)</sup> nachgewiesen, daß die spezifische Tätigkeit der Fermente mit dieser Eigenschaft nicht Hand in Hand geht; so geht beim Erhitzen bis zu bestimmten Temperaturen die katalytische Fähigkeit bei den Fermenten verloren, während die spezifische Tätigkeit bei vielen noch intakt bleibt; beim Erschöpfen der katalytischen Wirkung der Fermente durch  $H_2O_2$  bleibt die spezifische ebenso stark wie sie am Anfang gewesen ist.

Selbst Alexander Schmidt<sup>3)</sup>, der früher Anhänger der Schönbeinschen Lehre war, hat in den späteren Publikationen seine Ansicht geändert und äußerte sich dahin, daß diese Eigenschaft lediglich als eine allgemeine Eigenschaft jedes Protoplasmas resp. seiner nächsten Derivate (Cytoglobin d. i. Nukleohiston der Autoren, Präglobulin) zu betrachten ist, ohne allerdings näher die funktionelle Bedeutung dieser Eigenschaft zu erörtern. Erst in der letzten Zeit ist Lesser<sup>4)</sup> wieder für die von Schönbein aufgestellte Lehre eingetreten, insofern auch er annimmt, daß die Spaltung des  $H_2O_2$  bei den Oxydationsprozessen im Organismus eine Rolle spielt. Um diese Anschauung zur Geltung zu bringen, stellte er unter anderem Versuche mit anaërob lebenden Ascariden (*Ascaris lumbricoides*) an und konnte feststellen, daß sie tatsächlich sehr schwach das  $H_2O_2$  zu katalysieren vermögen.

Es schien uns von diesem Standpunkte aus nicht überflüssig, Versuche an Bakterien, unter denen ausgesprochene Anaëroben vorkommen, anzustellen, da doch die Ascariden bloß als fakultative Anaëroben aufzufassen sind. Da aber im allgemeinen über die katalytischen Eigenschaften der Bakterien wenig gearbeitet worden ist, so hielten wir es für angebracht, bei einer größeren Anzahl dieser Mikroorganismen

- 1) Zeitschr. f. prakt. Chemie. Bd. LXXXIX. 1861.
- 2) Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. XVI. 1892.
- 3) Beiträge zur Blutlehre. 1892.
- 4) Zeitschr. f. Biologie. 1906.

derartige Untersuchungen anzustellen, um überhaupt ein Bild über die Verbreitung dieser Eigenschaften bei ihnen zu gewinnen. In der Literatur finden wir bloß zwei Arbeiten, die sich mit der Katalyse der Bakterien befassen. Zunächst käme hier die Arbeit von Gottstein<sup>1)</sup> in Betracht. Die Ergebnisse seiner Untersuchungen nach dieser Richtung hin faßt Gottstein in seiner dritten These zusammen: „Auch Mikroorganismen bewirken energische Spaltung des  $H_2O_2$ “. Speziell führt er an, daß die Intensität der Spaltung des  $H_2O_2$  bei *Bacillus prodigiosus*, *Bacterium coli*, *Tuberkelbacillus*, verschiedenen „Wasserbakterien“ nicht geringer ist als bei Hefe. Die Bestimmung geschah allerdings ganz approximativ nach der Stärke der Gasbildung wie im Reagenzglaschen so auch unter dem Mikroskop. Gottstein schlägt vor, diese allgemeine Eigenschaft zu einer makroskopischen Reaktion auf Bakterien anzuwenden, etwa auf gekochtem Schinken, hauptsächlich aber zur Prüfung der Tauglichkeit von Filtern bei Wasserleitungen. 1000 Keime in 1 ccm Wasser rufen nach seinen Untersuchungen lebhaft Gasbildung bei Zusatz von  $H_2O_2$  hervor; dies könnte, seiner Meinung nach, als teilweiser Ersatz für das komplizierte Plattenverfahren dienen, ein Gedanke, der nicht von der Hand zu weisen ist. Die zweite Arbeit ist die von Loewenstein<sup>2)</sup>. Die Veranlassung zu seinen Untersuchungen war die Angabe von Sieber, daß  $H_2O_2$  oder Calciumsuperoxyd außerordentlich große Mengen von Diphtherie- und Tetanustoxin unwirksam machen können. Loewenstein wollte unter anderem nachprüfen, inwiefern diese Entgiftung durch  $H_2O_2$  mit der katalytischen Eigenschaft der Toxine Hand in Hand geht, er arbeitete deswegen weniger mit Bakterien als mit den Filtraten ihrer Kulturen (Pukal-Filter). Bei seinen Untersuchungen fand er, daß zwischen diesen beiden Erscheinungen kein Parallelismus vorhanden ist. So katalysieren Diphtherie- und *Staphylococcus*-Kulturen und Filtrate ziemlich stark, während Tetanus fast gar nicht katalysiert, dabei wird aber die Toxizität sowohl der einen wie der anderen gleichmäßig durch  $H_2O_2$  aufgehoben.

Die Aufgabe, die wir uns stellten, war, die spaltende Kraft der Bakterien dem  $H_2O_2$  gegenüber womöglich quantitativ zu bestimmen. Nach dem Vorschlage von Prof. Pfeiffer bedienten wir uns zu unseren Versuchen der Agarkulturen in Kolle-Platten; mit einem breiten Spatel wurde die Bakterien-schicht behutsam abgehoben, ohne daß Agar mitgenommen wurde, darauf die Bakterien in ein kleines Glasschiffchen hineingetan und so rasch als möglich auf der chemischen Wage gewogen. Das Schiffchen mit den Mikroorganismen wurde darauf in eine Flasche, welche  $H_2O_2$  in bestimmter Lösung enthielt, hineingebracht, die Flasche mit einem Gummistöpsel, in welchem sich das zu dem mit Wasser gefüllten Eudiometer führende Glasrohr befand, geschlossen.

Die Gewichtsmengen der Bakterien waren selbstverständlich nicht bei allen Bakterienarten dieselben gewesen; wir haben sie sämtlich auf 1 mg umgerechnet, was nach den Ergebnissen der Untersuchungen über die Katalyse des Blutes und nach den Angaben von Gottstein über die Bakterien vollständig zulässig erscheint. Die Gewichtsmengen der untersuchten Bakterien schwankten zwischen 66—22 mg. Wir lassen hier, tabellarisch zusammengefaßt, die Ergebnisse folgen, und zwar nach der Stärke der katalytischen Kraft geordnet. Die Zahlen bei den an-

1) Virchows Arch. Bd. CXXXIII. 1893.

2) Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 50.



geführten Mikroorganismen bedeuten in Kubikcentimetern die Menge des Sauerstoffes, welche sich innerhalb derselben Zeit (6—8 Stunden) durch 1 mg Bakterien, bei gleichem Gehalt und Konzentration des  $H_2O_2$ , abgespalten hat.

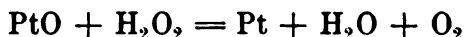
1) Sarcine orange	7,0 ccm
2) Weiße Hefe	4,3 "
3) Erdbakterie	2,1 "
4) Pneumococcus Friedländer	2,1 "
5) Staphylococcus aureus	2,0 "
6) Ozaena	1,6 "
7) Milzbrand (48 Stunden)	1,5 "
7a) Milzbrand (24 Stunden)	0,85 "
8) Prodigiosus	0,93 "
9) Staphylococcus albus	0,7 "
10) Bacterium pyocyaneus	0,6 "
11) Bacterium coli	0,6 "
12) Oidium albicans	0,57 "
13) Paratyphus	0,18 "
14) Bacillus capsulatus Pfeiffer	0,14 "
15) Bacterium typhi	0,1 "
16) Vibrio Metschnikoff	{ Bei den gebrauchten Mengen 0,035 bis 0,050 nach 12—18 Stunden 2—4 ccm $O_2$
17) Vibrio Danubicus	
18) Vibrio Finkler	
19) Vibrio phosphorescens	
20) Botulinus	{ Katalyse nur qualitativ durch ge- ringe Gasbildung nachweisbar
21) Tetanus	

Aus dieser Tabelle ersehen wir einerseits, daß tatsächlich die anaëroben Bakterien (Botulinus und Tetanus) am schwächsten  $H_2O_2$  zu katalysieren vermögen, andererseits, daß die ausgesprochen aërob lebende Sarcine an der Spitze steht.

Trotz aber dieser Uebereinstimmung der Tatsachen mit den aprioristisch aufgestellten Forderungen vom Standpunkte der Theorie der oxydativen Funktion der Katalasen des  $H_2O_2$  im Organismus sind doch wichtige Gründe vorhanden, die gegen diese Lehre zu sprechen scheinen. Es ist hier nicht der Ort, ausführlich auf diese Frage einzugehen, wir möchten nur aufmerksam machen, daß auch bei Bakterien wie bei Blutkörperchen oft mehr Sauerstoff entweicht, als der Berechnung nach aus der zugesetzten Menge des  $H_2O_2$  sich hat bilden können, so daß von einer Verwendung des Sauerstoffes von  $H_2O_2$  zu Oxydationszwecken unter diesen Umständen kaum die Rede sein kann. Wir haben gerade bei der Sarcine derartiges beobachten können. Unserer Ansicht nach ließe es sich schon eher vereinigen mit der Theorie von Loew<sup>1)</sup>, der zufolge die Katalasen — so nennt Loew diejenigen Körper organischer Herkunft, die katalytisch die Spaltung des  $H_2O_2$  bewirken — die Funktion hätten, das für jedes Protoplasma giftige  $H_2O_2$  sofort bei seiner eventuellen Bildung im Organismus zu zersetzen. Gerade in den letzten Jahren suchten Chodat und Bach<sup>2)</sup> in einer ganzen Reihe von Arbeiten die Möglichkeit der Bildung von  $H_2O_2$  bei den Oxydationsprozessen im Organismus zu beweisen. Von diesem Standpunkte aus ist es ebenfalls begreiflich, warum die aëroben Bakterien stärker katalysieren als die anaëroben, weil bei den ersteren ja die Bildung von  $H_2O_2$  eher begünstigt wird. Die größere Menge des entweichenden Sauerstoffes als er in  $H_2O_2$  vorhanden ist, bietet für diese Theorie keine Schwierigkeit, wenn man in Betracht zieht die mutmaßliche Formel, nach welcher die Zersetzung des  $H_2O_2$  durch Platin oder Ferment vor sich geht.

1) Die chemische Energie der lebenden Zelle.

2) Ber. d. dtshn chem. Ges. Bd. XXXV. u. Bd. XXXVI.



$\text{Fe}$  (Ferment)  $\text{O} + \text{H}_2\text{O}_2 = \text{Fe} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$  (nach Liebemeister)<sup>1)</sup>.

Die vergleichenden Untersuchungen der katalytischen Eigenschaften verschiedener Organismen resp. Zellen dürften ein gewisses Interesse beanspruchen, indem sie uns zur Charakterisierung einzelner Bakterienarten dienen könnten. Aus unserer Tabelle ersehen wir nach dieser Richtung hin eine merkwürdige Sonderstellung der Vibrionen; alle von uns untersuchten Arten besitzen im Vergleich zu den anderen Bakterien, mit Ausnahme der anaëroben, eine durchgehend schwache katalytische Kraft. Ferner sehen wir, daß diese katalytische Kraft nicht etwa als Gattungseigenschaft auftritt, sondern bei Arten derselben Gattung ziemlich variieren kann, so ist sie bei *Staphylococcus aureus* ungefähr 3mal so stark als bei *Staphylococcus albus*. Von Interesse ist der Unterschied in dem Verhalten der drei so nah verwandten Bakterien: *Coli*, Typhus und Paratyphus. Eine eingehendere Besprechung verdient auch die Katalyse des *Bacillus anthracis*. Es ist ein Unterschied der katalytischen Kraft der 24- und 48-stündigen Kulturen nicht nur in quantitativer Beziehung, sondern auch im Verlaufe des ganzen Vorganges zu beobachten. Während bei sämtlichen Bakterien fast die ganze Menge des Sauerstoffes, welchen sie von  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu spalten im stande sind, bereits in der ersten Stunde entweicht, ist die Gasentweichung bei 48-stündiger Kultur von Milzbrand in der ersten Stunde sehr verlangsamt. Erst nach  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde beginnt der Milzbrand lebhaft das  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu spalten, wobei sich mehr Sauerstoff bildet als bei der 24-stündigen Kultur.

0,049 g *Bacillus anthracis* (24 Stunden).

in der ersten Stunde 37,5 ccm  $\text{O}_2$

nach 5 Stunden 39,0

0,066 g *Bacillus anthracis* (48 Stunden).

in der ersten Stunde 15,0 ccm  $\text{O}_2$

nach 5 Stunden 95,0

Es wäre hier anzunehmen, daß sowohl die stärkere katalytische Kraft der 48-stündigen Kultur sowie auch das langsame Auftreten derselben mit der Sporenbildung des *Bacillus anthracis* in Zusammenhang stehe. Da nach 48 Stunden Sporen von Milzbrand sich bereits gebildet haben, so ist es möglich, daß dieselben als Dauerformen, die im allgemeinen gegen alle schädlichen Einflüsse resistenter sind, auch gegen die giftige Einwirkung des  $\text{H}_2\text{O}_2$  stärker reagieren, während andererseits es eine gewisse Zeit beansprucht, bis die Kapseln der Sporen zerstört werden und die katalytische Kraft der letzteren in Wirkung tritt.

Indem wir die Arbeit hiermit abschließen, sind wir uns wohl bewußt, daß dieselbe nur als geringer Beitrag zur Frage über die Katalyse der Bakterien zu betrachten sei, welche Frage einer weiteren systematischen Bearbeitung bedarf.

Herrn Prof. R. Pfeiffer sind wir sowohl für sein liebenswürdiges Entgegenkommen wie auch für die vielseitige Anregung und wertvolle Belehrung zum innigsten Danke verpflichtet. Herrn Dozenten Dr. R. Scheller danken wir auch an dieser Stelle für seine liebenswürdige Hilfeleistung bei Ausführung der Versuche.

1) Siehe auch Breeding, Die anorganischen Fermente.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere Bemerkungen zur Farbstoffbildung des Bacillus prodigiosus.

Von Dr. W. Kuntze.

Nachdem Noesske<sup>1)</sup> wiederholt über die Bedingungen der Farbstoffbildung des Bacillus pyocyaneus berichtet hat, habe ich versucht<sup>2)</sup>, in einer früher erschienenen Abhandlung den Nachweis zu führen, daß auch beim Bac. prodigiosus Magnesium und Schwefel für die Entstehung des Pigments von größter Bedeutung sind, sofern diese Elemente neben anderen Nährstoffen in geeigneter Form dargeboten werden.

Erst vor einiger Zeit kam zu meiner Kenntnis, daß Luckhardt<sup>3)</sup> bei seinen Nachprüfungen zu anderen Folgerungen gelangte. Ferner teilte Samkow<sup>4)</sup> eine Reihe von Untersuchungen mit, die zwar anerkennen, daß Mg für die Farbstoffbildung unentbehrlich ist, nicht immer aber Sulfat, wenigstens nicht unter allen Umständen; das Resultat steht also nur teilweise mit dem von mir erhaltenen im Einklang. Weiterhin stellte Mary Hefferan<sup>5)</sup> die Behauptung auf, daß Magnesiumsulfat nicht bei allen Prodigiosus-Stämmen zur Farbstoffbildung nötig sei, ebenso könne Phosphor bei manchen für das Wachstum entbehrt werden<sup>6)</sup>.

Bei Durchsicht der genannten Arbeiten kam ich zu der Ueberzeugung, daß zum Teil Mißverständnisse vorliegen, andererseits aber auch die Versuchsanstellungen nicht immer sehr exakt gewesen sind, daher sehe ich mich veranlaßt, im Nachfolgenden kurz auf die Ergebnisse genannter Versuchsansteller einzugehen und einige Fehlerquellen aufzudecken.

Luckhardt hat sich auf eine nicht sehr eingehende Nachprüfung meiner Arbeit beschränkt, indem er von den zahlreichen Versuchen, welche ich als Belege anführte, nur einen herausgriff, ohne das von ihm erhaltene angeblich negative Resultat durch weitere Parallelen mit anders zusammengesetzten Substraten auf seine Richtigkeit zu prüfen.

Wie ich nämlich mitteilte<sup>7)</sup>, erwies sich die bekannte Nährlösung nach Uschinsky<sup>8)</sup> im Verein mit aschefreiem Traubenzucker (d-Glu-

1) Noesske, H., Versuche über die Bedingungen der Farbstoffbildung des Bac. pyocyaneus. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. XVIII. 1897. Heft 1; ferner Arch. f. klin. Chir. Bd. LXI. 1900. Heft 1.)

2) Kuntze, W., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIV. 1900.

3) Diss. ref. in Baumgartens Jahresber. 1901. p. 804.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. p. 305.

5) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. p. 301.

6) In jüngster Zeit spricht auch Palma (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 417) die Ansicht aus, daß beim Bac. pyocyaneus weder Mg noch S für die Bildung der grünen Farbe erforderlich sei. Als notwendig für das Wachstum des Pyocyaneus habe sich nur ein Zusatz von phosphorsaurem Salz ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) erwiesen. Palma, welcher Noesskes Ergebnisse nur nach dem Referat in der Münch. med. Wochenschr. zitiert, hat es nicht für der Mühe wert gehalten, näher auf die Versuchsanstellungen desselben einzugehen. Da im Centralbl. f. Bakt. etc. die Arbeiten Noesskes nicht referiert wurden, so sei bemerkt, daß ausführliche Referate in Baumgartens Jahresber. Bd. XVI. p. 204, ferner in Kochs Jahresber. Bd. XI. p. 71 zu finden sind.

7) l. c. p. 176.

8) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. 1893. p. 316.

kose) Calciumsulfat und Calciumkarbonat besonders geeignet, die Unentbehrlichkeit des Magnesiumsulfats für die Farbstoffbildung darzutun, indem bei Ausschaltung dieses Salzes zwar reichliches, aber farbloses Wachstum stattfindet, wohingegen das Pigment nach Zusatz von  $MgSO_4$  sich nachträglich in üppiger Form einstellt<sup>1)</sup>.

C. Fraenkel<sup>2)</sup> hat in bestimmter Absicht mit einigem Erfolge versucht, die Utschinsky-Lösung zu vereinfachen, und zwar folgenderweise:

Kochsalz	5 g
Kaliumbiphosphat <sup>3)</sup>	2 „
Ammon. lacticum	6 „
Asparagin	4 „
Destilliertes Wasser	1000 „

dazu eventuell Natronlauge bis zu neutraler Reaktion.

Nachdem ich bereits früher ausführlich auseinandergesetzt habe, wie sorgfältig man bei derartigen Versuchen zu Werke gehen muß, indem nur absolut reine Komponenten zu verwenden sind, war es für mich selbstverständlich, daß ich bei Ausführung meines Versuches mit Fraenkelscher Lösung nur das chemisch reine Kochsalz,  $NaCl$ , zu verwenden hatte. Dies zu betonen hielt ich nicht für notwendig, jedermann, der über die Gewinnung des gewöhnlichen Kochsalzes unterrichtet ist, weiß, daß dasselbe gelegentlich mit mehr oder minder großen Mengen von Magnesium und auch Schwefel enthaltenden Salzen verunreinigt sein kann.

Luckhardt verwendete nun anscheinend Fränkelsche Lösung nach dem Originalrezept, welche also gewöhnliches Kochsalz enthielt, und so ist es nicht zu verwundern, wenn sich unbeabsichtigte Farbstoffbildung auch bei Ausschaltung des Magnesiumsulfats einstellte. Ferner kann es auch möglich sein, daß die Lösung zu stark alkalisch reagierte, über den ungünstigen Einfluß des Alkalis auf die Farbstoffproduktion vgl. später. Luckhardt erwähnt nicht, ob er die von ihm verwendeten Chemikalien nach einer der in neuerer Zeit bekannt gegebenen mikrochemischen Methoden<sup>4)</sup> auf das Vorhandensein von  $Mg$  geprüft hat. In der ausgesprochenen Auffassung wurde ich bestärkt, als ich die Versuche nach Luckhardt wiederholte. Unter Ausschaltung des  $MgSO_4$  aus der Fraenkelschen Lösung wurde die eine Parallele mit käuflichem Kochsalz, die andere dagegen mit chemisch reinem  $NaCl$  beschickt. Wie Luckhardt gefunden hatte, zeigte sich Pigment auf der Kochsalz enthaltenden Mischung, auf der anderen, chemisch reines  $NaCl$  ent-

1) Luckhardt meint unter anderem, daß für den *Prodigosus* eine natürliche Blütezeit im Herbste existiere. Da ich meine zahlreichen Versuche zu den verschiedensten Jahreszeiten anstellte, konnte ich mich von einem bestimmten Einfluß derselben auf die Farbstoffproduktion nicht überzeugen. Die Ansicht von L. dürfte vielmehr in dem Sinne zu interpretieren sein, daß der Pilz die für die Farbstoffproduktion geeignetste Nahrung (Kohlehydrate etc.) neben günstigen äußeren Bedingungen (Temperatur, Feuchtigkeit) in der freien Natur im Hochsommer und Herbst in besonders reichlichem Maße vorfindet.

2) Hyg. Rundschau. 1894. p. 772.

3) Ich verwende bei meinen Versuchen meist das saure Salz: Kalium biphosphoricum  $KH_2PO_4$ , da das basische Salz: Kalium phosphoricum  $K_2HPO_4$ , für die Pigmentbildung nicht so günstig sich erweist.

4) Hier sei nur das von O. Richter (Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch. Abt. I. Bd. CXI. 1902. p. 171—218) angegebene Verfahren erwähnt, wonach das gelöste  $Mg$ -Salz mit Phosphorsäure und Ammoniak als  $Mg(NH_4)PO_4 + 6H_2O$  gefällt wird. Doch soll hiermit nicht gesagt sein, daß diese Methode für alle Fälle empfindlich genug ist. Vergl. auch die zitierte Arbeit von Samkow. p. 308.

haltenden Lösung dagegen wurde keine Spur von Farbstoff gebildet, die Bildung desselben setzte erst ein, wenn einige Kristalle  $MgSO_4$  hinzugegeben wurden. Auch der Zusatz von chemisch reinem  $MgO$ ,  $MgCl_2$ ,  $MgCO_3$  und Magnesiumphosphaten allein vermag noch keine Farbstoffbildung zu bewirken, diese findet erst statt, wenn außerdem noch Spuren von  $H_2SO_4$  oder kleine Mengen eines nicht giftigen Sulfats zugesetzt werden. Zur Impfung wurde dieses Mal eine von Král bezogene Kultur verwendet, früher hatte ich mit Stämmen geimpft, welche ursprünglich in den hygienischen Instituten zu Halle und Leipzig gezüchtet waren <sup>1)</sup>.

Luckhardt würde sicher zu einer anderen Auffassung gekommen sein, wenn er auch die anderen von mir angegebenen Lösungen, insbesondere mehrwertige Alkohole enthaltende (Zucker, Mannit, Glycerin) zur Kontrolle seiner Untersuchungen mitherangezogen hätte.

Im übrigen mahnt auch Fraenkel selbst, die Resultate, welche aus den Versuchen mit der von ihm angegebenen künstlichen Nährlösung gefolgert werden können, mit aller Vorsicht zu verwerten. Nach Vorstehendem ist es also auch nicht ganz buchstäblich zu nehmen, wenn Lehmann in dem mit Neumann herausgegebenen Grundriß <sup>2)</sup> meint, daß die Kochsalz enthaltende Lösung nach Fraenkel frei von Schwefel sei, wenigstens solange keine Gewähr für genügende Reinheit des Kochsalzes gegeben ist.

Zurückweisen möchte ich ferner noch die Behauptung Luckhardts, ich hätte die Hypothese aufgestellt, daß die in den Laboratorien vorhandenen Magnesiumgase auf die Kulturen gelegentlich einzuwirken und so Versuchsfehler herbeizuführen vermöchten. Diese merkwürdige Behauptung findet sich in meiner Arbeit nicht. Es ist doch zur Genüge bekannt, daß Mg bei der auf unserem Planeten herrschenden Temperatur in der Atmosphäre nicht in flüchtigem Zustande angetroffen wird.

Um weiteren Mißverständnissen, welche sich etwa aus dem Referat über Luckhardts Arbeit in Baumgartens Jahresbericht herleiten können, vorzubeugen, soll hier gleich noch bemerkt werden, daß ich weder früher noch jetzt in Abrede stellen will, daß neben der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens noch andere Ursachen bei der Physiologie der Farbstoffbildung mitsprechen, immerhin dürfte die Entstehung des Pigments doch in erster Linie von der passenden chemischen Beschaffenheit des Substrats abhängen.

Von Hefferan erhielt ich 8 verschiedene *Prodigosus*-Stämme übermittelt, ebendieselben, welche zu ihren Versuchen gedient hatten. Indes konnte ich nicht feststellen, daß die amerikanischen Rassen sich auf den von mir hergestellten Nährböden anders verhielten als die vorerwähnten, mit welchen ich bis dahin gearbeitet hatte. Des weiteren hatte ich auch Gelegenheit, den *Bacillus ruber indicus*, welcher gerade keinen Farbstoff bildete, also als sogenannte farblose Varietät anzusehen wäre, dadurch schnell wieder zur Farbstoffbildung anzuregen, daß ich ihn zunächst auf einer  $MgSO_4$  freien Lösung (dest. Wasser 100, d-Glukose nach Soxhlet 2,5, Asparagin 1,  $K_2HPO_4$  0,2) kultivierte und nach 6 Tagen, als er sich in befriedigender Weise, aber farblos, entwickelt hatte, auf folgende Lösung übertrug (dest. Wasser 100, d-Glukose nach Soxhlet 2,5 Asparagin 1,  $KH_2PO_4$  0,2,  $MgSO_4$  0,2). Wenn Hefferan

1) In der Folge hatte ich auch Gelegenheit, mehrere andere Stämme, welche mir von Hefferan-Chicago überlassen waren, zur Prüfung heranzuziehen.

2) Lehmann u. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 1904. p. 24.

bei ihren Versuchen selbst auf einer nur 0,2 Proz. Asparagin enthaltenden wässerigen Lösung Farbstoffbildung eintreten sah, so ist damit für mich erwiesen, daß jenes von ihr benutzte Asparagin nicht genügend aschefrei gewesen ist. Es erscheint undenkbar, daß dieser Spaltpilz sich auf einen Substrat, welches nur die Elementarbestandteile O, H, C, N enthält, entwickeln kann. Allerdings bleibt zu berücksichtigen, daß bei reichlicher Impfung genügende Spuren notwendiger Aschebestandteile vom Ausgangsmaterial her mitübertragen werden können, es ist deshalb anzuraten, die Impfung mehrmals successive auf genügend reinen Lösungen durchzuführen.

Als ich meine ersten Versuche mit farbstoffbildenden Bakterien, speziell dem *Prodigosus*, anstellte, blieb die Frage unerörtert, welche Elementarbestandteile im engeren Sinne zur Lebensfunktion unentbehrlich sind. Meine Voraussetzungen basierten auf den Angaben Nägelis<sup>1)</sup>, welche auch in sämtliche bakteriologische Elementarbücher medizinischer Richtung Eingang gefunden haben; die neueren Untersuchungen von Molisch<sup>2)</sup> und Benecke<sup>3)</sup> über die mineralische Nahrung der niederen Pilze wurden in den bakteriologischen Handbüchern bislang meist noch nicht angeführt.

Von den letztzitierten Forschern ausgehend, könnte man mit gewisser Berechtigung den Einwand erheben, daß Mg und S auch bei den Bakterien höchstwahrscheinlich als unentbehrliche Nährbestandteile fungieren, und deshalb sei auch keine Rede von einer vollständigen Entziehung derselben zum Zwecke der Feststellung ihrer spezifisch chromogenen Funktion. Denn im letzteren Falle müsse die Entwicklung überhaupt vollständig ausbleiben, wie andererseits „die Farbstoffbildung doch als ein Zeichen des Wohlbefindens, nicht als Hemmungsprodukt“ aufzufassen sei. Diese letztere von Fischer<sup>4)</sup> ausgesprochene Ansicht, welcher sich auch Lehmann und Neumann<sup>5)</sup> anschließen, indem sie die Entstehung des Pigments von günstigen Wachstumsbedingungen abhängig sein lassen, beruht auf einem Mißverständnis meiner und besonders Noesskes Untersuchungen. Weiter unten werde ich darlegen, daß die Farbstoffbildung beim *Prodigosus* unter sonst recht günstigen Wachstumsbedingungen sehr zurücktreten kann und sich erst nach Einwirkung an und für sich schädlich wirkender Stoffe einstellt. Zunächst soll hier über einige Versuche berichtet werden, welche ich in Anlehnung an Molisch Beobachtungen unternommen habe.

Molisch wies die Notwendigkeit des Mg für die mineralische Nahrung niederer Pilze in der Weise nach, daß er zeigte, wie *Aspergillus niger* und eine *Penicillum*-Art auf folgender Lösung nicht zur Entwicklung gelangten:

500 g destilliertes Wasser  
 10 „ essigsäures Ammoniak  
 0,2 g SO<sub>4</sub>Ca  
 0,2 „ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
 0,005 „ SO<sub>4</sub>Fe

Dagegen trat bereits nach Zusatz von 0,02 Proz. MgSO<sub>4</sub> eine befriedigende Pilzernte ein.

1) Sitzungsber. d. mathem.-physikal. Klasse d. Münch. Akad. d. Wissensch. München 1897.

2) Sitzungsber. d. kgl. bayr. Akad. d. Wissensch. 1894. p. 566.

3) Bot. Centralbl. Bd. LX. 1894. p. 195.

4) Vorlesungen über Bakterien. 1903. p. 151.

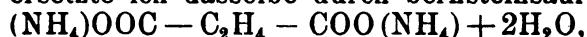
5) Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 1904. p. 62.

Molisch schließt bei seinen Versuchen die Verwendung von Glycerin und Zucker aus, weil es ihm, trotz aller darauf verwendeter Mühe nicht gelang, diese beiden Kohlehydrate absolut aschefrei, insbesondere frei von Eisen, herzustellen. Leider war es mir, trotz sorgfältigster Beobachtung der Reaktion des Nährbodens, nicht möglich, den *Prodigiosus* auf oben angegebener Mischung mit oder ohne Magnesiumsulfat zur Entwicklung zu bringen, anscheinend ist derselbe außer stande, die Essigsäure als Nahrung zu verwerten, bezw. seinen Kohlenstoffbedarf aus derselben unter den gegebenen Verhältnissen zu decken. Dagegen fand ich, daß sich Molisch's Resultate bezüglich des *Aspergillus* auf den von mir nach dessen Vorschrift hergestellten Lösungen in vollem Umfange bestätigten. Man kann wohl sagen, daß die Wiederholung der Versuche nach Molisch einen guten Prüfstein für die Exaktheit der befolgten Arbeitsweise bildet, und dürfte den in dieser Richtung arbeitenden noch ungeübten Versuchsanstellern wohl zu empfehlen sein, ihre praktische Fähigkeit erst einmal in dieser Hinsicht zu erproben.

Die Mühe bei derartigen Versuchen ist keineswegs gering, so mußte ich mir manche Komponenten der Substrate teils selbst herstellen, teils die Salze einer mehrmaligen Umkristallisation mit besonders reinem destilliertem Wasser unterziehen<sup>1)</sup>.

Die Glassachen, welche ich zu den Vorbereitungen und diesen Versuchen selbst benutzt habe, waren aus Jenaer Hartglase hergestellt und wurden vor ihrem Gebrauche mit Chromschwefelsäure, darauf mit Salzsäure ausgekocht und durch Spülen mit destilliertem Wasser, welches ich durch zweimaliges Umdestillieren des käuflichen erhalten hatte, nachgereinigt. Die Destillation fand in gläsernen Apparaten statt.

Da nun das essigsäure Ammoniak für den *Prodigiosus* ungeeignet sich erwies, so ersetzte ich dasselbe durch bernsteinsaures Ammoniak



da dieses gleichfalls in sehr reinem Zustande sich darstellen läßt und als guter, dem Asparagin nahekommender Nährstoff für Bakterien bekannt ist.

Um befriedigende Entwicklung des *Aspergillus* zu erzielen, erwies sich diese Lösung nicht geeignet, wohingegen der *Prodigiosus*, wie schon in meiner früheren Abhandlung erwähnt, mit Bernsteinsäure als C-Quelle recht wohl zufrieden ist. Um die Entwicklung des *Aspergillus* mit der des *Prodigiosus* vergleichen zu können, setzte ich noch Glycerin zu und stellte folgende Komposition her:

Ammonium succineum	1,0	
Glycerin (bidestill. purissimum pro analysi Merck)	2,0	Reaktion neutral gegen Lackmus
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,1	
$\text{MgSO}_4$	0,2	
Destilliertes Wasser	100,0	

Die Lösung wurde in Mengen von je 50 ccm auf 4 Erlenmeyer-Kölbchen verteilt und die eine Hälfte mit *Aspergillus niger*, die andere Reihe dagegen mit *Bacillus prodigiosus* beimpft. (Ueber die Entwicklung des *Prodigiosus* auf obiger Lösung unter Ausschluß des Glycerins siehe später.)

*Aspergillus* entwickelte eine weiße Decke, es zeigte sich nach einigen Wochen, daß der Ausschluß des Eisens aus dieser Mischung doch

1) Soweit möglich, habe ich Merck's „garantiert reine Reagentien“ benutzt, dieselben erwiesen sich als recht zuverlässig.

nicht in vollkommener Weise geglückt war, wie durch die wenn auch spärliche Bildung brauner Fruchtköpfchen erwiesen wurde. Für die Pigmentbildung des *Prodigiosus* kann Fe wohl schon deshalb nicht von ausschlaggebender Bedeutung sein, weil Spuren dieses Elementes sehr schwer auszuschließen sind (vgl. Molisch). Deshalb dürfte ein derartig geringer Eisengehalt des Glycerins, wie im vorliegenden Falle, wohl ohne Belang bleiben, solange man nicht über die Entbehrlichkeit dieses Elementes zu entscheiden hat.

Der *Prodigiosus* gelangte auf vorstehender Lösung zu vollkommener Entwicklung und bildete reichlich tiefroten Farbstoff.

Nach Ausschaltung des  $MgSO_4$  gestaltete sich das Resultat für *Asperillus niger* durchaus negativ, die ausgesäten Sporen brachten es nicht einmal zur Keimung. Aber auch der *Prodigiosus* entwickelte sich nicht <sup>1)</sup>).

Wenn nun statt  $MgSO_4$   $MgCl_2$  gegeben wurde, so zeigte sich nach mehreren Wochen, daß vom *Aspergillus* zwar einige Sporen ein ganz geringes, kaum wahrnehmbares Mycel auf vollständig klargebliebener Flüssigkeit gebildet hatten, aber die Entwicklung sistierte, selbst nach Monaten wurde diese Stufe nicht überschritten. Etwas besser war unter gleichen Bedingungen der *Prodigiosus* gewachsen, er hatte sich zwar kümmerlich vermehrt, doch war die Flüssigkeit sichtlich getrübt und wies mikroskopisch zahlreiche lebende Individuen auf, mithin hatte sich der Spaltpilz unter diesen Verhältnissen besser zu behaupten vermocht, als der *Aspergillus*.

Somit gewinnt es den Anschein, als sei jener Einwand gerechtfertigt, indem der *Prodigiosus* auf Lösungen, welche absolut frei von Magnesium und Sulfat sind, seinen Farbstoff nicht <sup>2)</sup> herstellt, weil er überhaupt nicht zu existieren vermag.

Und doch darf diese Folgerung nicht ohne weiteres in dem Sinne gelten, daß die Pigmentbildung erst mit vollständigem Ausschluß des Magnesiumsulfats sistiert, wie sich aus folgendem Versuch ergibt.

Eine Lösung:

Asparagin	1,0	
d-Glukose	2,5	Reaktion neutral; in Kölbchen von
Kaliumbiphosphat	0,2	je 50 ccm verteilt
Magnesiumsulfat	0,1—0,2	
Destilliertes Wasser	100	

ließ sowohl *Aspergillus niger*, wie *Bac. prodigiosus* in charakteristischer Weise sich entwickeln, bei ersterem wurde die Myceldecke infolge überreichlicher Entwicklung kohlschwarz, letzterer bildete brillanten Farbstoff.

Der Traubenzucker war nach Vorschrift von Soxhlet <sup>2)</sup> hergestellt. Bei vorsichtigem Veraschen einer Probe von 5 g im Platintiegel fand ich doch noch einen kaum wägbaren Rückstand von weniger als 0,1 mg, in welchem ich aber Magnesium, selbst mikrochemisch, nicht mehr nachweisen konnte.

Wenn ich nun aus letzterer Lösung das  $MgSO_4$  wegließ, so vermochte sich *Aspergillus* immer noch zu einer allerdings ziemlich

1) Um bei derartigen Versuchen über die Notwendigkeit gewisser Aschebestandteile zu entscheiden, wird es mitunter nötig sein, successive mehrere Generationen auf gleicher Lösung zu züchten, da bei der ersten Kultur vom Ausgangsmaterial immerhin ausreichende Mengen der auszuschließenden Bestandteile übertragen werden können.

2) Soxhlet, Journ. f. prakt. Chemie. N. F. Bd. XXI. 1880. p. 245; vergl. auch Tollens, Handb. d. Kohlenhydrate. Bd. I. 1898. p. 39.



dünnen Myceldecke zu entwickeln, dieselbe blieb aber schneeweiß und wies nur ganz vereinzelt Sporangien auf; aus der dürftigen Fruchtbildung ließ sich also schließen, daß der Entwicklungszyklus von Spore zu Spore infolge Mangel an Nährstoffen nicht abgeschlossen werden konnte. Aber andererseits konnte auch wieder keine Rede sein von einem absoluten Ausschluß des Magnesium, da ja nach Molisch ohne dieses Element nicht einmal Keimung der ausgesäten Sporen erfolgt<sup>1)</sup>.

So erscheint es auch erklärlich, daß der *Prodigiosus* auch in diesem Falle sich entwickeln konnte, deutliche Trübung und mikroskopische Prüfung ließen reichliche Vermehrung erkennen und selbst nach 4maligem Ueberimpfen auf andere Kolben desselben Substrates (frei von zugesetztem  $MgSO_4$ ) unter Innehaltung mehrwöchentlicher Pausen ließ keine Abnahme der Massenentwicklung wahrnehmen.

So bin ich auf Grund der mitgeteilten Versuche wohl in der Lage, mit einiger Sicherheit anzunehmen, daß der *Prodigiosus* in letztgenannter Mischung selbst unter Ausschluß von  $MgSO_4$  immer noch genügende Mengen von Magnesium vorfand, um sich fortzupflanzen. Dagegen blieb die Farbstoffbildung genau in derselben Weise aus, wie ich dies in meiner früheren Arbeit bereits geschildert habe. Reine  $H_2SO_4$  den Kulturen in Spuren zugesetzt, vermochte noch keine Farbstoffbildung anzuregen, dieselbe stellte sich erst ein, sobald eine Spur von Mg und Sulfat geboten wurde.

Danach dürfte die zur Pigmentproduktion erforderliche Menge Mg und  $H_2SO_4$  dasjenige Quantum, welches zum sogenannten Existenzminimum erforderlich ist, doch noch übersteigen, wenn auch nur in minimalen Verhältnissen.

Samkow<sup>2)</sup>, welcher zwar Mg für unbedingt nötig bei der Bildung des Pigments erachtet, aber daneben in manchen Fällen auch Cl für erforderlich hält, hat, als er auf der von ihm zum Beleg mitgeteilten Komposition (Asparagin, Glukose,  $KH_2PO_4$ ,  $Na_2CO_3$ ,  $MgCl_2$ ) Farbstoffbildung trotz Fehlens eines Sulfats eintreten sah, wohl meinen früher ausgesprochenen Hinweis übersehen, daß in den Kohlehydraten gelegentlich noch wirksame Spuren von Sulfat enthalten sein können. Kontrollversuche mit verschiedenen reinen Kohlehydraten oder geeigneten

1) In einer jüngst veröffentlichten Abhandlung (Bot. Ztg. 1906) spricht sich auch Benecke dahin aus, daß sowohl Mg und Sulfat für das Wachstum von *Bac. fluorescens* und *pyocyaneus* nötig sind. Benecke war in der Lage, für seine Versuche Kolben aus Bergkristall verwenden zu können, welche vom Wasser nicht im mindesten hydrolysiert werden, wie dies bei Jenaer Glas der Fall ist, welches doch immer noch geringe Spuren von Mg abgibt. Würde aus der letztangeführten Tatsache ein Einwand gegen die Art meiner Versuchsanstellung konstruiert, so wäre demgegenüber darauf hinzuweisen, daß auch Molisch, dessen Ergebnisse sich in vollem Umfange bestätigt haben, noch nicht mit Kristallgefäßen gearbeitet hat. Bei der großen Schwierigkeit, die letzten Spuren unerwünschter Elementarbestandteile gänzlich auszuschließen, müssen diese Experimente in gewissem Sinne schließlich doch immer für in gewisser Weise empirisch gelten, und ich möchte deshalb noch hervorheben, daß ich absichtlich nicht vermieden habe, die organischen Nährbestandteile in verhältnismäßig reichlichen Mengen zu verwenden. Aus der Arbeit von Benecke ist auch nicht ersichtlich, ob das Jenaer Glas auch nach der von mir befolgten gründlichen Reinigungsmethode noch Mg abgibt. Herbst fand nach Benecke in 3 l doppelt in Apparaten aus Jenaer Glas destillierten Wassers etwa 0,00015 g Mg, das wären für 50 ccm 0,0000025 g (!) Mg; ist diese geringe Menge von Bedeutung, dann würde unter Umständen ein zufällig aus der Luft in die Nährlösung gelangtes Staubteilchen Ausschlag geben können.

2) l. c. p. 308.

organischen Säuren, wie Noesske und ich an anderer Stelle gezeigt haben, hätten hier angestellt werden müssen.

Wie bereits erwähnt, kann sich der *Prodigosus* mit Bernstein-säure als Kohlenstoffquelle begnügen. Als ich denselben aber unter Ausschluß des Glycerins auf folgendes Substrat impfte:

Bernsteinsaures Ammon	1,0	Reaktion neutral, in Kolben von je
Kaliumbiphosphat	0,1	50 ccm verteilt
Magnesiumsulfat	0,1—0,2	
Destilliertes Wasser	100	

entwickelte sich der Spaltpilz außerordentlich üppig, aber ohne Farbstoff zu bilden, trotzdem das Impfmateriale von einer kräftig Pigment erzeugenden Kultur entnommen war. Wiederholung des Versuches mit frisch bereiteter Lösung ergab dasselbe Resultat, selbst nach einmonatlichem Stehen hatte sich kein Farbstoff gebildet. Um eine sogenannte „weiße Rasse“ kann es sich in diesem Falle nicht handeln, weil nach Uebertragung auf Kartoffel sofort wieder rote Kulturen von normalem Aussehen entstanden.

Da die Entwicklung des *Prodigosus* auf dieser Lösung eine besonders reichliche und üppige ist, so erscheint dieser Versuch besonders geeignet, darzutun, daß Alfr. Fischers Meinung, die Pigmentbildung stehe in engster Beziehung zur Wachstumsfreudigkeit, nicht in vollem Umfange richtig ist.

Als ich den Ursachen nachforschte, weshalb die Farbstoffbildung in diesem Falle versagte, fand ich, daß die jungen und alten Kulturen stark alkalisch reagierten. Obwohl *Bac. prodigosus* längst als Alkalibildner bekannt ist<sup>1)</sup>, sah ich mich doch veranlaßt, die Reaktion zu korrigieren; es wurden mittels steriler Platinöse einige Tröpfchen reiner konzentrierter Schwefelsäure zugesetzt, so lange bis die gut durchgeschüttelte Kultur wieder neutral reagierte. Um dies festzustellen, wurde mit steriler Glaspipette eine kleine Quantität entnommen und mit empfindlichem Lackmuspapier geprüft. Beim Umschütteln nach dem Säurezusatz bildete sich ziemlich viel Schaum und nach 2—3 Tagen fand sich auf der Oberfläche, besonders auf den Schaumblasen, eine ganz schwache Rötung, es gewann den Anschein, als wolle der Pilz sich doch noch zur Farbstoffbildung anschicken. Aber am nächsten Tage war die Spur von Farbstoff wieder verschwunden. Da die Reaktion wieder alkalisch geworden war, wiederholte ich den Schwefelsäurezusatz, diesmal etwas ausgiebiger, bis die Reaktion ganz schwach sauer wurde. Nach 2—3 Tagen trat sehr kräftige Pigmentbildung ein, selbst bei Kulturen, die bereits über 1 Monat farblos gestanden hatten. Auffällig erscheint mir, daß der Farbstoff immer erst nach einiger Zeit sich bildete, um eine glatte Umwandlung der etwa vorhandenen Leukobase infolge des Säurezusatzes dürfte es sich also doch nicht handeln. Durch erfolgreiche Ueberimpfung auf Kartoffel ergab sich, daß die Kulturen noch lebensfähig waren.

Weitere Versuche unter analogen Bedingungen zeigten, daß nachträgliche Farbstoffbildung auch erreicht werden konnte, wenn die Neutralisation durch reine Salzsäure oder auch Ameisensäure bewirkt wurde.

Wenn ich aber *Bac. prodigosus* auf folgende Lösung überimpfte:

Ammon. succineum	1,0
$KH_2PO_4$	0,1
$MgCl_2$	0,1
Destilliertes Wasser	100,0

1) Scheurlen, Arch. f. Hyg. Bd. XXVI. 1896.

konnte ich nach erfolgter Entwicklung durch Zusatz von HCl in Spuren niemals Farbstoff erzielen, nur  $H_2SO_4$  ergab positive Resultate, woraus ich also in Uebereinstimmung mit früheren Versuchen und im Gegensatz zu Samkow einen weiteren Beleg dafür entnehme, daß Sulfat als Farbstoffnahrung unentbehrlich ist.

Jedoch brachten mich diese Erfahrungen mit der nachträglichen Farbstoffbildung auf die Vermutung, daß neben der Gegenwart genügender Mengen von Magnesiumsulfat auch noch die Art der Dissoziation der Nährbestandteile in Frage kommt; ich halte es für sehr wahrscheinlich, daß je nach den Umsetzungen, welche der Pilz einleitet, gewisse Reizvorgänge oder auch weitere chemische Umwandlungen ausgelöst werden, welche schließlich zur Entstehung des Farbstoffes oder Umwandlung der Leukobase führen mögen. Der Farbstoffbildungsprozeß wird aber niemals stattfinden, wenn nicht genügende, das Existenzminimum übersteigende Quantitäten von Mg und S (in Form eines Sulfates) gegenwärtig sind.

Die für die Pigmentproduktion besonders günstige Wirkung des Glycerins, ebenso der mehrwertigen Alkohole (Mannit, d-Glukose, Milchsucker, Rohrzucker) in den von mir angegebenen Nährlösungen glaube ich also dahin deuten zu dürfen, daß die bei den zymogenen Spaltungen der eben genannten Körper neben mehr oder minder großen Mengen  $CO_2$  vielfach entstehenden sauren Zwischenprodukte (Glycerinsäure, Bernsteinsäure, Ameisensäure etc.) der Pigmentbildung in gewisser Weise förderlich sind. Ist aber genügend überschüssiges Alkali vorhanden, sei es infolge Zerlegung der Salze, sei es durch Bildung von Stoffwechselprodukten, so mag unter Umständen die Wirkung der Säuren gehemmt und damit auch die Farbstoffbildung sistiert werden, die sich in manchen Fällen, wie bei dem eben mitgeteilten Versuche, erst nach vorsichtiger Ansäuerung der Kulturen wieder einstellt.

Mit dem eben Ausgesprochenen decken sich im allgemeinen auch die Erfahrungen derjenigen Autoren, welche Gelegenheit hatten, sich eingehender mit farbstoffbildenden Bakterien zu beschäftigen und feststellen konnten, daß in manchen Fällen eine schwach saure Reaktion des Nährbodens, welche ja an und für sich dem Wachstum der Bakterien nicht günstig ist, der Entstehung des Pigments förderlich sich erweist<sup>1)</sup>

Recht instruktiv ist hier folgender Versuch:

Man impfe von einer kräftig farbstoffbildenden „Rasse“

I. auf Asparagin	1,0	
d-Glukose	2,0	Reaktion schwach sauer
$KH_2PO_4$	0,2	
$MgSO_4$	0,2	
Destilliertes Wasser	100,0	
II. auf Asparagin	1,0	
d-Glukose	2,0	
$K_2HPO_4$	0,2	Reaktion leicht alkalisch eventuell mit KOH nach-
$MgSO_4$	0,2	zuhelfen, indem nach dem Sterilisieren noch
Destilliertes Wasser	100,0	kleine Mengen mit der Platinöse zugesetzt werden

In vielen Fällen wird man auf I brillanten Farbstoff erzielen, auf II wird derselbe zurücktreten, heller erscheinen, oft ganz ausbleiben.

1) Lehmann u. Neumann (l. c. p. 27) empfehlen, dem Nährboden nicht zu viel Alkali zuzusetzen, um bessere Farbstoffproduktion zu erzielen. Vergl. auch Kraft, dessen Dissertation (Würzburg 1902) mir leider nur im Referat (Baumgarten) zugänglich war.

So hat man es bei diesen Lösungen unter Umständen fast willkürlich in der Hand, farblose Rassen entstehen zu lassen, welche aber durch Anreiz, sei es durch Säurezusatz, sei es durch Impfung auf Lösungen, die der Farbstoffbildung besonders günstig sind, oder endlich auch durch Passage über  $MgSO_4$ -freie (genauer gesagt:  $MgSO_4$ -arme) Lösungen sehr schnell wieder stark chromogen werden.

Bei dieser Gelegenheit ergibt sich auch die Wahrnehmung, welche übrigens mit analogen physiologischen Erfahrungen übereinstimmt, daß derartig „gereizte“ Stämme die Farbstoffbildungsenergie meist eine gewisse Zeitdauer hindurch beibehalten, so gelingt es in diesem Falle verhältnismäßig schwieriger, „farblose Rassen“ im Sinne von Schottelius, d. h. solche, welche nach Kultivierung bei  $37-40^\circ$  auch bei Zimmertemperatur auf Kartoffel weiß wachsen, heranzubilden, als wenn man von Kulturen ausgeht, welche lange Zeit hindurch auf gleichbleibendem Nährboden gehalten wurden. Diesen physiologischen Tatsachen wird man Rechnung tragen müssen, wenn man Untersuchungen über die Bedingungen der Farbstoffbildung anstellt.

Der Frage, ob verschiedene Stämme des *Prodigosus* etwa ein individuell verschiedenes Säure- bzw. Alkalibildungsvermögen auf ein und derselben Nährlösung erkennen lassen, glaubte ich auch näher treten zu müssen.

Zu diesem Zwecke wählte ich zwei ursprünglich aus Chicago bezogene Stämme, No. II, welcher gerade sehr kräftig Farbstoff bildete, und No. VII, welcher zu jenem Zeitpunkte von allen mir zur Verfügung stehenden am schwächsten war und fast ganz farblos wuchs. Um Fremdinfection auszuschließen, unterwarf ich beide einer nochmaligen Prüfung durch das Plattenverfahren und impfte, von je einer Kolonie ausgehend, zunächst auf Bouillon und von dieser auf folgende Mischung:

Asparagin	1,0	
d-Glukose	2,5	Reaktion vor dem Sterilisieren ganz neutral gegen Lack-
$K_2HPO_4$	0,2	mus. In Reagenzröhrchen von je 20 ccm gefüllt, je
$MgSO_4$	0,2	2 Parallelreihen
Destilliertes Wasser	100,0	

Zum Titrieren wurde  $n/10$  NaOH resp.  $n/20$   $H_2SO_4$  gewählt und als Indikator eine 2-proz. Phenolphthaleinlösung benutzt.

Es erforderten unter Berücksichtigung des Titors für ungeimpften Nährboden bis zum Eintritt deutlicher schwach rosa Färbung (bzw. bei — bis zum Verschwinden derselben) an  $n/10$  NaOH resp.  $n/20$   $H_2SO_4$  je 10 ccm (s. Tabelle p. 309).

Die mitgeteilte Tabelle soll nur zeigen, daß einzelne Stämme in der Art ihres Umsetzungsvermögens sich individuell verschieden verhalten können. Weiterer Untersuchung bleibt es vorbehalten, nachzuweisen, ob ein Zusammenhang zwischen der Intensität der Farbstoffbildung und dem Spaltungsvermögen (Säure- resp. Alkalibildung) besteht. Stamm VII bildet bei Zimmertemperatur wie im Thermostaten auf Zuckerlösung erheblich mehr Säure als Stamm II. (Auf Bouillon ist das Verhalten beider Stämme ziemlich gleich, doch bleibt hierbei zu berücksichtigen, daß die Erkennung der Phenolphthaleinreaktion auf letzterer weniger leicht ist, auch mögen hier die Zwischenprodukte viel komplizierter sein.) Das Säurebildungsvermögen scheint, soweit sich aus diesen einzelnen Versuchen erkennen läßt, nicht direkt proportional der Farbstoffbildung, vielleicht ist es aber möglich, daß ein gewisser Antagonismus besteht, doch müssen erst umfangreiche weitere Versuche entscheiden, ob in

dieser Richtung überhaupt positive Ergebnisse über die variierende Farbstoffbildungsintensität zu erwarten sind.

A. Bei Zimmertemperatur (18—20° C).

	Stamm II						Stamm VII					
	48 Stdn.	48 Stdn.	nach		9 Tagen	9 Tagen	48 Stdn.	48 Stdn.	nach		9 Tagen	9 Tagen
			5 Tagen	5 Tagen					5 Tagen	5 Tagen		
Gewöhnliche Bouillon nach Koch (Titer ungeimpft 2,4—2,5 n/10 NaOH)	1,0	1,0	0,8	0,7	0,6	0,6	0,8	0,8	0,8	0,8	0,6	0,5
			schwache Pigmentbildung		rot, deutlich Pigmentbildung		ohne Pigment		ohne Pigment		üppiges Wachstum, blaßrosa Flocken	
Asparagin-Zuckerlösg. (Titer ungeimpft nach dem Sterilisieren 2,0 n/10 NaOH)	0,4	0,5	0,8	0,8	0,8	0,8	1,0	1,1	1,0	1,2	1,4	1,5
			gute Farbstoffbildung				ohne Pigment					

B. Bei Bruttemperatur (37—37,5° C).

	Stamm II						Stamm VII					
	48 Stdn.	48 Stdn.	nach		9 Tagen	9 Tagen	48 Stdn.	48 Stdn.	nach		9 Tagen	9 Tagen
			5 Tagen	5 Tagen					5 Tagen	5 Tagen		
Gewöhnliche Bouillon (wie oben)	1,0	0,85	-0,4	-0,5	-1,7	-1,8	0,85	1,0	-0,2	-0,2	-1,7	-1,7
			Spur Pigment						ohne Pigment			
Asparagin-Zuckerlösg. (wie oben)	0,7	0,8	1,20	1,25	1,50	1,50	1,8	1,6	2,00	2,10	2,20	2,20
			ohne Pigment				ohne Pigment					

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Geisseln bei fusiformen Bacillen.

Von Dr. H. C. Plaut, Hamburg.

Mit 1 Tafel und 11 Figuren.

Die mikroskopische Untersuchung des Belags einer typischen Angina ulceromembranosa ergibt auf der Höhe der Krankheit scheinbar eine Reinkultur von fusiformen Bacillen und Spirochäten. Geringe Mengen Belagmasse direkt aus der Mundhöhle im hängenden Tropfen untersucht, zeigen bei schwacher Vergrößerung ein kolossales Durcheinanderwogen aller Teilchen, dem Bilde vergleichbar, das man erhält, wenn man lebendes Flimmerepithel beobachtet. Aus diesem eigentümlichen Wogen der Belagselemente kann man schon mit schwacher Vergrößerung eine Diagnose auf diese Anginaform stellen, vorausgesetzt, daß die Spirochäten, wie gewöhnlich, in erheblicher Menge vorhanden sind. Die Bewegung geht, wie die Untersuchung mit starken Systemen zeigt, sowohl von den Spirochäten, als auch von den Spindelstäben aus. Die Spirochäten haben den Hauptanteil. Sie bewegen sich nach allen Seiten hin, aber auch an den Stellen, wo sie an irgend einem Gegenstand haften, führen sie strampelnde Bewegungen aus. Der Mechanismus der Lokomotion gleicht dem eines Regenwurms: ein kleiner Teil des Körpers hebt sich in die Höhe und senkt sich blitzschnell wieder und so kriecht die Hebung und Senkung wie eine Welle bis zum Ende der Spirochäte weiter. Bei sehr genauer Beobachtung erhält man den Eindruck, als ob ein dunkler Punkt sich fortwährend von einem Ende der Spirochäte zum anderen fortbewege. Dieser Punkt entsteht dadurch, daß der Spirochätenkörper sich zusammenzieht und infolgedessen dicker wird. Die Fortbewegung wird, wie man leicht einsieht, durch diesen Mechanismus erleichtert, vielleicht allein durch ihn ermöglicht. Finden keine Bewegungen vom Platze statt, so kommt es mitunter zu einer Verwicklung: ein Teil der Spirochäte macht einen Knoten. Hierdurch entstehen Schleifen, die bei Ueberfärbung Sporen oder ähnliches vortäuschen können.

Die Spindelstäbe scheinen bei oberflächlichem Hinsehen nur durch die Spirochäten, also passiv bewegt, besonders dann, wenn sie mit den Spirochäten innig vermischt sind. Bringt man aber nur wenig Material in den hängenden Tropfen, so daß die Spirochäten und Bacillen möglichst weit voneinander getrennt sind, so sieht man, daß die großen und mittelgroßen Bacillen eine sehr deutlich wackelnde Bewegung haben, die auch eine gar nicht so langsame Ortsveränderung gestattet.

Die kleinen halbmondförmigen Bacillen, welche man nach der Trennung erst ordentlich wahrnimmt, haben eine überaus lebhafte ortsverändernde Bewegung, drehen sich um ihre Achse und überschlagen sich im Weiterschießen. Nur die ganz großen fadenförmigen Bacillen, welche an feine Mycelien erinnern und im Gegensatz zu den anderen sehr selten anzutreffen sind, beteiligen sich an der Bewegung nicht.

Außer dieser bekannten Bakterienassoziation sind noch kleine Lebewesen vorhanden, die meines Wissens noch nicht beschrieben worden sind. Es sind ganz kleine punktförmige, häufig etwas ovale Formen, die überaus schnell das Gesichtsfeld passieren. Unbeweglich sind in den Belagmassen nur die oben erwähnten langen Bacillen, die

Kokkenhaufen, die *Leptothrix*-Formen und einige dicke, an den Enden abgerundete Bacillen. Die Bewegung findet auch bei Zimmertemperatur lebhaft statt und erlischt bei dieser nach 4—6 Stunden.

Zuerst werden die großen und mittelgroßen Bacillen ruhig (etwa nach  $\frac{1}{4}$  Stunde), dann die halbmondförmigen. Am längsten bleiben die Spirochäten beweglich. Im Brutschrank aufbewahrte feuchte Kammern mit besäten und vor Verdunstung geschützten Tropfen zeigen noch nach 24 Stunden Beweglichkeit der Spirochäten. Auf die Intensität der Beweglichkeit der einzelnen Formen hat die höhere Temperatur keinen Einfluß.

Wenn man die Geißeldarstellungsmethode in der unten genau beschriebenen Art und Weise anwendet, so bekommt man folgende Verhältnisse: Sämtliche Bacillenformen, mit Ausnahme der ganz langen fadenförmigen, sind begeißelt.

Die Begeißelung ist durchweg eine peritriche, jedoch haben einige Formen mit Vorliebe nur eine und zwar die konkave Seite begeißelt. Die Geißeln sind in Bezug auf ihren Dickendurchmesser nicht gleichwertig, sondern man kann dicke Geißeln, feine Geißeln und selten Geißelzöpfe unterscheiden. Während die gewöhnliche Färbung der Belagmassen mit Giemsa- oder Karbolfuchsinlösung die einzelnen Bacillen ziemlich gleichmäßig darstellt, so daß sie sich eigentlich mit Ausnahme der Größe sehr ähnlich sehen, ermöglicht die Geißeldarstellung die Zusammenfassung sonst wenig differenzierter Formen zu bestimmten Gruppen.

Am häufigsten findet man mittelgroße Bacillen ( $6,3$ — $8,75$ — $10,4 \mu$ ), welche aus zwei Teilen zusammengesetzt erscheinen (Fig. 1).

Die beiden Teile gleichen langen schmalen Pyramiden, welche mit der Basis verbunden sind. Am Ort der Verbindung bleibt oft ein heller Raum frei (Fig. 2). Diese Bacillenteile sind selten gekrümmt, liegen aber manchmal winkelig zueinander, so daß der ganze Bacillus dann den Eindruck eines gekrümmten Keims macht (Fig. 2 und Taf. Fig. 13 unten).

Diese Bacillen sind mit feinen Geißeln versehen, die man nicht besser als mit feiner Watte vergleichen kann. Manchmal sehen die Geißeln aus, als seien sie verfilzt (Fig. 1, Taf. Fig. 1 und Fig. 13), manchmal sind sie

nicht so verschlungen, sondern liegen freier zu Tage, wie in Taf. Fig. 2. Diese Wattegeißeln kommen auch einer Form zu, die eine Art Uebergang zu der nächsten Gruppe bildet. Es handelt sich um schwach gekrümmte Stäbchen mit scharf zugespitzten Enden (Taf. Fig. 3 und Fig. 3).

Die zweite Gruppe umfaßt die mittelgroßen und großen Bacillen ( $6,5$ — $15,6 \mu$ ), die vorzugsweise nur auf einer Seite begeißelt sind (Fig. 4, 5, 6, Taf. Fig. 4). Sie unterscheiden sich ohne Geißeldarstellung von den gewöhnlichen Formen der fusiformen Bacillen kaum, höchstens durch die stärkere yataganähnliche Form. Wenn man sie aber einmal mit Geißeldarstellung gesehen hat, kann man sie auch ohne solche in gewöhnlich gefärbten Präparaten wiedererkennen. Zweierlei Geißeln kann man an ihnen unterscheiden: 1) die oben beschriebenen feinen Wattegeißeln und 2) kräftige Geißeln (Hauptgeißeln), vielleicht als Geißelzöpfe aufzufassen. Die Gei-



Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

Belag ist meist nur auf der konkaven Seite (Fig. 4 und 5, Taf. Fig. 4). Gewöhnlich haben diese Formen nur eine Hauptgeißel, häufig aber auch zwei. Die feinen Geißeln sind zum Unterschiede von der vorigen Art meist nach derselben Richtung gerichtet, wie nach einer Seite hin gekämmt. Die Größe dieser Yataganformen schwankt in erheblichen Grenzen. Man findet auch ausnahmsweise sehr kleine Formen (Fig. 6, 2,6 - 3  $\mu$ ), die zu der nun folgenden Gruppe der halbmondförmigen hinüberleiten.



Fig. 5.



Fig. 6.

Wenn man die Repräsentanten dieser Gruppe, die unter dem Namen *Spirillum sputigenum* von Miller beschrieben wurden, mit gewöhnlichen Anilinfarben gefärbt betrachtet, so kann man zwei verschiedene Formen unterscheiden, nämlich gekrümmte Stäbchen mit abgerundeten und solche mit spitzeren Enden. Die ersteren machen einen wurstförmigen Eindruck, die letzteren einen halbmondförmigen.

Begeißelt lassen sich 7 verschiedene Formen unterscheiden.

1) Wurstförmige Formen mit einer kräftigen Geißel (2,9  $\mu$ ) an einem Ende (Taf. Fig. 5 und Fig. 6).

2) Wurstförmige Formen mit 4 ganz feinen Geißeln regelmäßig an den Enden angeordnet (Taf. Fig. 6), wurstförmige oder halbmondförmige Formen mit einer Hauptgeißel in der Mitte der konkaven Seite (Taf. Fig. 7, Fig. 7 im Text), solche mit zwei Geißeln auf der konkaven Seite (Fig. 8 im Text) und solche mit vielen feinen Geißeln auf beiden Seiten (Fig. 9 im Text).

3) Etwas gestrecktere Gebilde, als unter 1 und 2 beschrieben, mehr halbmondförmige Formen, etwas größer als 1 und 2, mit vielen sehr feinen Geißeln von der Mitte der konkaven Seite ausgehend (Fig 8. und 9, 3,1—4,0  $\mu$ ).

4) Leicht S-förmig gekrümmte Formen, doppelt so groß wie 3, die Enden genau wie bei 3, mit vielen sehr feinen Geißeln, die von zwei



Fig. 7.



Fig. 8.



Fig. 9.

Punkten des Körpers ausgehen und zwar von der Mitte des konkaven Randes der das S bildenden Krümmungen (Taf. Fig. 10). Ohne Geißeldarstellung ist dieses S-förmig gekrümmte Stäbchen absolut nicht von einem mittelgroßen fusiformen Stäbchen zu unterscheiden. Erst die Geißelmethode gibt über seine wahre Natur Aufschluß. Es handelt sich um zwei halbmondförmige Formen, wie unter 3 beschrieben, die so zusammengeschnitten erscheinen, daß eine leicht gekrümmte S-Form entsteht. Daß hier ein zufälliges Vorkommnis, ein Kunstprodukt vorliegt, ist ausgeschlossen, wie ein Blick mit der Lupe auf das beigegebene Photogramm zeigt, außerdem finden sich viele derartige S-förmig gekrümmte Formen im Belag einer jeder Angina ulceromembranosa, so daß von einer zufälligen Zusammenlagerung nicht die Rede sein kann. Diese Form scheint mir besonders wichtig zu sein. Sie liefert den Beweis, soweit ein solcher ohne Kultur überhaupt geführt werden kann; daß die gewöhnlich mit dem Namen *Spirillum sputigenum* bezeichneten Halbmonde im genetischen Zusammenhang mit den fusiformen



Stäbchen stehen. Es läßt sich auch mit ziemlicher Sicherheit sagen, daß die Halbmonde durch Abschnürung aus den fusiformen Bacillen frei werden, nicht, daß die Halbmonde zu den Stäbchen heranwachsen.

5) Wurstförmige Gebilde mit spirochätenartig gewundenen Geißeln (Taf. Fig. 7 und 11) am konkaven oder seltener am konvexen Rande hervorkommend. Diese Geißeln sind viel kräftiger als die bei No. 3 und 4 beschriebenen liegen häufig frei (Taf. Fig. 5), im Präparate herum, wo sie bei der Geißeldarstellung von feinen Spirochäten nicht zu unterscheiden sind.

6) Halbmondförmige Formen mit Geißelzöpfen.

7) Als letzte Gruppe kann man alle anderen Stäbchen zusammenfassen, welche beinahe geraden Verlauf oder sehr schwache Krümmung haben, spitze Enden und sehr verschiedene Größen. Diese haben nur vereinzelt Geißeln auf beiden Seiten des Körpers und zwar feine gewellte Geißeln (Taf. Fig. 12, 13 oben, 14).

Die oben beschriebenen ziemlich selten vorkommenden ovalen und runden schnell dahinfahrenden Punkte haben ganz enorm lange Geißeln, auf denen sich das Silber oft nur punktförmig niederschlägt (Fig. 10). Ich habe Geißeln gesehen, die 50mal länger waren als die kleinen

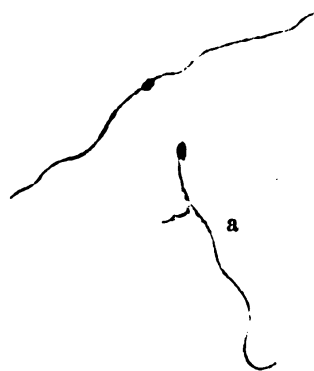


Fig. 10.

Körper, von denen sie ausgehen. Bemerkenswert ist, daß eine echte Verzweigung dieser Geißelfäden vorkommt, wie ein Mycel (Fig. 10a). Die Seitenzweige setzen unter rechtem Winkel an. Verzweigungen von Geißeln sieht man auch bei den Spirillum sputigenum-Formen (Taf. Fig. 8, 9, 10), dort aber gehen die Seitenzweige spitzwinkelig von einem Punkte aus, einem Helmbusch vergleichbar.

Die Spirochäten treten nach der Geißelbehandlung viel deutlicher hervor, als nach der Färbung mit Anilinfarben.

Bemerkenswert ist, daß bei einzelnen Exemplaren nicht die ganze Leib-

substanz der Spirochäte mit Silber imprägniert wird, sondern eine kurze stark imprägnierte Stelle mit einer gar nicht imprägnierten fadenförmigen abwechseln kann (Fig. 11).

Die feinen Endfäden der Spirochäten werden mit der Silbermethode nicht so gut sichtbar gemacht, wie nach der Löfflerschen Geißeldarstellung.

### Methode der Geißeldarstellung.

(Kombination der Methode van Ermengem-Zettnow.)

#### 1. Vorbereitung des Belags.

Vom Belag wird eine Platinöse auf  $\frac{1}{4}$  ccm 2-proz. Formalinlösung gebracht und die Masse durch zartes Bewegen mit dem Draht gut verteilt. Zentrifugieren des Gemisches ist nicht zu empfehlen, da sonst die ohnehin sehr lockeren Geißeln abreißen.

#### 2. Vorbereitung der Objektträger.

Gut gereinigte Objektträger werden mit heißer konzentrierter Schwefelsäure übergossen. Abspülen in Leitungswasser. Uebergießen mit 15-proz. Natronlauge. Abspülen in Leitungswasser. Abspülen in Alkohol. Ab-



Fig. 11.

reiben mit feinem Leinentuch, das in Alkoholäthermischung (ää) getaucht wird. Staubfrei aufbewahren.

### 3. Auftragen des Materials.

Auf den spiegelblanken Objektträger wird ein Tropfen gekochtes, filtriertes, destilliertes Wasser gebracht und mit der Platindrahtöse quadratisch auseinander gezogen. Der Tropfen muß sich verteilen lassen, ohne daß Tröpfchen entstehen oder der Tropfen auseinanderläuft, sonst ist der Objektträger unrichtig vorbereitet. Nun bringt man eine Platinöse Formalinbelagmischung in die Mitte des nassen Quadrats und verteilt den neuen Tropfen gleichmäßig. Trocknen an staubfreiem Orte (unter Glasglocke).

### 4. Fixieren.

Fixieren der Schicht 1 Stunde lang in Alkoholäthermischung (ää).

### 5. Jodjodkali.

Uebergießen der Schicht mit Jodjodkalilösung (1 : 2 : 300). Einwirkung 3 Minuten. Abspülen in Alkohol und Wasser.

### 6. Beizung nach van Ermengem.

Osmiumsäure 2-proz. 1 Teil.

Tanninlösung 10-proz. 2 Teile (auf 100 ccm 5 Tropfen Eisessig).

Der Objektträger wird mit dieser Tinte übergossen, in feuchter Kammer 4 Stunden bei Zimmertemperatur oder  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $50^{\circ}$  C belassen. Abspülen, abwechselnd mit Wasser und Alkohol, bis jede Spur der Tinte verschwunden ist.

### 7. Versilberung nach Zettnow.

Gesättigte Lösung von Silbersulfat und destilliertes Wasser zu gleichen Teilen. Eintropfen von Aethylamin, bis gleich auftretender Niederschlag wieder vollständig verschwunden. Vorsichtiges Nachtröpfeln von Silbersulfatlösung bis zu dem Punkte, wo wieder ein Niederschlag entstehen will. Der feuchte Objektträger wird mit dieser Silberlösung übergossen und fortwährend bewegt. Nach einiger Zeit entsteht eine hellbraune Färbung des Quadrats. Abspülen und mit schwachem System ansehen. Wenn Geißeln eben sichtbar, keine Silberlösung mehr benutzen. Es genügt, wenn die Spirillum sputigenum-Geißeln deutlich sichtbar sind. Wenn die Geißeln noch nicht sichtbar, Wiederholung der Versilberung unter Erwärmung des Objektträgers, bis Dämpfe aufsteigen, unter fortwährendem Bewegen. Abspülen in Aqua destillata.

### 8. Verstärkung nach Zettnow.

Sublimatlösung 1 : 100 auftropfen, bis Bräunung vom Quadrat völlig verschwindet.

### 9) Vergoldung nach Zettnow.

Aurum chloratum 1, Aqua destillata 1000. Einige Tropfen auf den feuchten Objektträger bringen. 5 Minuten wirken lassen.

### 10. Reduktion nach Zettnow.

Sodalösung 2-proz. 4 Tropfen. Alkoholische Pyrogallussäurelösung (1 : 20) : 1 Tropfen. Auf den Objektträger bringen und leicht erwärmen. Deutliches Hervortreten des Quadrats in graublauer Farbe. Trocknen. Einschließen.

### Zu 1.

In der 2-proz. Formalinlösung halten sich die Geißeln monatelang. Es ist zweckmäßig, das Material in mit Glasstöpsel gut verschlossenen Fläschchen aufzubewahren.

Zu 2.

Schwefelsäure nicht zum Kochen bringen, da sonst der Objektträger springt.

Zu 5.

Ohne Jodjodkalilösung habe ich keine guten Resultate erhalten. Die Methode ermöglicht es, Geißeln in Präparaten zu erhalten, die noch eiweißhaltiges Material enthalten (Epithelzellen, Eiterkörperchen etc.).

Zu 6.

Man kann 10 Stunden beizen, ohne die Geißeln zu schädigen, länger nicht. Beim Erwärmen der Beize tritt die spätere Silberfärbung schneller ein. Reinere Präparate erhält man bei Beizung in der Kälte.

Zu 7.

Kristallinische Silberniederschläge lassen sich durch starkes Abspülen mit Wasser und Alkohol und die späteren Verstärkungsmethoden beseitigen. Man werfe kein Präparat weg, in dem sie auftreten, sondern vollende erst die ganze Methode.

Makroskopisch zeigen sich die kristallinen Niederschläge durch Auftreten eines sehr feinkörnigen Schleiers auf dem ganzen Objektträger an. Die Niederschläge werden durch die Bewegung verhindert, sich festzusetzen. Beim Erwärmen darf keine Stelle des Präparats trocken werden, sonst ist es verloren.

Die Methode gelingt bei genauer Befolgung der Vorschriften jedesmal.

Mit anderen Methoden habe ich keine so guten Resultate erhalten. Wandte ich Zettnows Methoden, die mir bei Reinkulturen von Bakterien glänzende Resultate ergeben haben, ohne meine Modifikation auf die Belagmassen an, so erhielt ich fast stets Ablösung der Schicht vom Objektträger und Niederschläge. *Spirillum sputigenum*-Geißeln färben sich gut nach seinen Methoden, die der fusiformen Bacillen nicht. Van Ermengems Methode mit Silbernitrat und „Réducteur“ ergibt Schleier und massige Niederschläge. Die Löfflersche Geißelfärbemethode liefert manchmal brauchbare Bilder, indes bleibt die Färbung der Geißeln viel häufiger aus, als daß sie gelingt. Woran das liegt, konnte ich nicht eruieren. Diese Erfahrung hat auch schon Graupner (und Baron s. Archiv f. Kinderheilk. Bd. XXXV. Heft 3. p. 151) gemacht, der mitunter sehr deutliche Geißeln an den fusiformen Bacillen erhielt (s. seine Abbildung), häufig gar keine. Die Kombination der Methoden von van Ermengem und Zettnow mit der Jodvorbehandlung dagegen liefert jedesmal deutliche Geißeldarstellung aller im Präparate vorhandenen fusiformen Bacillen, mit Ausnahme der ziemlich seltenen langen fadenförmigen Stäbchen.

#### Literaturbesprechung.

Eine Zusammenstellung der in Betracht kommenden Arbeiten findet sich bei Beitzke (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. etc. Bd. XXXV. 1904) und bei Eichmeyer (Ergebnisse der allgemeinen Pathologie für das Jahr 1904). Ich hebe von diesen hervor, daß von den französischen Forschern Letulle, im Gegensatz zu Vincent und im Einklang mit den meisten deutschen Autoren, zuerst für die Beweglichkeit der fusiformen Bacillen auftrat. Die einzige Abbildung von Geißeln bei fusiformen Bacillen, die meines Wissens existiert, findet sich in der Arbeit von Baron-Graupner (Archiv f. Kinderheilk. Bd. XXXV. Heft 3. p. 151). Von den neuesten Arbeiten sind die Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen von Leiner (Centralbl. f. Bakt. etc.

Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 1 u. 2) besonders wichtig. Leiner fand den *Bacillus fusiformis* stets beweglich und grampositiv. In Fällen von septischer Diphtherie gelang es ihm aber, ein Stäbchen zu isolieren, das den fusiformen Bacillus in der Form zwar gleich, aber gramnegativ sich verhielt, nicht virulent und auch unbeweglich war.

Die Kultur des *Bacillus fusiformis* gelang ihm nicht. Dagegen berichtet Mühlens in seiner Beschreibung der verschiedenen Formen aus dem Zahnbelag in der Zeitschrift für Hygiene, Bd. LV. Heft 1, über den *Bacillus fusiformis*, daß ihm die Kultur gelungen sei. Auffallend erscheint aber die Bemerkung: Eigenbewegung haben die Bacillen nicht, dementsprechend sind auch keine Geißeln nachweisbar. Auch Leukowicz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 153 und Ellermann, Zeitschrift f. Hygiene. Bd. LVI. Heft 3, die von der Reinkultivierung des *Bacillus fusiformis* berichten, betonen ausdrücklich, daß die gezüchteten Stäbchen unbeweglich gefunden wurden. Ellermann hebt noch besonders die gramnegative Reaktion hervor.

Es wäre außerordentlich wichtig, wenn die neueren Kulturversuche unter Berücksichtigung der schon im Dezember 1906 veröffentlichten Leinerschen Ergebnisse einer genauen Nachprüfung unterzogen würden.

#### Erklärung der Tafel.

Fig. 1 (Vergr. 1000-fach), 2 und 3 (Vergr. 900-fach) fusiforme Bacillen mit Wattegeißeln.

Fig. 4. Yatananform mit einer Hauptgeißel und Wattegeißeln. (Vergr. 1000-fach)

Fig. 5. Oben Spirillum sputigenum-Form, unten abgerissene sogenannte spirochätenartige Geißel zu Form Fig. 11 gehörig. (Vergr. 1000-fach.)

Fig. 6. Links Spirillum sputigenum-Form mit 4 symmetrisch an den Enden angeordneten Geißeln, rechts wie Fig. 5. (Vergr. 1000-fach.)

Fig. 7. Spirillum sputigenum-Form mit einer Geißel, zwei mit spirochätenartigen Geißeln. (Vergr. 1000-fach.)

Fig. 8 und 9. (Vergr. 1000fach). Spirillum sputigenum-Form mit Helmbuschgeißeln am konkaven Rand. Denkt man sich 8 und 9 zusammengeschieben, so entsteht

Fig. 10. Beschreibung s. p. 312. (Vergr. 1000-fach.)

Fig. 11. Spirillum sputigenum-Form mit spirochätenartiger Geißel. (Vergr. 1000-fach.)

Fig. 12, 13, 14. Verschiedene Formen von *Bacillus fusiformis* mit einzelnen gewellten Geißeln. (Vergr. 1000-fach.) Fig. 13 unten *Bacillus fusiformis* mit Wattegeißeln.

Sämtliche Aufnahmen sind mit dem großen mikrophotographischen Apparat von Zeiss gemacht.

Nachdruck verboten.

## Streptococcus lanceolatus als Erreger einer Meerschweinchenepizootie.

[Aus dem hygienischen Institut zu Kiel (Geheimrat B. Fischer).]

Von Dr. med. **Wilh. Wittneben,**

Assistenten am Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten.

Nachdem schon vor mehreren Jahren einige Meerschweinchen des Instituts spontan an einer durch den *Streptococcus lanceolatus* hervorgerufenen Pneumonie eingegangen waren, wurde die gleiche Erkrankung in den letzten Jahren häufiger beobachtet. Mit Zuhilfenahme der besonders im vorigen Jahre von Herrn Dr. Schumacher mit besonderer Genauigkeit geführten Sektionsprotokolle, konnte ich 24 Fälle



Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

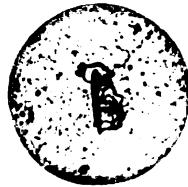


Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.

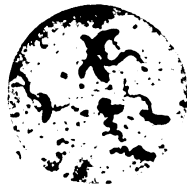


Fig. 7.



Fig. 8.



Fig. 9.



Fig. 10.



Fig. 11.



Fig. 12.



Fig. 13.



Fig. 14.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



zusammenstellen, bei denen das Krankheitsbild, der pathologische und bakteriologische Befund sich glichen oder doch sehr ähnlich waren.

Diese 24 spontanen Todesfälle traten mit einer Ausnahme in den Monaten November bis März auf, standen also augenscheinlich mit der niedrigen winterlichen Temperatur in Zusammenhang. Damit stimmte überein, daß in diesem Winter die Seuche völlig erlosch, als Mitte Januar der Stall regelmäßig geheizt wurde, eine Beobachtung, die auch Stefansky (1) bei einer gleichen Epizootie in Odessa gemacht hat.

Beachtenswert ist ferner, daß die befallenen Tiere immer ausgewachsen und in der großen Mehrzahl (18 unter 24) Weibchen waren, Männchen waren 5, bei einem Tier war das Geschlecht nicht notiert. Viele Weibchen waren trächtig, einige hatten eben vor dem Tode geworfen, zwei starben während der Geburt.

#### Das Krankheitsbild

war bei allen Tieren so ziemlich das gleiche. Die Tiere waren matt und teilnahmslos, hatten ein rauhes Fell; die Atmung war erschwert und beschleunigt, doch fraßen sie meistens noch ganz gut. In einigen Fällen, in denen es beobachtet werden konnte, betrug die Krankheitsdauer 5—6 Tage.

#### Der Sektionsbefund

zeigte gleichfalls eine große Uebereinstimmung. Tiere bisweilen abgemagert, bisweilen gut genährt. In einem Fall fand sich eine ausgedehnte Phlegmone, 2mal ein starkes Oedem des Unterhautzellgewebes am Bauche. In 18 Fällen bestand Peritonitis mit mäßigem, blutig-serösem bis dickeitrigem Exsudat, die Organe waren oft von eitrig-fibrinösen Strängen überzogen, das Peritoneum matt getrübt.

Die Därme waren injiziert, die Milz häufig stark geschwollen (in 9 Fällen festgestellt), hyperämisch, brüchig, bisweilen Perisplenitis, die Leber meist blaß, fettig degeneriert. Nieren hyperämisch, zeigen oft Hämorrhagieen, bisweilen an der Grenze zwischen Mark und Rinde. Eitrig-serofibrinöse Pleuritis, ausgedehnte Verklebung der parietalen und visceralen Pleurablätter unter sich und mit dem Pericard, zwischen den verklebten Partien Eiter, in der Pleurahöhle ein blutig-seröseitriges Exsudat (13 Fälle), so daß die Lungen komprimiert sind. Die Lungen selbst zeigen deutlich ausgedehnte pneumonische Infiltration (21 Fälle), die sich meistens über einen ganzen Lappen erstreckt und im Stadium der roten Hepatisation ist. Die Verteilung ist unregelmäßig, häufig sind die Unterlappen, einzeln oder beiderseits, befallen, doch findet sich auch zuweilen die eine ganze Lungenseite allein infiltriert. Trachea und große Bronchien hyperämisch, oft starke Schlingelung und Erweiterung der Gefäße. Bronchial- und Trachealdrüsen geschwollen. Pericarditis serofibrino-purulenta. Pleural- und Pericardialexsudat bis zu 8 ccm. Herzfleisch trübe und schlaff.

#### Bakteriologischer Befund.

Zeigte der Sektionsbefund schon große Uebereinstimmung, so war dies noch viel mehr bei dem bakteriologischen der Fall. In den Pleuraschwarten, den pneumonischen Lungenteilen, dem Herzblut und dem Peritonealexsudat fand sich stets in großer Menge und in Reinkultur der *Streptococcus lanceolatus* mit leicht und sehr schön färbbarer Kapsel; in Milz, Nieren, Harnblase, Leber fand er sich bisweilen, desgleichen manchmal in den oberen Luftwegen, Trachea, Larynx. Die

Ausstrichpräparate, über der Flamme fixiert, wurden nach Gram behandelt und 10 Sekunden mit verdünntem Karbolfuchsin nachgefärbt. Während die aus menschlicher Pneumonie isolierten hierbei kaum angedeutete Kapselfärbung zeigen, erschienen bei den Meerschweinchen die Kokken selbst stark grampositiv von etwas unregelmäßiger, doch meist lanzettförmiger Gestalt, umgeben von einer schön rot gefärbten Hülle, die sich scharf gegen die Umgebung abhob. Die schönsten Bilder boten Lungenausstriche. Entweder waren sie zu zweit angeordnet, die dicken Enden einander zugekehrt, oder in Ketten bis zu 15 Gliedern, wobei die Kapsel, wie auch sonst beobachtet, eine seichte Einziehung zwischen den Kokkenpaaren zeigte. Auch die Färbung mit wässerigem Gentianaviolett brachte die helleren Kapseln um die dunkleren Kokken schön zur Darstellung. Im hängenden Tropfen des Pleura- oder Peritonealexsudats sah man um die Kokken einen deutlich lichtbrechenden Hof. Noch schöner kam dieser zum Ausdruck bei der von Hamm (2) angegebenen Untersuchung im hängenden Kollargoltröpfchen, wo sich deutlich die helle Kapsel von den dunklen Kollargolpartikelchen abhob. Auch bei den Kulturen konnte man auf diese Weise im hängenden Tropfen jederzeit die Kapsel sehen, während in gefärbten Ausstrichpräparaten die Darstellung derselben mit den gewöhnlichen Färbemethoden unvollkommen und nur bei den ersten Generationen gelang. Leidliche Kapselfärbung bekam man, wenn man die Kultur auf dem Objekträger statt in physiologischer Kochsalzlösung in Serum oder Ascitesflüssigkeit verrieb und mit Alkohol fixierte. Noch besser war die von Hamm (2) modifizierte Weidenreichsche Vorbehandlung mit Osmiumtetroxyddämpfen. Ohne Unterschied der Generation und des Nährbodens gelang hierbei stets die Darstellung der Kapsel, während bei einem zum Vergleich herangezogenen Menschenpneumokokkenstamm dies nicht so schön gelang.

Die Kokken zeigen wohl Molekular-, aber keine Eigenbewegung; eine Darstellung von Geißeln (nach Zettnow) gelang dementsprechend nicht.

#### Kulturen.

In den Aussaaten aus Pleuraschwarten, pneumonischen Lungenherden, Herzblut, Peritonealexsudat wuchsen stets die Pneumokokken, meistens in Reinkultur. Auch aus Herzbeutelexsudat, Nieren, Nebennieren, Leber, Milz, Trachea gelang die Züchtung. Am besten und typischsten wuchs der Erreger auf Blutagar (1—2 Teile Ziegenblut auf 10 Teile 45° warmen Agar); hier sowohl wie auf den anderen Nährböden zeigte er keine wesentlichen Abweichungen von einem menschlichen Pneumococcus. Auf der Blutagarplatte befanden sich bei 37° schon nach 10 Stunden kleine punktförmige runde Kolonien, die von einem im auffallenden Lichte grau-schwärzlichen, im durchfallenden dunkelgrünen Hof umgeben waren. Nach 24 Stunden: Kolonien etwa 1,5—2 mm im Durchmesser, rund, flach, nur wenig über dem Nährboden erhaben; Hof etwas heller, grau, grünlich-gelb. Nach 48 Stunden: Kolonien noch etwas größer, flacher, der Hof mehr ins Graugelbe spielend. Nach 5 Tagen: Eintrocknungserscheinungen, der Hof fast farblos =mäßige Hämolyse.

Der ursprüngliche grüne Farbenton haftet dem Nährboden an, wie man sieht, wenn man die selbst weiße Kulturmasse abschabt.

Sehr üppig wächst der Erreger auf Löfflerserum, Serumagar, Milchagar; nur ziemlich kümmerlich auf gewöhnlichem Agar,



Traubenzucker- und Glycerinagar, schlecht auf saurem Agar. Bei schwacher Vergrößerung zeigen die Agarkolonien ein bräunliches, fein gekörntes Zentrum und hellen Rand, etwas dunkler als die auf denselben Platten angelegten Kulturen menschlicher Pneumokokken.

Bei der Züchtung im Agarröhrchen in hoher Schicht erscheinen die Kolonien unregelmäßig im Nährboden verteilt, aber auch in der Tiefe gut gedeihend.

Auf der Kartoffel kaum sichtbares Wachstum. In gewöhnlicher, Traubenzucker- und Kartoffel-Bouillon (nach Wrzosek) geringer, weißer, flockiger bis fadenziehender Bodensatz, ganz geringe Trübung; üppigeres Wachstum in Serum- und Blutbouillon, in letzterer nach einigen Tagen burgunderrote Umfärbung. Mikroskopisch zeigen sich mittellange Ketten. Milch wurde nach 72 Stunden zur dichten käsigen Gerinnung gebracht, Serum getrübt. Der menschliche Pneumokokkenstamm brachte erst nach 5—6 Tagen mäßige Gerinnung hervor. In Lackmuskolke, Barsikow-Dextrose und -Laktose trat nur ganz schwache Rötung ein.

Das Temperaturoptimum liegt bei 37°, bei 22° war auf neutraler, Traubenzucker-, Glycerin-, Blut- und Serungelatine kein Wachstum zu erzielen.

Die Lebensdauer beträgt im Kondenswasser des schrägen Blutagarröhrchens bei 37° etwa 4 Wochen, Oberflächenkulturen sind schon nach 14 Tagen abgestorben.

#### Tierpathogenität.

Um einwandfreie Tierversuche anstellen zu können, verschafften wir uns von auswärts Tiere, die in einem anderen Stall untergebracht wurden. Gemacht wurden 17 Tierversuche; zunächst mit Körpersäften der verendeten Tiere selbst.

Zwei Meerschweinchen bekamen je 1 ccm Pleuraexsudat eines eben gestorbenen Tieres, das eine intrapulmonal, das andere intraperitoneal. Sie waren am nächsten Tage typisch krank und starben beide nach etwa 100 Stunden. Der pathologisch-anatomische und der bakteriologische Befund stimmte mit dem der spontan gestorbenen Tiere fast vollständig überein. Eine weiße Maus starb 48 Stunden nach subkutaner Injektion von  $\frac{1}{4}$  ccm Pleuraexsudat mit typischem Befund.

In Reinkultur dagegen zeigte der Streptococcus lanceolatus sich nicht so pathogen für Meerschweinchen. Mit subkutaner (an Rücken und Thoraxwand), intraperitonealer, intrapleuraler und intracardialer Einspritzung von frischen Blutagarreinkulturen bis zu 2 Oesen sahen wir keinerlei Erfolg. Nach intrapulmonaler Einspritzung von 1 Oese Blutagarreinkultur war das Meerschweinchen am nächsten Tage krank und starb nach 75 Stunden. Auch hier typischer Sektionsbefund: Peritonitis, hämorrhagische Nephritis, Hyperämie von Leber, Milz und Nebennieren, frische Pneumonie beider Lungen, Pleuritis und Pericarditis sero-fibrinopurulenta. Nachweis der Kokken in fast allen Organen und Säften. Ein anderes Tier reagierte auf  $\frac{1}{4}$  Oese, ein weiteres auf 1 Oese intrapulmonal nicht. Da die niedere Temperatur einen Einfluß auf die Erkrankung auszuüben scheint, wurde ferner 1 Tier, das  $\frac{1}{2}$  Oese intrapleural bekommen hatte, in unseren Kühlraum bei 9° gesetzt. Es starb nach 12 Tagen ohne typischen Sektionsbefund, und ohne daß der Erreger irgendwo nachzuweisen gewesen wäre.

Ferner wurden mit Reinkulturen geimpft: weiße Ratte 1 Oese intraperitoneal ohne Erfolg, je eine graue Maus subkutan und intraperitoneal; bei beiden Tod nach 24 Stunden: ganzer Körper mit Kokken übersät, keine pleuritischen Verwachsungen, geringe Infiltration der Lungen. Weiter erhielt ein Kaninchen 1 Oese Blutagarkultur in die Ohrvene. Tod nach 7 Tagen mit typischem Sektionsbefund: Mäßiger seröser, leicht hämorrhagischer Ascites, Peritoneum leicht getrübt, Hyperämie an Leber und Milz, Nephritis haemorrhagica. Linker unterer Lungenlappen pneumonisch infiltriert; Lunge sonst lufthaltig, ganz geringes Pleuraexsudat, keine Verwachsungen. Trachea und Bronchien hyperämisch geschwollen, mit schaumig-blutigem Inhalt. Im Herzbeutel reichlich trüb seröser Erguß, Herzfleisch matt, trübe. An der linken unteren Bauchseite ausgedehntes sulziges Oedem. In Peritonealexsudat, Oedem, Nieren, Herzblut, Lungen wurde der Erreger nachgewiesen.

Wir haben es hier also mit einem wohlumschriebenen Krankheitsbild, sowie charakteristischen pathologischen Veränderungen zu tun. Neben der Pneumonie findet eine völlige Ueberschwemmung des Körpers mit Kokken statt, wie bei einer Septikämie. Als Erreger haben wir mit Sicherheit den gefundenen Kapselcoccus anzusehen, der nach seinem morphologischen und biologischen Verhalten als *Streptococcus lanceolatus* zu bezeichnen ist und sich von menschlichen Pneumokokken nur durch die sehr leicht färbbare Kapsel und die starke Milchgerinnung auszeichnet. Ueber den Infektionsweg konnten wir keine beweisende Beobachtungen machen. Unsere anfängliche Vermutung, daß eine Puerperalaffektion vorläge, mußten wir aufgeben, als sich herausstellte, daß auch männliche Tiere von der Erkrankung befallen wurden. Der Umstand, daß die Erkrankungen regelmäßig in der kälteren Jahreszeit erfolgten, der häufige Befund der Pneumonie, läßt die Annahme zu, daß bei der Entstehung der Krankheit der Erkältung eine ähnliche Rolle zukommt, wie bei der menschlichen Pneumonie. Der Krankheitserreger scheint vom Respirationstraktus aus in den Körper vorzudringen, da es gelang, ihn in den oberen Luftwegen nachzuweisen und andererseits mit Reinkultur nur durch pulmonale Injektion das Krankheitsbild bei Meerschweinchen zu erzeugen.

Dieselben oder doch ganz ähnliche Epizootien wurden beobachtet von Stefansky (1) in Odessa 1901, von Tartakowsky (3) in Petersburg 1902 und von Selter (4) in Bonn 1906. Bei Selter und Stefansky war dasselbe Krankheitsbild, derselbe pathologische und bakteriologische Befund (von Tartakowsky stand mir nur ein kurzes Referat zur Verfügung). Abweichend von Selter, gelang es uns durch intrapulmonale Einspritzung von Blutagarreinkultur die typische Pneumonie und sero-fibrinös-eitrige Pleuritis bei Meerschweinchen zu erzeugen, während es Stefansky überhaupt nicht gelungen war, Meerschweinchen durch Reinkulturen zu töten.

Von den übrigen in der Literatur erwähnten Meerschweinchenseuchen läßt sich die hiesige leicht abgrenzen. Am ähnlichsten ist noch die von Weber (5) beschriebene, durch einen grampositiven *Diplococcus* hervorgerufene Seuche, zumal von ihr auch vorwiegend trächtige Weibchen befallen wurden, doch fand Weber keine pleuritischen Verwachsungen, kein Exsudat, keine Pericarditis; der *Diplococcus* zeigte keine Kapseln,

machte keine Milchgerinnung. Tartakowsky (6) sah bei einer anderen Meerschweinchenpneumonie rotzähnliche gramnegative Stäbchen; ebenfalls gramnegative Stäbchen fanden Beck (7), Schwer (8), Martini (9) und Pfeiffer (10). Die von Strada und Traina (11) beobachtete ähnliche Pneumonie wurde durch parallel gelagerte grampositive Stäbchen hervorgerufen.

Da sich in der Literatur nur so wenig Angaben über Meerschweinchenkrankungen durch *Streptococcus lanceolatus* finden, glaubte ich mit unserer Beobachtung einen Beitrag zur vergleichenden Pathologie geben zu sollen, zumal die Ansicht besteht, daß Meerschweinchen für Pneumokokken sehr wenig empfänglich seien (12).

Herrn Geheimrat Fischer sage ich für die Anregung zu der Arbeit und die vielfache Förderung derselben meinen ergebensten Dank.

#### Literatur.

- 1) Stefansky, W. K., Ueber eine durch *Streptococcus lanceolatus* hervorgerufene Epizootie bei Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. 1901. p. 201.)
- 2) Hamm, A., Beobachtungen über Bakterienkapseln auf Grund der Weidenreichschen Fixationsmethode. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. p. 287.)
- 3) Tartakowsky, M., Die Pleuropneumonie der Meerschweinchen. (Refer. Baumgarten. 1902. p. 130.)
- 4) Selter, Hugo, Natürliche Pneumokokkeninfektion bei Versuchstieren u. s. w. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LIV. 1906. p. 347.)
- 5) Weber, H., Ueber eine Pneumonie-Epizootie unter Meerschweinchen. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1901. p. 276.)
- 6) Tartakowsky, M., Pneumonie contagieuse des cobayes. (Refer. Baumgarten, 1898. p. 596.)
- 7) Beck, M., Der Bacillus der Brustseuche beim Kaninchen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XV. 1893. p. 363.)
- 8) Schwer, Ueber einen neuen Stallinfektionen verursachenden Mikroorganismus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 41.)
- 9) Martini, E., Ein gelegentlicher, durch Inhalation übertragbarer Erreger der Lungenentzündung bei Meerschweinchen, *Bacillus pulmonum glutinosus*. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVIII. 1900. p. 114.)
- 10) Pfeiffer, Ueber einen neuen Kapselbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1889. p. 145.)
- 11) Strada, F. und Traina, R., Ueber eine neue Form von infektiöser Lungenkrankheit der Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. p. 640.)
- 12) Weichselbaum, A., *Diplococcus pneumoniae* und andere bei entzündlichen Lungenaffektionen gefundene Bakterien. (Kolle-Wassermanns Handbuch. Bd. III. 1903. p. 189.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage der Wirkung steriler Nahrung auf die Darmflora.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Metschnikoff,  
Institut Pasteur zu Paris.]

Von Dr. G. Belonowsky aus Kronstadt.

Der Mensch wird mit einem von Mikroben freien Darm geboren. Letztere beginnen 10—20 Stunden nach der Geburt sich zu zeigen, und sobald sie erschienen sind, vermehren sie sich schnell. Nach Tissier (1) verläuft das Anwachsen der Bakterienzahl im Darm in zwei Phasen, deren erste die Phase der anwachsenden Infektion, die zweite die Phase der Umgestaltung (Transformation) der Darmflora ist.

Im Laufe der ersten Periode erscheinen und vermehren sich die allerverschiedensten Bakterien (zuerst verschiedene Kokken, dann *B. coli*, *B. perfringens*, *Coccobacillus perfoetens*, *B. lactis aërogenes* u. a.). Diese Periode dauert bei Säuglingen bis zur Mitte des 3. Tages nach der Geburt, worauf die zweite Phase eintritt. Im Darm erscheint ein neuer anaërober Mikrobe, von Tissier *Bac. bifidus* genannt. Letzterer vermehrt sich schnell und bleibt, indem er fast gänzlich alle anderen Mikroben verdrängt, in Reinkultur.

Dadurch erklärt sich die scheinbar seltsame Beobachtung, daß 4 Tage nach der Geburt eines Kindes die Zahl der Mikroben in seinem Darne abzunehmen beginnt (Hellström) (2).

Da die Mikroben, die sich im Darne im Stadium der anwachsenden Infektion befinden, denjenigen analog sind, die Tissier und Martelli beim Studium der Fleischfäulnis (3) gefunden haben, so findet ersterer dieselben schädlich für den Organismus und betrachtet ihre Verdrängung durch den *B. bifidus* als eine Anpassungserscheinung des Organismus.

Nachdem das Kind von der Mutterbrust zur gewöhnlichen Nahrung übergegangen ist, ändert sich wieder die Darmflora in sehr schroffer Weise. Es erscheinen eine Menge neuer Bakterien; *B. bifidus* verschwindet fast ganz, und in solchem Zustande bleibt die Flora für das ganze übrige Leben.

Matzschita (4) schied aus dem Kote des Menschen 44 verschiedene Arten von Mikroben aus, hauptsächlich stäbchenförmige. Er behauptet aber, noch lange nicht den ganzen Reichtum der Flora im menschlichen Darne erschöpft zu haben.

Die allgemeine Zahl der Mikroben im Darm beläuft sich auf kolossale Ziffern. Strassburger (5) meint, daß ein Drittel des trockenen Teiles des Kotes aus Bakterien besteht. Die Zahl der im Laufe eines Tages ausgeschiedenen Bakterien gibt Sucksdorff (6) zu 55 Milliarden, Kleyn (7) nach seiner vervollkommeneten Rechenmethode zu 8800 Milliarden an.

Auf Grund der Untersuchungen der beiden letzten Autoren sollen die Mikroben, die sich im Darne, hauptsächlich im Dickdarne, befinden, in 2 Gruppen eingeteilt werden: die „obligaten“ und die „fakultativen“ (oder wie sie Andere nennen, die „wilden“).

Dieser Ansicht schließen sich heute sämtliche Forscher an (s. Kohlbrügge) (8).

Die „obligaten“ Mikroben bilden den ständigen Bestandteil der Flora im Darm. Zu denselben gehören z. B. bei Säuglingen nach Esche-

rich (9) *B. coli* und *lactis aërogenes*, nach Tissier (l. c.) *B. bifidus*. Diese sind die eigentlichen Bewohner des Darmes, während die anderen, die „fakultativen“, mehr oder weniger vorübergehende Gäste sind.

Es wäre höchst interessant, aufzuklären, inwiefern die Nahrung auf die Darmflora wirkt, und ob dieselbe nicht den Hauptursprung der Bakterien im Darm bildet.

Ueber diese Frage herrscht bei den verschiedenen Forschern Meinungsverschiedenheit.

Nach Sucksdorff (l. c.) verringert sich bei steriler Nahrung die Zahl der Bakterien im Darm des Menschen ganz bedeutend, von 381000 pro mg Kot auf 10390. Somit gelangen seiner Meinung nach 97 Proz. aller Bakterien mit der Nahrung in den Darm. Brotzu (10) fand bei seinen Versuchen mit Hunden eine Verringerung der Bakterienzahl bei Fütterung mit gekochter Nahrung im Vergleich zur Fütterung mit roher Nahrung.

Im Gegensatz zu den obenerwähnten Autoren behauptet Escherich (11), indem er Sucksdorffs Beobachtungen einer strengen Kritik unterzieht, bei der Ernährung von Säuglingen mit steriler Milch keine Verringerung der Darmflora beobachtet zu haben. Eberle (12) machte ähnliche Versuche mit einem Mädchen, welches er mit sterilisierter Milch nährte, und beobachtete gleichfalls keine Abnahme der Bakterienzahl. Hammerl (13) machte Versuche mit einem Hunde, welchen er im Laufe eines Monats mit steriler Nahrung fütterte. Er bemerkte, daß aus der Darmflora nur einige fakultative Saprophyten verschwunden waren, die allgemeine Zahl der Bakterien war dagegen nicht nur nicht kleiner, sondern noch größer geworden. Stern (14) glaubt, daß die Zahl der Bakterien in keiner Beziehung stehe zur Sterilität, zu Art und Wechsel der Nahrung. Im gleichen Sinne äußern sich Casciani (15), wie auch Albu und Eisenstädt (16).

Vor kurzem wurde diese Frage von Ballner (17) behandelt. Er machte Versuche an sich selbst. Im Laufe einer Woche nahm er nur sterilisierte Nahrung zu sich, wobei er auf möglichste Sauberkeit des Mundes achtete. Vor Beginn des Versuches hatte er im Laufe von acht aufeinanderfolgenden Tagen die Bakterienzahl im Kot festgestellt. Die Ergebnisse seiner Versuche sprechen eher dafür, daß die Zahl der Bakterien sich fast gar nicht ändert; aber dennoch war in vier von den 8 Tagen vor dem Versuche die Zahl der Mikroben pro Milligramm Kot 70000000, während dieselbe bei Aufnahme steriler Nahrung keine 69000000 erreichte.

Bei einigen unserer Versuche über die Flora des Darmes gelang es uns, auch einige Beobachtungen auf dem Gebiete der aufgeworfenen Frage zu machen.

Als Objekte unserer Beobachtungen dienten uns Mäuse. Ein Teil von ihnen erhielt als Futter durch trockene Hitze sterilisiertes Korn und destilliertes Wasser; ein anderer Teil an Stelle des Wassers sterilisierte Milch. Die Beobachtungen erstreckten sich auf die Zeit vom 17. April bis Mitte November 1906, im ganzen auf ungefähr 7 Monate. Im Laufe dieser Zeit bekamen die Mäuse obenerwähnte Diät.

Ueber die Zahl der Mikroben machten wir uns ein Bild nach der Zahl der auf einer Nährlösung Agar-Agar sich bildenden Kolonien. Die Nährböden wurden nach der Methode Veillon hergestellt. Die mittlere Zahl der Kolonien pro Milligramm Kot, welche aus einigen

Beobachtungen vor dem Anfange des Versuches gezogen wurde, war ungefähr 1630000. Ebensoviele blieb auch am Ende des Versuches bei beiden Gruppen der Mäuse. Die Zahl der gasbildenden Bakterien blieb, wie nach der Energie des Zersetzens von Zuckermedien zu urteilen war, unverändert. Nicht im geringsten änderte sich auch das Verhältnis der sich nach Gram färbenden zu den sich nicht färbenden Bakterien, wie auch der Gelatine verflüssigenden Arten zu den Gelatine nicht verflüssigenden.

Die Versuchsmäuse nahmen an Gewicht zu und entwickelten sich ebenso wie die Kontrollmäuse, welche unter gewöhnlichen Laboratorienbedingungen lebten.

Um die Bedingungen des Versuches zu kontrollieren, töteten wir einige der zu untersuchenden Mäuse, wie auch der Kontrollmäuse, und legten Kulturen aus ihrem Mageninhalt an. Die Differenz in der Anzahl der Bakterien war eine sehr große. Während bei den Versuchsmäusen die Zahl der Kolonien pro Milligramm Mageninhalt nicht 1500 überschritt, war sie bei den Kontrollmäusen gegen 8500.

Augenscheinlich rührt diese Uebersahl, nebenbei gesagt, sehr viele Schimmelarten mitzählen, von den Mikroben her, welche im Dünndarm noch, bevor sie in den Dickdarm gelangen, vernichtet werden (s. Kohlbrügge) (18).

Nach unseren Beobachtungen beeinflusst also sterilisierte Nahrung nicht im geringsten die Flora des Darmes der Mäuse.

#### Literatur.

- 1) Recherches sur la flore intestinale des nourrissons. [Thèse.] Paris 1900. — S. auch Annales de l'Inst. Pasteur. 1905. p. 108.
- 2) Arch. f. Gynäk. Bd. LXIII. Zit. Baumgartens Jahresber. 1903. p. 904.
- 3) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. p. 865.
- 4) Arch. f. Hygiene. Bd. XLI. 1902. p. 211.
- 5) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLVI. 1902. p. 413.
- 6) Arch. f. Hygiene. Bd. IV. 1886. p. 355.
- 7) Arch. f. Hygiene. Bd. XLV. 1902. p. 117.
- 8) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901. p. 10, 80.
- 9) Die Darmbakterien des Säuglings. 1886.
- 10) Ref. im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. p. 726.
- 11) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. I. 1887. p. 669.
- 12) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XIX. 1896. p. 2.
- 13) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXXV. 1897. p. 355.
- 14) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XII. 1892. p. 88.
- 15) Ref. im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXI. 1897. p. 738.
- 16) Zit. Kohlbrügge (s. oben).
- 17) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLV. 1904. p. 399.
- 18) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXIX. 1900. p. 571.

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Frage der Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für nicht pathogene Mikroorganismen beim normalen und beim dürstenden Tiere.

[Aus dem medizinischen Laboratorium des Kgl. Württ. Medizinalkollegiums: O.-M.-R. Dr. Scheurlen.]

Von Dr. **Holle**,

Oberarzt im 4. Württ. Feldartillerie-Regiment Nr. 65, kommandiert zum hygienischen Laboratorium des Kgl. Württ. Medizinalkollegiums in Stuttgart.

Seit mehreren Jahren wurden im Laboratorium Versuche über die Frage der Durchgängigkeit der Magen- und Darmwand für nicht pathogene Keime angestellt. So hatte Klett mit Sporen des Kartoffelbacillus mehrfach Meerschweinchen gefüttert und regelmäßig schon nach 15 bis 30 Minuten deren Auftreten im Blute und in den Organen nachgewiesen<sup>1)</sup>. Im Verlauf der Zeit hat die Zahl diesbezüglicher Arbeiten einen großen Umfang angenommen, ohne daß man zu einem einheitlichen Resultat gelangt wäre. Die Literatur ist teils in einem Referat von Schott<sup>2)</sup>, teils bei Selter<sup>3)</sup> in erschöpfender Weise erwähnt, so daß ich es unterlassen kann, dieselbe hier zu bringen.

Will man derartige Versuche anstellen, so sind gewisse Momente zu berücksichtigen. In erster Linie ist hier die bakterizide Eigenschaft des Blutes von Wichtigkeit. Weiter konnten die negativen Resultate, die manche Autoren bei ihren Versuchen zu verzeichnen hatten, dadurch bedingt sein, daß die verimpften Organstückchen in den Platten nicht lange genug beobachtet wurden, ferner, daß man nicht genügend Bakterien verfütterte und endlich die Tiere zu spät nach der Fütterung tötete [Ficker<sup>4)</sup>]. Um der bakteriziden Wirkung des Blutes bei den Versuchen in entsprechender Weise entgegenwirken zu können, war es nötig, eine nicht zu geringe Menge und ein besonders widerstandsfähiges Bakterienmaterial zu verfüttern. Ich verfütterte zuerst nach Klett die Sporen des Kartoffelbacillus, dann Hefe, den *Prodigiosus*, *Sarcina flava*, *Bacterium fluorescens* und den *Bacillus ruber purpureus*, lauter Keime, die nachgewiesenermaßen für die Versuchstiere nicht pathogen waren.

Als Versuchstiere benützte ich 12 Meerschweinchen und 12 Kaninchen. Die Tiere mußten natürlich gesund sein. Ob bei dem einen oder anderen Tiere irgend eine mikroskopische krankhafte Veränderung im Verdauungskanal bestanden hatte, kann ich natürlich nicht in Abrede stellen. Man mußte eben die Tiere als gesund betrachten, die seit ihrer Geburt keine augenfälligen Störungen in ihrer Lebensweise und ihrem Aussehen zeigten, die gut fraßen und, was die Hauptsache ist, bei der Sektion keine krank-

1) Medizinalber. f. Württemberg. 1899. p. 11 u. 1900. p. 9.

2) Schott, Berechtigten experimentelle oder klinische Erfahrungen zu der Annahme, daß pathogene oder nicht pathogene Bakterien die Wand des gesunden Magendarmkanals durchwandern können. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. p. 239).

3) Selter, Bakterien im gesunden Körpergewebe, und deren Eintrittspforten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. p. 363.) Diese Arbeit erschien nach Beendigung meiner Versuche.

4) Ficker, Ueber die Keimdichte der normalen Schleimhaut des Intestinaltraktes. (Archiv f. Hyg. Bd. LII. p. 179.)

haften Organe hatten. Die Meerschweinchen erhielten bei der Fütterung in der Hauptsache die Sporen des Kartoffelbacillus. Um den unangenehmen Geruch zu beseitigen, wurden 2—3 Tage alte Kulturen von den Kartoffeln, die in diesem Falle als Nährböden dienten, abgekratzt, in sterile Kochsalzlösung gebracht und gewaschen, d. h. ausgiebig geschüttelt und filtriert. Das Filtrat war nun ganz geruchlos. 10 ccm dieser Flüssigkeit wurden mit der gleichen Menge Wasser oder Milch gemischt und kleine Stückchen Brot damit durchtränkt. In einzelnen Fällen wurden die Bakterien auch zwischen Rübenscheiben gestrichen und diese in Wasser gelegt. Die erste Art der Verabreichung wurde aber von den Tieren schneller aufgenommen. Die anderen benützten Bakterien wurden von den Nährböden weg direkt auf das mit Milch und Wasser getränkte Brot gebracht. Die ausgiebige Durchfeuchtung des Futters habe ich deshalb vorgenommen, um eine Inhalation der Mikroben nach Möglichkeit einzuschränken, da es nicht ausgeschlossen sein soll, daß auch durch die Lungen Bakterien in die Organe gelangen.

Für die Versuche kamen nun die Tiere in einen vollkommen leeren mit Blech ausgeschlagenen Käfig. Um die Freßlust der Meerschweinchen anzuregen, ließ ich die drei ersten 2 Tage lang etwas hungern, hatte jedoch dabei auch keinen anderen Erfolg erzielt als bei den übrigen. Es dauerte bei diesen Tieren oft 2 Stunden, bis sie das vorgesetzte Futter vollkommen oder zum größten Teil aufgefressen hatten. Somit war eine ganz exakte Zeitrechnung zwischen Bakterienaufnahme und Tod bei den ersten Tieren nicht möglich. Ich setzte nun 2 Tiere in 2 nur durch ein Gitter getrennte Käfige; das eine Tier erhielt Bacillenfutter, das andere gewöhnliches. Jetzt wurde alles, ohne daß die Tiere vorher gehungert hatten, in kürzester Zeit aufgefressen. Das 2. Meerschweinchen, das zur Gesellschaft in der zweiten Abteilung des Käfigs war, wurde im allgemeinen nicht zu Versuchen verwendet, höchstens nach einer Reihe von Wochen, nachdem es schon lange wieder in einem anderen Stalle gelebt hatte. Auch war eine Aufnahme des Bacillenfutters für das 2. Tier unmöglich. Die Kaninchen fraßen das vorgesetzte Futter mit Bakterien ohne jegliche Vorbereitung und in kürzester Zeit auf.

Von der Sondenfütterung, wie sie Ficker angewendet hat, habe ich wegen der damit verbundenen Möglichkeit der Schleimhautverletzungen der Speiseröhre und des Magens abgesehen. Auch konnten Mikroben beim Herausnehmen der Sonde in die Luftwege gelangen, und endlich ist auch gar nicht ausgeschlossen, daß man die Sonde statt in den Oesophagus in die Trachea einführt [Ficker, Klimenko<sup>1)</sup>]. Eine genaue quantitative Bestimmung der eingeführten Bakterien ist das Einzige, was man damit erreichen würde, und dies zu wissen, ist zunächst ohne Bedeutung.

Die Zubereitung des Futters, die Fütterung und Tötung wurde von einer anderen Person ausgeführt. Fütterung, Tötung und Sektion erfolgten in 3 verschiedenen Räumen. Die Meerschweinchen wurden mit Chloroform getötet. Die Meinung [Opitz<sup>2)</sup>], daß die Mittel zur schnellen

1) Klimenko, Beitrag zur Frage über die Durchgängigkeit der Darmwand für Mikroorganismen bei physiologischen Verhältnissen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVIII. p. 67.)

2) Opitz, Beiträge zur Frage der Durchgängigkeit von Darm und Nieren für Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. p. 505.)



Vergiftung, wie z. B. das Chloroform, wenn nicht bakterizid, so doch zum mindesten entwicklungshemmend auf die Mikroorganismen einwirken und daß man deshalb sterile Organe bekomme, kann ich durch folgende Versuche widerlegen. 24-stündige Bouillonkulturen meiner zu den Tierversuchen benützten Bakterien wurden (nach Entnahme der Wattebüsche) 5 Minuten unter einer Glasglocke Chloroformdämpfen ausgesetzt, dann Plattenserien angelegt und diese Platten 24—48 Stunden nachher auf ihre Kolonienzahl hin untersucht. Gleichzeitig wurden andere Plattenserien, mit denselben Bakterienarten, die dem Chloroform nicht ausgesetzt waren, angelegt, und ebenso wie die ersteren weiter behandelt. Auf beiden Plattenserien war ein Unterschied im Wachstum nicht zu merken, ein Beweis, daß das zur Tötung benützte Chloroform weder keimtötende noch wachstumshemmende Eigenschaften in der kurzen Zeit von 5 Minuten, die zur Abtötung von Meerschweinchen nötig war, geltend machte.

Die Kaninchen wurden alle durch Nackenschlag getötet. Dabei konnte ich keine Blutaustritte in den Organen bemerken. Die Tötung erfolgte zu verschiedenen Zeiten nach der Nahrungsaufnahme. Einige Tiere wurden sofort, andere nach  $\frac{1}{2}$ , 1, 2 und mehr Stunden, nachdem sie gefressen hatten, getötet. Dann wurden die Tiere abgebalgt, der Körper mit Sublimatlösung abgewaschen, die an dem Körper noch haftenden Haare entfernt, der Schädel in Sublimatwatte eingewickelt und die Pfoten abgeschnitten. Hierauf wurde der Körper auf ein mit Sublimat gespültes, gründlichst gereinigtes Brett aufgespannt oder aufgebunden. — Diese Prozedur dauerte bei Meerschweinchen 10—15, bei Kaninchen 20—30 Minuten. — Für die Eröffnung des Körpers, die Entnahme der Organe und deren Zerkleinerung wurden jedesmal frische sterile Instrumente benützt. — Nach Entfernung der Bauchdecken wurde zuerst aus der Pfortader mit sterilen Kapillaren Blut entnommen und dasselbe teils direkt auf feste Nährböden gebracht, teils zuerst in Bouillon oder Galle angereichert. Ebenso verarbeitete ich das Blut aus dem rechten Ventrikel und den Mesenterialvenen; dann entblutete ich die Tiere so gut wie möglich durch Eröffnung der beiden großen Hohlvenen. — Hierauf wurden die Organe herausgenommen und in sterile Schalen gebracht. Die größeren Organe, wie Leber und Nieren, wurden an ihren Oberflächen abgesengt, die anderen nicht. Dann wurden dieselben in Stückchen bis zu Erbsengröße zerschnitten. Milz, Nieren und Nebennieren wurden vollständig zerstückelt in die flüssigen Nährböden gebracht, während von der Leber nur ein Teil verwendet wurde. Die Lunge nahm ich überhaupt nicht, da sie wegen der Inhalation keine einwandfreien Resultate liefert. — Vom Inhalt des oberen und unteren Teils des Dünndarms und vom Dickdarm wurden am Schlusse jeweils kleinere Mengen auf Nährböden gebracht, um zu sehen, ob die verfütterten Mikroben bis zur Tötung schon so weit gelangt waren. — Während der Herausnahme der Organe und während des Einlegens der Stückchen in die Nährböden wurden zur Bestimmung des Bakteriengehalts der Zimmerluft Kontrollplatten aufgestellt.

Als Nährböden benützte ich in der Hauptsache Agar. Die für andere Zwecke sehr geeignete Gelatine war für meine Versuche nicht so zweckmäßig, da der Kartoffelbacillus, der *Prodigosus* und der *ruber purpureus* in kürzester Zeit Gelatine verflüssigen und dann eine genaue Bestimmung bezüglich der Menge der ausgewachsenen Keime, ihrer Natur und eventueller Verunreinigungen viel umständlicher und

unsicherer ist als bei Benützung von nicht flüssigen und nicht verflüssigenden Nährböden.

Die Platten wurden im allgemeinen bis zu 11 Tagen beobachtet; waren dann die verfütterten Keime noch nicht gewachsen, so wurde der Versuch als negativ betrachtet. In der Zeit bis zu 11 Tagen gingen nun auf einem großen Teil der Platten die verfütterten Keime teils auf den Organstückchen selbst, teils auf den Nährböden in 1–2 oder mehr Kolonien auf.

Auf den Kontrollplatten waren sie nicht vorhanden, so daß die Resultate, die ich bei meinen Versuchen erzielt habe, für die Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für nicht pathogene Keime sprechen. Es ist dies begreiflich, wenn wir uns bei Betrachtung des histologischen Baues der Magen- und Darmschleimhaut klar werden, daß die Bakterien einerseits nur das Cylinderepithel der Magen- und Darmschleimhaut und das an diese direkt anliegende Plattenepithel der Kapillaren zu passieren haben, um in die Blutbahn, andererseits nur das Cylinderepithel allein durchdringen müssen, um in die Lymphspalten zu gelangen.

Wrzosek<sup>1)</sup> legt hauptsächlich Wert darauf, daß die verfütterten Keime auf den Organstückchen selbst aufgehen. Es ist dies neben den übereinstimmenden Resultaten zahlreicher Versuche sicherlich auch ein guter Beweis, jedoch können die verfütterten Keime auch an Stellen an denen keine Organstückchen liegen, aufgehen und doch von der Fütterung herkommen. Es können die Mikroben an der Schnittfläche der Organstückchen haften und beim Einbringen in die noch flüssigen Nährböden fortgeschwemmt werden. — Auf den Nährböden wuchsen teilweise auch noch andere als die verfütterten Keime. Dieselben stammten entweder aus der Luft oder auch aus den Organen. Ein Beweis dafür waren die Luftkontrollplatten. Fand man die anderen Bakterien auch auf den Kontrollplatten, so war eine Luftinfektion anzunehmen. — Das beste Wachstum hatte ich bei dem Kartoffelbacillus, den ich nur bei Meerschweinchen verfütterte, zu verzeichnen. *Bacillus ruber purpureus* wuchs gleichfalls sehr üppig. In erster Linie war dies wohl der Widerstandsfähigkeit und den Wachstumsbedingungen der Mikroben zuzuschreiben. Dann wird auch ein Unterschied in der Magendarmwand der beiden angewendeten Versuchstierarten anzunehmen sein. Während ich durch die reichliche Ernte des Kartoffelbacillus der Ansicht bin, daß die Magen- und Darmschleimhaut der Meerschweinchen leichter für Mikroben passierbar ist, als die der Kaninchen, hält Hilgermann<sup>2)</sup>, der die Durchlässigkeit des Verdauungstraktus für Bakterien in Schnittpräparaten mikroskopisch nachwies, die der Kaninchen für durchlässiger. Die verfütterte Hefe konnte ich, ebenso wie Ficker, in keinem Organ nachweisen. Es scheint also die Hefe, die relativ groß ist, schon über der Grenze der korpuskulären Elemente zu stehen, die die Magenschleimhaut durchdringen können. Ich kann das nur von der Magenschleimhaut behaupten, denn im Darminhalt fand ich die verfütterte Hefe nicht. Daß die Zeit zwischen Fütterung und Tötung zu kurz gewesen wäre, um einen Durchtritt zu ermöglichen, trifft nicht zu, denn

1) Wrzosek, Experimentelle Beiträge zur Lehre von dem latenten Mikrobismus. (Virchows Arch. Bd. CLXXVIII. p. 82.)

2) Hilgermann, Die Bakteriendurchlässigkeit der normalen Darmschleimhaut im Säuglingsalter. (Archiv f. Hyg. Bd. LIV. p. 335.)

zwischen Beginn der Fütterung und Tod lag 1 Stunde. Dieser Umstand wirft die Frage auf, welche Zeit vergehen muß, damit man die verfütterten Bakterien in den Organen und im Blute nachweisen kann, und wie lange nach der Fütterung sie in den Organen noch zu finden sind. Die Versuche haben ergeben, daß bei den Tieren, die in kürzester Zeit fraßen und gleich darauf getötet wurden, die verfütterten Keime in den Organen gefunden wurden, daß also höchstens ein Zeitraum von ca. 10 Minuten zur Einwanderung der Bakterien vom Magen und Darm in die Organe nötig ist. Was die zweite Frage anbelangt, wie lange nach der Fütterung sind die Keime noch in den Organen zu finden, so konnte ich bei einem Meerschweinchen, das am 12. Mai 1906 das Bacillenfutter bekam, dann wieder gewöhnliches Futter, und am 24. Mai 1906 getötet wurde, die verfütterten Keime noch nachweisen, also nach 12 Tagen. Die Keime waren in den Organen natürlich nur noch sehr spärlich vorhanden. Im Darminhalt fand ich selbstverständlich keine mehr.

Eine weitere Frage war noch zu beantworten: passieren die Bakterien den Magen und den Darm oder nur eines von beiden. Die Versuche mit Abschnüren vom Darm mit Wollfäden oder Einführen eines T-Rohres in den Darm und Eingießen des Bakterienmaterials direkt in die Darmhöhle halte ich nicht für ganz einwandfrei, da im ersteren Falle immerhin eine Hyperämie zu stande kommt und beim Einführen eines T-Rohres durch die Durchtrennung des Darms mit höchster Wahrscheinlichkeit Veränderungen in der Darmtätigkeit, wenn auch nur für kurze Zeit eintreten, die den Begriff einer normalen Magendarmwand doch einigermaßen erschüttern.

Ich konnte also meine Schlüsse nur aus folgendem ziehen: Finde ich die verfütterten Keime im Darm und in den Organen, so war ein Durchtritt der Bakterien durch die Magen- und Darmschleimhaut anzunehmen. Finde ich die verfütterten Keime im Darm und in den zunächst gelegenen Mesenterialdrüsen, so spricht das in gewisser Beziehung für die Durchgängigkeit des Darms. Finde ich ferner die verfütterten Keime im Darm nicht, jedoch in den Organen, so war damit der Durchtritt durch den Magen ziemlich erwiesen. Bei den Meerschweinchenversuchen fand ich die verfütterten Keime, auch wenn die Tiere sofort getötet wurden, regelmäßig im Dünndarm und auch teilweise im Dickdarm. Damit konnte ich nur nachweisen, daß die Bakterien durch den Verdauungskanal gedrungen sind; wo sie durchgedrungen sind, dafür gaben die Meerschweinchenversuche keinen Anhaltspunkt. Anders verhielt es sich bei den Kaninchen. Bei ihnen waren die Keime im Darm erst nachzuweisen, wenn die Tiere 4 Stunden und länger, nachdem sie gefressen hatten, getötet wurden. Dann wurden die Bakterien auch fast immer in den dem Darm zunächst liegenden Mesenterialdrüsen gefunden, was für die Durchgängigkeit der Bakterien durch den Darm spricht. — Bei 4 Kaninchen, die in einer kürzeren Zeit als 4 Stunden nach der Nahrungsaufnahme getötet wurden, fand ich die Keime auch in den Organen. In diesen Fällen müssen sie durch den Magen gegangen sein.

Nach diesen positiven Resultaten habe ich Versuche mit dürstenden Tieren angestellt, um zu sehen, ob die dürstende Magen- und Darmschleimhaut für Mikroben leichter passierbar ist als die nicht dürstende. Deshalb wurde den Tieren verschieden lange das Grünfutter entzogen und ihnen nur Hafer zu fressen gegeben. Leider standen mir zu diesen Versuchen keine Hunde zur Verfügung, die durch Entziehung des Wassers leichter in dürstenden Zustand zu versetzen gewesen wären, als

dies bei meinen Versuchstieren, den Kaninchen, durch Verabreichung von trockenem Futter möglich war. — Der Boden der Käfige der Versuchstiere war ein engmaschiges Drahtnetz, durch welches die Exkremente durchfallen und der Harn abfließen konnte.

Die Versuche wurden an 7 Kaninchen angestellt, die, wie bei der 1. Versuchsreihe, zu verschiedenen Zeiten nach der Fütterung getötet wurden. Während bei den Tieren der beiden Versuchsreihen, die 4 oder mehr Stunden nach der Nahrungsaufnahme getötet wurden, ein Unterschied in den Resultaten nicht konstatiert werden konnte, so war zwischen dem Kaninchen, das gedürstet hatte und dem, welches nicht gedürstet hatte, beide aber unmittelbar nach der Nahrungsaufnahme getötet wurden, ein ziemlich großer Unterschied in den Befunden zu verzeichnen. Bei dem nicht dürstenden Kaninchen waren die verfütterten Bakterien in Leber, Milz und Galle nur spärlich nachzuweisen, demgegenüber waren sämtliche Platten, in die Blut aus den Magenvenen und Stücke der Leber des dürstenden Kaninchens gebracht waren, mit dem verfütterten Bakterienmaterial reichlich bedeckt. Demnach hat also das Dürsten einen begünstigenden Einfluß auf die Bakteriendurchlässigkeit der Magenwand. — Die Beantwortung dieser Frage ist insofern interessant, als viele Fälle von Erkrankungen des Magens auf einen im Durst schnell hinabgestürzten kalten Trunk zurückgeführt werden, wofür man bisher die Temperaturdifferenz und demzufolge eine Erkältung als Krankheitsursache angesehen hat, während nach dieser Darstellung eine Infektion, bedingt durch eine vermehrte Bakterieneinwanderung, der Krankheit zu Grunde liegen kann.

Wenn wir nun die einzelnen Organe betrachten, welche mit positiven Befunden vertreten sind, so steht die Leber an der Spitze. Bei den 24 hier angeführten Versuchstieren wurden die verfütterten Mikroben 21mal in der Leber gefunden, in der Niere und Milz je 11mal, in den Mesenterialdrüsen, Mesenterialgefäßen und Galle je 9mal, in dem Pfortaderblut 7mal, in den Nebennieren 4mal und einmal im Blut aus dem rechten Ventrikel.

Die häufigen positiven Befunde in der Leber erklären sich dadurch, daß die Leber als größtes Organ das meiste Aussaatmaterial geboten hat. Die Bakterien müssen sehr schnell in die Leber gekommen sein, denn die bakterizide Kraft des Blutes hatte nicht sehr eingewirkt. Insofern zeigen die positiven Befunde zusammen mit den Ergebnissen aus den Mesenterialvenen und dem Pfortaderblut gewissermaßen auch den Weg, auf dem ein großer Teil der Keime außer durch den Ductus thoracicus nach der Passage der Magen- und Darmschleimhaut in die übrigen Organe gelangt, nämlich auf dem Weg des Pfortaderkreislaufes.

Die Annahme, bei dürstenden Tieren eine energischere Bakterienpassage zu erzielen als bei nicht dürstenden, hat sich, wie schon oben erwähnt, durch die Versuche bestätigen lassen. Es ist ja auch klar, daß die physikalischen Prozesse im Magen und Darm bei der Nahrungsaufnahme eines dürstenden Tieres andere sein müssen als bei einem nicht dürstenden. Beim dürstenden Tiere ist das Blut infolge der Flüssigkeitsabgabe konzentrierter als beim nicht dürstenden, infolgedessen der osmotische Druck, unter dem das Blutserum steht, ein größerer. Wenn nun der osmotische Druck allein in der Lage ist, diese erhöhte Bakterienpassage durch die Magenschleimhaut zu ermöglichen, so muß dieser Vorgang auch am herausgenommenen Magen oder Darm bei künstlichem osmotischen Druck darzustellen sein. Auf Grund seiner

Versuche an toten Hunden fand Hamburger<sup>1)</sup>, daß der osmotische Druck allein im stande ist, eine Resorption von Flüssigkeiten im Darm zu ermöglichen, und neigt zu der Ansicht, daß physiologische Triebkräfte gar nicht vorhanden sind. — Der entgegengesetzten Meinung ist Heidenheim<sup>2)</sup>, der das Vorhandensein von physiologischen Momenten bei der Resorption von Flüssigkeiten neben physikalischen als unbedingt notwendig erachtet.

Ich stellte nun auch diesbezügliche Versuche an und verwendete zuerst möglichst frische Mägen und Därme von Kaninchen, Meer-schweinchen, Hammel, Rind, Schwein und Menschen. Zu diesem Zwecke spannte ich die Mägen oder Därme über Dialysatoren. — Ich brachte nun auf die Seite der Schleimhaut Wasser mit *Bacterium violaceum* oder *ruber purpureus*, auf die Seite der Serosa in das Gefäß verschieden konzentrierte Kochsalzlösung. Somit hatte ich mir künstlich einen osmotischen Druck hergestellt, und hoffte nun die Keime in der Kochsalzlösung zu finden. Nach 2, 6 und 19 Stunden entnahm ich der Kochsalzlösung je 2 Oesen und verimpfte sie in Nährböden. Ich sah aber bald ein, daß bei diesen Präparaten für die Bakterien der Weg in den Kapillaren und Gefäßen zu weit ist, um durch die Osmose mitgerissen zu werden, ich konnte auch in keinem Falle die Bakterien nachweisen. — Nun löste ich bei Schweinemägen und Därmen die Schleimhaut von der Muscularis und Serosa und nahm dieselbe Prozedur an 30 weiteren Präparaten vor. Bei diesen 30 Versuchen benützte ich für die Bakterienaufschwemmung und Kochsalzlösung in den ersten 10 Fällen destilliertes Wasser, in den zweiten 10 gewöhnliches Brunnenwasser, in den dritten 10 steriles Wasser.

Sei es nun daß das destillierte Wasser infolge seiner wachstumshemmenden Wirkung die Bakterien in den Nährböden nicht mehr zum Aufkeimen kommen ließ, oder daß die im gewöhnlichen Brunnenwasser vorhandenen sehr resistenten Keime die benützten Versuchsbakterien an ihrem Wachstum verhinderten, auch in diesen ersten 20 Versuchen waren die Bakterien nicht nachzuweisen.

Bei den Versuchen mit sterilem Wasser konnte ich von 10 Fällen die Bakterien 4mal in der Kochsalzlösung finden, und zwar waren sie 2mal durch die Magen- und 2mal durch die Darmschleimhaut gedrun-gen.

Nachdem nur die Versuche mit sterilem Wasser als einwandsfrei bezeichnet werden können, so bestätigen die 4 Versuche, bei denen die Bacillen durch die Magen- und Darmschleimhaut gedrun-gen sind, gewissermaßen die Annahme, daß der osmotische Druck Bakterien, zusammen mit der Flüssigkeitsströmung, durch die unverletzte Magen- und Darmschleimhaut pressen kann, jedoch berechtigen die Befunde wegen ihrer geringen Anzahl noch zu keiner endgültigen Schlußfolgerung und müssen Versuche dieser Art noch weiter angestellt werden. Des-gleichen stehen noch Versuche in Aussicht, um zu prüfen, ob und in-wieweit das strömende Blut in den Kapillaren der Schleimhaut einen Einfluß auf die Durchgängigkeit der Bakterien durch die Magen- und Darmwand hat.

Die Ergebnisse meiner Versuche sind folgende:

1) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre.

2) Heidenheim, Neue Versuche über die Aufsaugung im Dünndarm. (Pflügers Archiv. Bd. LVI. p. 584.)

Die unverletzte Schleimhaut des Verdauungstraktus der Meerschweinchen und Kaninchen ist für Bakterien durchlässig.

Die verfütterten Keime gelangen beim Kaninchen und Meerschweinchen in kürzester Zeit in die Organe und können hier eine Zeitlang nachgewiesen werden.

Während beim Meerschweinchen dieser rasche Durchtritt sowohl im Magen wie im Darm unmittelbar vor sich zu gehen scheint, kommt dieser rasche Durchtritt beim Kaninchen nur im Magen zu stande. 4 Stunden nach der Fütterung passieren die Mikroben beim Kaninchen auch den Darm.

Beim dürstenden Kaninchen erfolgt durch die Magenschleimhaut eine energiereichere Passage als beim nicht dürstenden.

Die Keime nehmen außer auf der Lymphbahn auch noch durch das Pfortadersystem ihren Weg zu den Organen.

Der osmotische Druck scheint im stande zu sein, die Keime durch die Magendarmschleimhaut zu befördern, vielleicht kommen noch andere physikalische Faktoren, wie mitreißende Wirkung des strömenden Blutes in den Kapillaren, der intrainestinale Druck und Momente physiologischer Natur, wie aktive Strömung des Protoplasmas, der Epithelzellen und die peristaltischen Bewegungen des Magens und Darms in Betracht.

*Nachdruck verboten.*

## Züchtungs- und Tierversuche mit *Bacillus fusiformis*, *Spirochaete gracilis* und *Cladothrix putridogenes*. Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen gangränösen Entzündungen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute der Universität zu  
Kolozsvár (Direktor: Prof. Buday).]

Von Dr. D. Veszprémi, Privatdozenten und I. Assistenten.

Mit 4 Tafeln.

Veranlassung zu diesen experimentellen Untersuchungen, von denen wir im folgenden berichten, gab ein Fall, den Prof. Buday im September 1904 seziierte und der schon wegen des eigentümlichen bakteriologischen Befundes und auch seiner Seltenheit halber Interesse verdient. Es handelt sich um das gleichzeitige Vorkommen von *Bac. fusiformis*, einer Spirochätenart und — außer Kokken — eines in die Familie der Trichomyceten gehörenden Fadenbakteriums in einer metastatischen Eiterung; also um den Fall einer sehr interessanten Mischinfektion, den wir am Anfang dieser Arbeit ausführlich mitteilen wollen.

Unter den Bakterienarten, die in diesem Falle eine Rolle spielten, kann das Fadenbakterium um so mehr unsere Aufmerksamkeit in Anspruch nehmen, da es — wie wir später ausführlich zu zeigen uns bemühen werden — wenn auch nicht in solcher Form, wie in dem mitzuteilenden Falle, so doch, wie es scheint, häufig bei verschiedenen eiterigen und gangränösen Prozessen eine Rolle spielt. Diejenigen, die sich mit der Bakteriologie und Histologie dieser Krankheitsformen beschäftigen, erwähnen sehr oft ein Fadenbakterium, Bacillenformen,

ohne daß jedoch eine genauere Bestimmung derselben und eine eingehendere Würdigung ihrer Rolle bei den erwähnten Prozessen gelungen wäre. Ja, wir können sogar behaupten, daß diese Fadenbakterien gerade in Verbindung mit dem *Bac. fusiformis* und der Spirochäte vor nicht gerade langer Zeit Veranlassung zur Aeüßerung irriger Ansichten gegeben haben.

Der *Bac. fusiformis* und die Spirochäte haben seit den Mitteilungen von Plaut, insbesondere aber seit den Publikationen von Vincent, Kliniker und Bakteriologen, wenn auch nicht mit besonders großer Intensität, so doch beständig beschäftigt. Lange Zeit hindurch konnten aber diese beiden Bakterien nur in den Produkten einzelner Krankheitsprozesse und beinahe ausschließlich nur in Deckglaspräparaten studiert werden. Ihre pathogene Wirkung betreffend, konnte man sich nur so weit orientieren, als dies die klinische Beobachtung überhaupt ermöglichte. Infolgedessen hat man nur ihre morphologischen Eigenschaften kennen gelernt, in neuerer Zeit auf Grund pathologisch-histologischer Untersuchungen auch ihr Verhalten gegenüber den Geweben festgestellt, ohne daß man aber — wegen der Unvollkommenheit oder geradezu Erfolglosigkeit der Züchtung und Tierversuche — Aufschluß erhalten hätte über ihre biologischen Eigenschaften, ihre eventuelle Zuständigkeit zu den verschiedenen Gattungen, vor allem aber über ihre pathogene Wirkung oder die durch histologische Untersuchungen erzielten Resultate auf experimenteller Basis hätte bekräftigen können.

In neuerer Zeit sind zwar bereits in größerer Zahl Mitteilungen gemacht worden, die Tierversuche und sogar Züchtungen dieser Bakterien erwähnen, doch kann behauptet werden, daß alle diese Arbeiten bis heute keinen befriedigenden Erfolg aufgewiesen haben.

Aus den Mitteilungen, die während der Dauer unserer Versuche, besonders aber während der Zusammenstellung dieser Arbeit erschienen sind und bereits ein sehr großes literarisches Material umfassen — wie z. B. die von Babes, Eichmeyer — geht hervor, daß bezüglich der Tierversuche die in einer oder anderer Richtung positiven Resultate neben den vielen negativen von keiner großen Bedeutung und gerade bei der Würdigung der pathogenen Wirkung dieser fraglichen Mikroorganismen von untergeordneter Rolle sind. Was aber ihre künstliche Züchtung betrifft, so sehen wir, daß, während verhältnismäßig viele Beobachter mit *Bac. fusiformis* sehr schöne Resultate erzielten, es nicht gelang, die Spirochäten durch Züchtung längere Zeit zu erhalten, daß sogar — ausgenommen Silberschmidts Züchtungserfolg durch 3 Generationen — die Versuche, die Spirochäten — sei es in Reinkultur, sei es gemischt mit anderen Mikroben — auf künstlichem Nährboden zu züchten, bis jetzt erfolglos geblieben sind. Durch diese Umstände veranlaßt, möchten wir unsere Tierversuche ausführlicher behandeln, da sie verhältnismäßig zahlreicher und, wie es scheint, erfolgreicher waren, als die bisherigen. Gleichfalls in einem besonderen Kapitel beschäftigen wir uns mit den Züchtungsversuchen, deren Resultat insoweit günstig ist, als es uns gelang, die Spirochäten zwar nicht in Reinkulturen, aber doch genügend lange Zeit und durch viele Generationen auf künstlichem Nährboden zu erhalten. Zur Orientierung müssen wir noch von vornherein erwähnen, daß die Tierimpfungen, die wir mit diesen Kulturen vornahmen, und ihr befriedigendes Resultat insoweit tatsächlich von Wichtigkeit sind, als der Erfolg solcher Untersuchungen eine unerläßliche Bedingung für die Feststellung der pathogenen Wirkung eines Bakteriums

ist. Wie wir glauben, ist eine möglichst ausführliche Beschreibung unserer Versuche schon aus dem Gesichtspunkte der Sachlichkeit notwendig und begründet, denn es handelt sich ja in mancher Beziehung um Fragen, die noch unaufgeklärt und strittig sind; wenn wir uns aber in den Schlußfolgerungen auch irren können, haben wir uns in der Beschreibung unserer Versuche der größten Objektivität befließigt.

Zum Schlusse möchten wir nur noch auf den Zusammenhang hinweisen, der zwischen dem *Bac. fusiformis*, den Spirochäten und einigen Formen von gangränösen Entzündungen besteht. Schon die Untersuchungen Vincents machten hierauf aufmerksam, und nach ihm hat auf Grund sehr eingehender histologischer Untersuchungen vor allem Buday die wichtige Rolle der Spirochäten bei den erwähnten Krankheitsprozessen hervorgehoben. Obwohl diese Untersuchungen und Ergebnisse fast die Kraft der Gewißheit besitzen, so fehlt ihnen doch die Bekräftigung durch Versuche. Da uns durch unsere Tierimpfungen zu histologischen Untersuchungen genügend reichliches Material zur Verfügung stand, haben auch wir in letzter Zeit zum Nachweis der *Spirochaete pallida* in Geweben das Levaditische Verfahren angewendet. Auf diese Weise sind wir — worauf wir übrigens, offen gestanden, gar nicht gerechnet hatten — auch in Bezug auf die Rolle dieser Bakterien bei den gangränösen Entzündungen in den Besitz von ziemlich wertvollen Präparaten gelangt. Am Schlusse unserer Mitteilung wollen wir daher über das Verhalten dieser Bakterien den Geweben gegenüber Bericht erstatten, um — soweit Tierversuche einen Schluß erlauben — den eventuellen ursächlichen Zusammenhang aufzuklären, der zwischen den beteiligten Mikroorganismen und den eiterigen oder gangränösen Entzündungen besteht.

## I.

### a) Mitteilung des Falles, der den Ausgangspunkt unserer Versuche bildete.

Bei J. B., einem 53-jährigen Grundbesitzer, trat 3 Wochen vor seiner Aufnahme in die chirurgische Klinik in der Gegend des rechten Kieferwinkels eine besonders beim Kauen schmerzhaftige Geschwulst auf. Die klinische Untersuchung stellte ein Geschwür um den rechten unteren hinteren Backzahn fest. Ferner eine Schwellung über dem Kieferwinkel, in der Schläfengegend und sogar hinter dem Warzenfortsatz. Der Kranke fieberte, seine Temperatur stieg bis 39° C. Bei Incision der über dem Kieferwinkel befindlichen Schwellung wurde ein Absceß gefunden, aus dem sich dicker, stinkender Eiter entleerte, der mohngroße Körnchen enthielt. Nachdem das Fieber nicht nachließ, wurde auch in der Schläfengegend incidiert, und dabei stellte sich heraus, daß sich die Eiterung bis in die Scheide des Schläfenmuskels fortsetzte, ja sogar die Schädelbasis erreicht hatte; es wurde daher auch der Jochbogen entfernt. Eine Besserung zeigte sich nur insoweit, als der bis dahin bestehende Trismus und das Fieber etwas nachließ. Bald darauf traten Hirnsymptome auf, und zwar Krämpfe, die einzelne linksseitige Muskelgruppen befielen, dann Bewußtlosigkeit und zuletzt 6 Tage nach seiner Aufnahme in die Klinik starb der Kranke.

Die Sektion ergab folgendes (Buday):

Mittelgroße, schlecht genährte, sehr blasse, männliche Leiche. Die Augenlider, Augenbindehaut ödematös; die rechte Gesichtshälfte ist geschwollen; von der Mitte des rechten Jochbeins zieht sich ein Schnitt bis über die Ohrmuschel. Mit diesem Schnitt hängt T-förmig zusammen ein zweiter, der gegen die rechten Augenbrauen läuft. Die Wundränder klaffen stark, an ihrem Grunde sind mit stinkendem Eiter bedeckte Granulationen sichtbar. Nach Entfernung des Jochbogens und eines Teiles des Unterkiefers ist in ziemlich ausgedehnter Weise die Schädelwand sichtbar. Der Grund der Wunde dringt bis zur Tiefe von 6 cm bis an die Pharynxwand. In dem aus der Tiefe geschabten Eiter sind kleine, graue Körnchen und übelriechende, blutige Gewebsfetzen. Unter dem rechten Ohrläppchen läuft ein mit dem unteren Rande des Unterkiefers paralleler, 6 cm langer Einschnitt, an dessen Grunde der Kieferknochen in der Ausdehnung eines Silberguldens freigelegt ist. Zum Schluß ist ein kürzerer



Einschnitt hinter dem rechten Warzenfortsatz sichtbar, mit diesem parallel und bis auf den Knochen gehend. Der die Vertiefung des Jochbeins ausfüllende Schläfenmuskel fehlt größtenteils, die Spitze des Processus coronoideus ist entfernt worden. Die umgebenden Weichteile sowie die Ränder und der Grund der oben erwähnten Incisionen werden von einem etwas stinkenden, eiterig zerfallenden Gewebe gebildet. In dem dicken Eiter sind die schon erwähnten kleinen Körnchen zu sehen. Die Schädelbasis ist an dieser Stelle freigelegt. An der Innenfläche des Unterkiefers ist Periost und Schleimhaut überall erhalten. Unten fehlen die Backzähne (sie wurden operativ entfernt), die übrigen Zähne sind gesund. Der Zahnfortsatz des Oberkiefers sowie dessen andere Teile weisen keine Abnormität auf; die Nasenhöhle ist normal. Die Schädelwölbung ist weit, die innere Fläche etwas rauh. Die Dura mater erscheint über der rechten Hemisphäre dunkelblau und etwas hervorgehoben; es ist hier zwischen den harten und den weichen Hirnhäuten ein etwa 2 mm dicker geronnener Blutkuchen zu sehen. Zwischen den weichen Hirnhäuten ist ebenfalls eine ziemlich dicke blutige Infiltration, am stärksten dort, wo Stirn-, Scheitel- und Schläfenlappen zusammentreffen. Längs den Gefäßen ist eine dünne Eiterschicht zu finden. Auf der linken Seite ist keine Blutung vorhanden. An der Hirnbasis ist nur die mediale Seite des linken Schläfenlappens mit Eiter bedeckt; der rechtsseitige dagegen ist ganz mit Eiter bedeckt, am intensivsten dort, wo die Berührungsstelle mit der mittleren Skala ist, ja der Eiter füllt die ganze mittlere Skala aus. In dem dicken, übelriechenden, gelben Eiter sind einzelne fahle, gelbe, stecknadelkopfgroße Körnchen zu sehen. Auf der linken Seite ist entlang der Fossa Sylvii gleichfalls in dünner Schicht Eiter. Die untere Fläche des Kleinhirns, das verlängerte Mark, die Varolsbrücke bedeckt blutiges Serum, teils geronnenes Blut, das auch die Häute infiltriert. In den Hirnventrikeln ist dünnflüssiges Blut und wenig Blutgerinnsel, das auch den III. und IV. Ventrikel ausfüllt und auch das Kleinhirn umgibt. Im übrigen ist die Hirnsubstanz blutreich und etwas weicher.

An der Schädelbasis ist nach Ablösen der Dura zwischen der mittleren Skala und der Dura dicker, graugelber, übelriechender Eiter vorhanden, der vor allem in der Umgebung des Sinus cavernosus massenhaft ist und entlang der gegen die Schädelbasis laufenden Taschen — so entlang dem Foramen ovale, Foramen caroticum — mit der an der unteren Fläche der Schädelbasis befindlichen Eiterung in kontinuierlichem Zusammenhange steht. Von hier reicht der Eiter entlang dem Türkensattel bezw. der Hypophyse, die von Eiter rings umspült ist, bis gegen die linke Fossa Sylvii. Links ist zwischen Knochen und Dura keine Eiterung.

Das Herz ist schlaff, seine Höhlen erweitert, die Klappen unverändert.

Der Oberlappen der rechten Lunge ist überall von der Resistenz eines Luftkissens, der untere ist blutreich, härter. An seiner hinteren Fläche unter dem Brustfell sind größtenteils linsengroße Eiterherde in großer Anzahl zu sehen; über denselben ist das Brustfell glanzlos, beim Einschnitt entleert sich aus ihnen dünnflüssiger, gelbgrüner Eiter und aus ihrem Zentrum sind auf Druck einige Körnchen zu pressen. Auch die hintere Fläche der linken Lunge enthält zahlreiche Eiterherde — der Unterlappen etwa 15 erbsengroße — die mit ihrer unmittelbaren Umgebung prominieren und derber sind. Einige ähnliche Abscesse sind auch am unteren Teile des Oberlappens. Ihr Inhalt wird zum großen Teil von einer gelben, bröckeligen Substanz und nur zum kleineren Teil von gelbgrünem dünnen Eiter gebildet. In den Bronchien ist kein Eiter zu finden.

Die Mandeln sind klein, Rachen, Kehlkopf, Speise- und Luftröhre blaß.

Die Milz ist klein, sehr weich, die Follikel größer, gut sichtbar.

Die Nieren sind gedunsen, saftreich, die Rindensubstanz breiter, hyperämisch, trüber.

Die Leber braunrot, schlaff. Magen und Darm normal.

Diagnose: Periostitis purulenta lateris dextri mandibulae cum phlegmone musculi temporalis dextri. Incisiones in regione submaxillari, mastoidea et zygomatico-temporali dextra. Periostitis purulenta faciei inferioris, basis calvariae, abscessus supraduralis in scala media lateris dextri dein pachy- et leptomeningitis purulenta-haemorrhagica praecipue partim proximarum cerebri. Abscessus metastatici pulmonum. Hyperplasia folliculorum lienis. Degeneratio parenchymatosa renum.

#### b) Bakteriologischer und histologischer Befund.

Sowohl der auf der chirurgischen Klinik bei Gelegenheit der Incision der Abscesse gewonnene als auch der bei der Sektion aus Mundhöhle, Dura und Lungenabscessen stammende Eiter ist ziemlich dick, rahmig, schmutzig-gelb oder rötlich-gelb, etwas stinkend.

Im Eiter sind schon mit bloßem Auge zahlreiche, etwa mohnkorn-große, graugelbe Körnchen zu sehen, die man auf den ersten Blick fast für Actinomyces-Haufen halten könnte. Doch sind sie viel weicher, unter dem Deckglas viel leichter auseinanderzudrücken, leichter austreichbar und auch ihre Farbe ist nicht so lebhaft gelb wie die der Actinomyces-Haufen. Auch unter dem Mikroskop ist eine gewisse Aehnlichkeit zu konstatieren, insofern auch diese Körnchen einen gelappten Rand besitzen und zum Teil aus kleineren Körnchen zusammengesetzt erscheinen; doch sind sie dennoch gleichmäßiger, zeigen nicht die brombeerenartige Form, vor allem aber fehlt die charakteristische radiäre Struktur und Kolben sind überhaupt nicht zu finden. Das ganze Körnchen besteht aus einem im nativen Präparat nicht gut erkennbaren Haufen von Bakterien, der den Eindruck einer Zoogloea macht. Bei stärkerer Vergrößerung ist besonders an den Rändern eine fadenförmige Struktur erkennbar, wenn das Untersuchungsmaterial gut auseinandergedrückt wurde. Gleich hier wollen wir erwähnen, daß es uns auch in dem ungefärbten Präparat bei starker Vergrößerung gelang, teils am Rande der Körnchen, teils zwischen den Eiterzellen Spirochäten zu finden.

Die vorerwähnten Körnchen kann man aus dem Eiter ganz gut absondern und herausheben. Wir strichen sie dann mit Wasser gut verrieben und daher in ziemlicher Verdünnung auf die Objektträger aus und fixierten sie, indem wir sie auf die übliche Art einige Male durch die Flamme zogen. Zur Färbung erwies sich am geeignetsten verdünntes Ziehlsches Karbolfuchsin, das die verschiedenen Bakterien sehr gut zeigte. Mit Rücksicht auf die Spirochäten benutzten wir auch die Giemsa-Färbung sowie die van Ermengensche und die Loefflersche Geißelfärbung, ohne jedoch bessere Resultate zu erhalten.

Aus den auf die erwähnte Art hergestellten Präparaten ging hervor, daß diese Körnchen verschiedene Bakterien enthalten, und zwar die folgenden:

6—7  $\mu$  lange, spindelförmige Bacillen, die in der Mitte etwas dicker, gegen die Enden zu allmählich dünner und spitz werden. Teils bilden sie in mehr oder weniger paralleler Anordnung Haufen (Fig. 1), teils kürzere oder längere Ketten (Fig. 2), so daß 2—10 oder sogar 25—30 Bacillen miteinander in Zusammenhang stehen. Die einzelnen Bacillen sind im allgemeinen etwas gekrümmt, doch gibt es auch ganz gerade verlaufende. Bilden sie Ketten, so hängen sie in der Regel so miteinander zusammen, daß ihre Konkavität immer derselben Seite zugekehrt ist. Manchmal erscheinen 2 Bacillen schnurrbartartig und zwar so, daß zwischen ihnen eine kleine Lücke zu sehen ist und sie sich von da an allmählich zuspitzen. Einzelne Bacillen sind viel länger als der Durchschnitt, auch ihre Dicke ist ungleichmäßig, manchmal ist ein Ende oder die Mitte stark gequollen, das andere Ende gekörnt, färbt sich schlecht und erinnert an Involutionsformen (Fig. 3). Im allgemeinen färben sich die spindelförmigen Bacillen mit Fuchsin etwas blasser als z. B. die später zu nennenden Kokken oder Fadenbakterien. Nach Gram entfärben sie sich mehr als nach der Weigertschen (Fibrin) Färbung. Wenn wir nach dieser letzteren Methode 1—2 Stunden in Tubus färben und nachher vorsichtig in einem Gemisch von Anilin-Xylol  $\bar{a}\bar{a}$  entfärbt haben, so bekommen wir ganz gut gefärbte Bacillen, aber bei manchen Präparaten entfärben sie sich ziemlich stark selbst bei vorsichtigem Verfahren. Mit Hilfe besonders der van Ermengem-

schen Geißelfärbung sind bei den spindelförmigen Bacillen sehr zahlreiche feine Geißelfäden nachweisbar, mit denen der *Bacillus rings* besetzt ist, dem *Typhusbacillus* ähnlich (Fig. 8, 9). Uebrigens sind die Cilien auch nach Loefflers Verfahren gut färbbar, bei unseren Präparaten bewährte sich indessen die van Ermengemsche Färbemethode besser, aber auch diese nicht ohne Ausnahme.

Eine andere Mikrobenart, die besonders in jenen Präparaten in großer Zahl zu finden war, in denen auch die spindelförmigen Bacillen am massenhaftesten nachweisbar waren, ist eine Spirochätenform. Die Durchschnittslänge dieser Spirochäten beträgt 9—10  $\mu$ , doch gibt es sowohl bedeutend kürzere als auch längere (Fig. 7); sie sind sehr fein, dünn, spitz endigend und auffallend blaß, auch dann, wenn die übrigen Bakterien sehr intensiv gefärbt erscheinen. Ihre Windungen sind klein, gleichmäßig, dicht aufeinanderfolgend, manchmal so fein, daß sie kaum auffallen. Die Zahl der Windungen ist je nach der Länge der Spirochäte wechselnd, es gibt solche mit 6—10—12 Windungen, daneben aber vereinzelt auch solche mit mehr. Im allgemeinen sind die mit feinen, kleinen Windungen und blaß gefärbten in starker Ueberzahl, hie und da sind aber auch die dickeren, weniger aber gedehntere Windungen aufweisenden Formen zu sehen, die sich etwas intensiver färbten (Fig. 7b). An einigen Stellen erscheinen mehrere Spirochäten miteinander verflochten oder mit den spindelförmigen Bacillen oder den später zu beschreibenden Fadenbakterien verklebt, in sehr wechselnder Anordnung, aber niemals so, daß man den Eindruck gewinnen könnte, als ob die Spirochäten mit diesen in einem engeren Zusammenhange ständen und entschieden niemals so, als ob die eine aus der anderen Art herausgewachsen sei. In gleicher Weise gibt es Spirochäten, die mit Kokken oder Kokkenhaufen verklebt sind. Nach Gram und Weigert sind sie nicht färbbar. Am besten gelingt die Färbung mit verdünntem Karbolfuchsin oder Giemsa-Lösung, auch wohl mit Loefflerscher oder van Ermengemscher Geißelfärbung, doch erscheinen sie so viel gröber und sind besonders wegen des bedeutenden Niederschlages schwerer zu erforschen. Geißeln oder eine undulierende Membran konnten wir nicht sehen. Wir wollen aber bemerken, daß man in den nach van Ermengem gefärbten Präparaten an zahlreichen Spirochäten scheinbar Geißeln sieht, doch lehrte uns die Erfahrung, daß diese Geißeln eigentlich gar nicht zu den Spirochäten gehörten, sondern daß es Geißeln waren, die sich von den Spindelbacillen losgelöst hatten und innerhalb des Gesichtsfeldes in großer Anzahl verstreut, auch an die Spirochäten geheftet, erschienen.

An dritter Stelle müssen wir Mikroorganismen beschreiben, die in den Körnchen gleichfalls in großer Menge vorkommen, scheinbar sehr wechselnd sind, in einigen Eigenschaften aber dennoch so sehr übereinstimmen, daß wir es für zweckmäßig halten, sie in einer Gruppe zu behandeln. Diese Bakterien unterscheiden sich, was Form, Größe und tinktorielles Verhalten betrifft, scharf von den Spindelbacillen und auch von den Spirochäten. Ein Teil besitzt den Charakter von Fadenbakterien, 20—30  $\mu$  lang, unregelmäßig gebogen oder mehrmals geknickt, verkrümmt (Fig. 4, 5, 6). Die Bogenform und Verkrümmung ist nicht gleichmäßig, nicht regelmäßig wellenförmig, sondern geknickt; die Unregelmäßigkeit wird gerade dadurch hervorgerufen, daß die einzelnen Krümmungen durch sehr ungleich große Glieder gebildet wurden, be-

sonders ganz kurze, 1—2  $\mu$ , und dann 10—15  $\mu$  lange, in anderer Richtung verlaufende Fadenabschnitte. An diesen Fäden sind hie und da Gebilde zu sehen, die man auf den ersten Blick für Verzweigungen halten könnte; doch ist dies ganz entschieden nur eine scheinbare und keine echte Astbildung und besteht darin, daß an einem längeren Faden seitlich in der Regel rechtwinkelige, kürzere oder längere Glieder zu sehen sind, die ebenfalls entweder kürzere, gerade bzw. etwas gebogene Stäbchen bilden oder aber längere, ebenfalls unregelmäßig geknickte Fäden. Ein anderer Teil erscheint in Form sehr wechselnd langer Bacillen, 1—5—8  $\mu$ . Meistenteils sind sie etwas gebogen, sehr häufig ist die gedehnte S-Form, die jedoch mehr oder weniger winkelig und steif ist und nicht vibrioartig. Ein anderer Teil erscheint in Form eines stumpfen V. Die Schenkel des V sind nach außen gebogen, ähnlich der Zeichnung eines fliegenden Vogels. Häufig sind die Schenkel auch nicht gleich lang, einer kommaförmig, der andere S-förmig. Dann sind wieder verhältnismäßig gleich lange Bacillen zu sehen, die gerade und an ihren Enden scharf abgeschnitten erschienen (ihre Länge beträgt etwa 10—14  $\mu$ ), zum Teil in kleineren Gruppen, zum Teil in Form von Fäden, die aus sehr verschieden vielen Gliedern zusammengesetzt sind und eine gewisse Aehnlichkeit mit den Anthrax-Fäden haben (Fig. 5, 6). Die einzelnen Bacillen werden durch eine sehr schmale Zone voneinander getrennt. In den Gruppen sind sie in der Regel zusammen mit den oben erwähnten V- oder S-förmigen, steif gebogenen Formen und Fäden zu sehen. Alle hier genannten Arten sind ganz gleich dick und auch ihre Färbung ist ganz übereinstimmend. Mit Fuchsin färben sie sich sehr intensiv gleichmäßig dunkelrot, gleichfalls gut färben sie sich nach Gram bzw. nach Weigert. Sowohl in den Fuchsin- als auch in den nach der letzteren Methode gefärbten Präparaten finden sich zahlreiche solche Fäden, die mäßig gequollen, blasser und der Längsrichtung nach gelagert und angeordnet erscheinen und mit kokkenförmigen Körnchen gefüllt sind (Fig. 13, 14). In den nach Gram oder Weigert gefärbten Präparaten kann noch eine nennenswerte Eigenschaft beobachtet werden, die in den Fuchsinpräparaten kaum in die Augen fällt; es gibt nämlich auch solche Formen unter ihnen und zwar in eben nicht geringer Zahl, die an ihren Enden aufgequollen und abgerundet, also keulenförmig sind; manchmal weisen beide Enden eines längeren gebogenen Fadens eine keulenförmige Verdickung auf. Die soeben genannten 3 Arten von Mikroorganismen sind in den Körnchen nicht gleichmäßig verteilt, denn von Präparaten, die aus dem Material eines und desselben Körnchens hergestellt wurden, enthält z. B. eines nur lauter Fusiformis-Formen, dagegen nur einzeln andere Mikroben; in einem zweiten Präparat dagegen sind die sehr verschieden gestalteten fadenförmigen Bakterien in Ueberzahl und auffallend wenig spindelförmige Bacillen und Spirochäten.

Auch der flüssige Teil des Eiters bildete, mit Wasser etwas verdünnt, in besonders angefertigten Präparaten den Gegenstand von Untersuchungen, deren bakteriologisches Resultat übrigens im allgemeinen mit dem der Körnchen übereinstimmt. Auch im flüssigen Teil des Eiters finden sich Spindelbacillen, aber bedeutend weniger als in den Körnchen, dagegen auffallend viele Spirochäten, die in jedem Gesichtsfeld massenhaft vorkommen und ebenfalls blaß und fein sind; doch gibt es unter ihnen auch viele, die dicker und plumper sind und sich intensiver färben. Kokken sind teils in kurzen Ketten, teils in kleineren Haufen

zu sehen. Was die Fadenbakterien betrifft, so kommen auch diese gleichmäßig verteilt in großer Menge vor. Sie färben sich zum Teil granuliert. Im allgemeinen geht aus der Eiteruntersuchung hervor, daß die Spindelbacillen im Eiter selbst nicht so verbreitet und vermehrt vorkommen wie die Spirochäten und Fadenbakterien.

Zum Zwecke histologischer Untersuchung brachten wir kleine Lungenabscesse, die auch Körnchen enthielten, sowie Körnchen enthaltenden Eiter zur Durchtränkung und zwar nach Apáthy in Celloidin und Paraffin. Gefärbt wurden die daraus hergestellten 2—4  $\mu$  dicken Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin, verdünntem Karbolfuchsin, nach Gram, Weigert und mit der Levaditischen Silberimprägnation.

Die Lungenschnitte zeigen das gewöhnliche Bild von Abscessen, besonders ist unmittelbar unter der Pleura zirkumskript eine Menge von Eiterzellen zu finden. Die mit den Abscessen benachbarten Alveolen enthalten ein feineres oder gröberes Fibrinnetz und sind mit Eiterzellen gefüllt. Auch die den Absceß bedeckende verdünnte Pleura ist mit einem Fibrinbelag überzogen, der zerstreute Eiterzellen enthält. In dem den Absceß umgebenden Lungengewebe war bei der mikroskopischen Untersuchung keine Spur von Nekrose oder Gangrän zu finden.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Spirochätenähnliche Spiralfasern (sogenannte „Silberspirochäten“) im Gewebe eines Schweinefötus.

Von Dr. Th. Saling, Berlin.

Mit 1 Tafel.

Die Silberimprägnierung eines Gewebes hat in neuerer Zeit dadurch allgemeine Beachtung erregt, weil es damit gelang, in den Organen einiger luetischen Föten und Neugeborenen sehr feine, kurz abgerissen erscheinende Gewebefäserchen zu schwärzen, die infolge ihres spiraligen Baues an schwarz tingierte Spirochäten erinnerten. Neu war diese Wahrnehmung nicht, denn schon seit Ranviers Zeiten ist es bekannt und von zahlreichen Histologen bestätigt worden, daß sich mit Hilfe der Silbermethode gewisse faserige Gewebelemente (mit oft sehr spiraligem Verlauf) scharf und deutlich vom übrigen Gewebe differenzieren lassen, während eine Tinktion mit Farbstoffen entweder vollkommen versagt oder doch nur ein sehr undeutliches Bild zu liefern im stande ist. Mit nur ganz unerheblichen Modifikationen in der Methodik gelang es auf diese Weise darzustellen: Zellgrenzen, elastische Fasern, Gitter- und ähnliche Fasern, ja sogar Nerven, und zwar nicht bloß die gröberen Nervenfasern, sondern auch die allerfeinsten Endausläufer. Schließlich hatte sich auch die Verwendbarkeit der Silbermethode zur Darstellung von Bakterien und zur Sichtbarmachung von Geißeln ergeben.

Da nun eine auf manchen luetischen Hautaffektionen saprophytisch lebende Spirochäte durchaus als „Lueserreger“ proklamiert werden sollte, alle dafür angeführten Beweisgründe aber sofort widerlegt worden

22\*

waren, so benutzten Bertarelli und Volpino, als sie zu Ende des Jahres 1905 in Milz und Leber einesluetischen Fötus mit Hilfe der Silberimprägnierung spiralig deformierte Fäserchen entdeckten, die willkommene Gelegenheit, um diese Spiralfasern mit echten Spirochäten zu identifizieren. Damit war die Einleitung zu einer ausgedehnten Periode der Irrungen gegeben, denn nachdem sich auch kurze Zeit später Schaudinn in gleichem Sinne erklärt hatte, wurde diese Behauptung aufgegriffen und in einer Anzahl von Berichten „bestätigt“. Für einen objektiven Beurteiler wäre als einziges Moment, welches die Identifizierung der erwähnten Spiralgebilde mit echten Spirochäten hätte berechtigt erscheinen lassen, vielleicht die kurze abgerissene Gestalt der Spiralfasern in Betracht gekommen. Wenn man aber berücksichtigt, daß auch bei der Nervendarstellung resp. Bindegewebsimprägnierung die Fasern oft nicht in continuo — wie einige Spirochätenanhänger zu glauben scheinen — sondern sehr fragmentarisch zur Darstellung gelangen, daß also selbst im gesunden, unverletzten Gewebe mit Silber meist nur eine diskontinuierliche Imprägnierung erreicht werden kann, dann läßt sich auch verstehen, um wie viel mehr abgerissen und unterbrochen die Fasern in einem Gewebe erscheinen müssen, das so schweren Krankheitsprozessen, wie sie sich bei der hereditären Lues abspielen, ausgesetzt war, und in welchem durch Mazeration resp. Autolyse eine so starke Lockerung stattfinden kann, daß der normale Zusammenhang überall gelöst wird.

In einer Reihe von Schriften und in einigen Sitzungen der Berl. med. Gesellschaft habe ich bereits dargelegt, daß eine Identifizierung der sogenannten „Lues-Silberspirochäten“ mit echten Spirochäten aus folgenden Gründen unrichtig ist:

1) Beim Größenvergleich der sogenannten „Silberspirochäte“ mit dem *Spirochaete pallida* benannten Saprophyten hat sich jedesmal herausgestellt, daß ganz bedeutende Differenzen obwalten. Auch Spirochätenanhänger haben dies zugegeben, und erst kürzlich hat Orth gelegentlich der Diskussion in der Berl. med. Gesellschaft diesen auffälligen Größenunterschied unter dem Hinweise zu erklären versucht, daß die Spirochäten bei einer Silberimprägnierung infolge der Auflagerung von Silberkörnchen naturgemäß immer dicker erscheinen müßten als nach einer Behandlung mit Farbstoffen. Dies trifft wohl auch für echte Spirochäten zu, wenigstens sind nach meinen Erfahrungen im Ausstrich versilberte Hühnerspirochäten (cf. Sitzungsber. d. Ges. naturf. Freunde. Berlin 1906. No. 9) niemals kleiner als die mit Farbstoff behandelten. Kürzlich berichtete Stern, daß es ihm glückte, auch die echte *Spirochaete pallida* im Ausstrich mit Silber zu tingieren, und daß auch diese Spirochäte durch die Silberfärbung merklich vergrößert worden sei. Mit Silber imprägnierte echte Spirochäten erscheinen also größer als die gefärbten; zwischen den in Frage stehenden sogenannten „Silberspirochäten“ (alias spiralig deformierten Gewebefäserchen) und den gefärbten echten Spirochäten ist dies Verhältnis aber gerade umgekehrt. Somit bewies Orth durch seinen Erklärungsversuch gegen seinen Willen, daß die sogenannten „Lues-Silberspirochäten“ mit der *Spirochaete pallida* nicht identisch sein können!

2) Die sogenannten „Lues-Silberspirochäten“ sind mit Farbstoffen nicht darstellbar<sup>1)</sup>, während echte Spirochäten sowohl im Ausstrich

1) Vergl. Nachwort.

wie im Schnitt (cf. die Hühnerspirillen in den Gefäßen auf Milz- und Leberschnitten) vortrefflich gefärbt werden können. Benda, der sich durch Anwendung von Beizen und absonderlichen Methoden abmühte, diesen triftigen Einwand zu beseitigen, scheiterte mit seiner Beweisführung vollständig, denn es gelang ihm nicht, im Schnitt an den analogen Stellen, wo die sogenannten „Silberspirochäten“ myriadenweise zu lagern pflegen, auch nur eine einzige echte Spirochäte mit Anilinfarben sichtbar zu machen. Die mittels eines besonderen „Kunstgriffes“ hergestellten Ausstriche enthielten allerdings dicke und sehr unregelmäßig gewundene Spirochäten vom *Refringens*-Typus in großer Zahl, womit Benda also selbst die Sepsisnatur seines „Krüger“-Falles auf das einwandfreieste bewiesen hätte, denn wenn in einem inneren Organ solche Mengen allgemein als ubiquitäre Saprophyten bekannter Bakterien vorhanden sind, so wird wohl niemand mehr an einer bestehenden Sepsis zweifeln. Benda leugnet es auch gar nicht, ja hält es sogar für „gleichgültig“, ob auch der Fall Krüger einige Bakterieninvasionen gehabt hat. Bei einer solchen Auffassung werden wir uns allerdings schwer einigen können, denn um den ätiologischen Faktor der Syphilis festzustellen, muß man, wie ich schon an anderer Stelle sagte, „innere bakterienfreie Organe eines durch keine Mischinfektion tangierten luetischen Körpers als Ausgangspunkt wählen“.

3) Die sogenannten „Lues-Silberspirochäten“ der Schnitte bakterienfreier Organe konnten nicht ein einziges Mal in frischen Organausstrichen mit Silber dargestellt werden, obwohl dasselbe Organ nach der Konservierung und Silberbehandlung „Silberspirochäten“ in großen Mengen zeigte. Echte Spirochäten dagegen lassen sich auch im Ausstrich mit Silber imprägnieren, wie bereits von verschiedenen Seiten erwiesen worden ist (von mir bei der Hühnerspirochäte, von Schuster bei der Balanitisspirochäte, von Stern bei der echten *Spirochaete pallida*). Die neuerdings üblich gewordene Konklusion, daß, weil sich solche echten Spirochäten mit Silber imprägnieren lassen, nun auch die sogenannte „Lues-Silberspirochäte“ eine echte Spirochäte sein müsse, ist vollkommen verkehrt und ungerechtfertigt. Denn man müßte zuvor den Beweis erbringen, daß die als „Silberspirochäten“ bezeichneten Gebilde auch in frischen Ausstrichen bakterienfreier (!) Organe mittels der Silbermethode nachweisbar sind. Dieser Beweis fehlt. Dagegen habe ich darauf aufmerksam gemacht, daß zuweilen in solchen luetischen Organausstrichen nach Silberfärbung feinste Fäserchen geschwärzt werden, die sich von den sogenannten „Silberspirochäten“ nur durch den Mangel der spiraligen Windungen unterscheiden. Vermutlich schrumpfen bei der in toto-Behandlung des Materials diese glattverlaufenden Gewebefäserchen (was bei der Ausstrichmethode nicht möglich ist) und täuschen dann im Schnitt versilberte Spirochäten vor.

4) Bei allerstärkster Gewebsläsion fehlen die sogenannten „Silberspirochäten“ vollständig, weil die Spirochäten vortäuschenden Fäserchen dem Zerfall anheimgefallen sind, während ein Parasit gerade dort angetroffen werden müßte. Im allgemeinen liegen die sogenannten „Silberspirochäten“ dort am dichtesten, wo starke Wucherungen resp. Neubildungen stattfinden. Wir besitzen eine reichliche Literatur darüber, daß bei entzündlichen Prozessen der inneren Organe, und ganz besonders bei den interstitiellen Entzündungen der Syphilis, eine mit Bildung feinsten Fäserchen einhergehende gewaltige Wucherung des Bindegewebes

sowie des elastischen Gewebes vor sich geht. Benda gibt zu, daß er bei den jungen Intimawucherungen in Fällen von syphilitischer Arteriitis öfters geneigt war, die Fortsätze jugendlicher Fibroblasten für Spirochäten zu halten.

5) Bei hochgradiger Mazeration, wie sie bei vielenluetischen Föten vorliegt, ist das Gewebe so zerfallen, daß alle weicheren Bestandteile zerstört sind und nur noch das resistenterere Stützgewebe erhalten geblieben ist, welches auffallenderweise aus Strängen sogenannter „Silberspirochäten“ zusammengesetzt erscheint. An Gefäßen kann man alsdann auch sehr deutlich sehen, wie sich aus deren ehemaliger Wandung ganze Komplexe von spiralig deformierten Fasern loslösen, ins Lumen hineinfallen und dann Spirochäten vortauschen (cf. eine Figur der Mühlenschen Arbeit). Somit finden die sogenannten „Lues-Silberspirochäten“-Befunde im Gefäßlumen zwanglos ihre Erklärung. Das Fehlen echter Spirochäten im Blute und Gewebe von Luetikern (mit Ausnahme der an Sepsis eingegangenen Neugeborenen) beweist allein schon zur Genüge, daß die im Gefäßlumen und Gewebe aufgefundenen Spiralfasern keine echten Spirochäten sein können. Die kürzlich von Mühlens mitgeteilten schematisierten Resultate sind völlig belanglos, da die so wichtigen Sektionsprotokolle der einzelnen Fälle nicht veröffentlicht wurden, ja zum Teil ganz unbekannt zu sein scheinen.

6) In ganz jungenluetischen Aborten (z. B. in solchen vom 3. Monat) fehlen die sogenannten „Silberspirochäten“, vermutlich weil es noch nicht zu einer Differenzierung der spirochätenähnlichen Fäserchen gekommen ist. Das wird bestätigt durch Babs Aeußerungen sowie durch die Mühlenssche Tabelle.

7) Im Zentralnervensystem sind zugestandenermaßen die sogenannten „Silberspirochäten“ von spiralig deformierten, feinsten Nervenfasern nicht zu unterscheiden (Bestätigung durch Buschke und Fischer, Schmorl, Benda).

8) Bei einer Reihe von nekrotischen, nichtluetischen Prozessen hat man im Gewebe ebenfalls mehr oder minder ähnliche „Silberspirochäten“ erzeugen können, so bei spitzen Kondylomen, Carcinom, Noma, Nosokomialgangrän, Hospitalbrand.

9) Durch operativen Eingriff und nachfolgende künstliche Mazeration ist es zudem an der nichtluetischen Kaninchencornea gelungen, mit den sogenannten „Silberspirochäten“ vollkommen identische, steil gewundene und kurz abgerissene Spiralfasern künstlich zu erzeugen. Krankheitsprozeß und ein Lockerungs- resp. autolytischer Prozeß scheinen also das Auftreten spirochätenähnlicher Fasern im Gewebe zu bedingen, zwei Faktoren, die künstlich nur ungemein schwer, gewissermaßen zufällig in dem erforderlichen Grade geschaffen werden können. Der einzige Unterschied zwischen diesen künstlich hervorgerufenen feinen Corneaspiralen und den sogenannten „Lues-Silberspirochäten“ besteht darin, daß letztere in größerer Zahl als die anderen vorhanden sind, ein Umstand, der leicht verständlich ist, weil der natürliche Krankheitsprozeß eine viel einschneidendere Wirkung und eine weitgehendere Gewebslockerung zur Folge hat als eine relativ geringfügige lokale Verletzung.

10) Trotzdem in jedem Jahre Hunderte vonluetischen Affen untersucht werden, wurden (mit Ausnahme eines Falles von Zabolotny) in den inneren hochinfektiösen Organen die „Silberspirochäten“ immer vermißt! Es ist nun freilich nicht ausgeschlossen, daß man auch dort, sobald die erforderlichen Mazerationsbedingungen etc. vorliegen, die viel



umstrittenen Spiralfasern im Gewebe finden wird. Jedenfalls beweisen aber die konstant negativen Resultate an hochvirulenten Affenorganen, daß die sogenannten „Silberspirochäten“ nicht die Lueserreger sein können, sondern erst bedingt werden durch andere später hinzutretende Zerfallerscheinungen.

Drängen allein schon diese Tatsachen und Erwägungen zu dem Schlusse, daß die sogenannten „Silberspirochäten“ im luetischen Gewebe keine wirklichen Spirochäten, sondern Artefakte sind, so wird diese Ansicht gefestigt und sichergestellt durch einen Befund, den Justyn Karliński kürzlich in der Haut eines mazerierten Schweinefötus gemacht hat. Wenn ich auch schon ein Karlińskisches Präparat in der Berl. med. Gesellschaft (13. März 1907) demonstriert habe, wo es das größte Aufsehen erregte, so möchte ich, da dieses Präparat bezüglich der ganzen Silberspirochätenfrage ein abschließendes Urteil gestattet, doch noch eine genaue, durch Photogramme erläuterte Beschreibung geben, um auch weiteren Kreisen diesen wichtigen Befund zugänglich zu machen.

Der Karlińskische Fall ist deswegen von so großer Bedeutung, weil die in Frage stehenden Spiralgelände einmal im fötalen Gewebe und ferner myriadenweis vorhanden sind, ohne daß eine Spirilloseerkrankung vorliegt und weil Hoffmann zu meiner großen Befriedigung das Präparat in folgender Weise beurteilte: „In diesem Präparat fanden sich im Lumen eines Gefäßes Gebilde, die meiner Ansicht nach zweifellos als von der *Spirochaete pallida* im Silberpräparat nicht unterscheidbare Spirochäten gedeutet werden müssen“.

Zunächst schildere ich die näheren Umstände, wie das Untersuchungsmaterial gewonnen wurde unter Zugrundelegung der brieflichen Auskunft, die mir Herr Dr. Karliński in liebenswürdigster Weise auf meine Bitte gab.

Das Muttertier, eine 3 Jahre im Stall gehaltene, 150 kg schwere Sau bosnischer Rasse, wurde zu den Weihnachtsfeiertagen 1906 geschlachtet. Wider Erwarten erwies sich beim Zerlegen das Tier, dessen Fleisch und Fettpolster vollkommen gesund waren, als trächtig. Im Uterus waren 6 Föten von verschiedener Größe enthalten (3 waren mäusegroß, 2 ca. 250 g schwer und 1 wog beinahe 500 g); alle waren aufgedunsen, besaßen eine teilweise abgehobene Oberhaut und waren mazeriert. Der Tod der Föten kann nur durch eine traumatische Ursache (der Wärter hatte das Tier stark geschlagen) herbeigeführt worden sein; irgend eine Krankheit des Muttertieres oder speziell eine Spirillose ist absolut ausgeschlossen, wie sowohl der klinische als auch der mikroskopische Befund bezeugten. Nur der größte Fötus wurde untersucht. Stücke der Haut wurden sowohl zerdrückt wie im Schnitt nach Giemsa gefärbt; andere Stücke wurden in toto nach der Levaditischen Silbermethode behandelt. Auch nach Giemsa tingierte Milz- und Leberausstriche dieser Föten ergaben trotz genauester Durchmusterung keinerlei Anhaltspunkte für das Bestehen einer Spirillose; nichts Verdächtiges konnte wahrgenommen werden.

Dagegen ließen sich in den Gefrierschnitten des mit Silber imprägnierten Materials die sogenannten „Silberspirochäten“ myriadenweise erkennen. Sie stimmen mit den sogenannten „Lues-Silberspirochäten“ nicht nur in Größe und Habitus, sondern auch hinsichtlich ihrer Verteilung im Gewebe genau überein (cf. weiter oben Hoffmanns Gutachten!).

Die Haut trägt deutlich die Spuren der Mazeration. In den obersten Epithelschichten scheinen die Spiralfäserchen zu fehlen, dagegen findet man sie in den tieferen Schichten stellenweise oft in großer Menge (s. Fig. 1), teils mit gebogener, teils mit gerader Längsachse; an anderen Stellen sind sie unsichtbar. Doch scheint es mir, als ob sie überall vorhanden seien, daß sie nur aus lokalen Dichtigkeitsverhältnissen mancherorts von der Silberlösung nicht genügend umspült werden konnten. Denn zuweilen (namentlich in den Gefäßwandungen oder in der Nähe von Gewebsspalten) erblickt man häufig die gleichen Spiralfäserchen nicht schwarz gefärbt, sondern in ähnlicher Gelbtönung wie das Nachbargewebe. Dieselbe Beobachtung konnte ich auch häufig an luetischen Geweben machen. Es ist klar, daß diese unzähligen Fäserchen, wenn sie Parasiten wären, sich auch mit Farbstoffen zur Darstellung bringen lassen müßten.

Ganz besonders interessant sind die Spiralfäserchen, welche im Lumen der Gefäße liegen und durch ihre immer intensive Schwarzfärbung besser in die Augen fallen. Teils liegen sie ganz im Lumen, teils entspringen sie in der Wandung und ragen frei in das Lumen hinein oder ziehen quer durch das Lumen hin, um sich in der gegenüberliegenden Wandung im Geflecht zu verlieren (Fig. 3 u. 4). Die Spiralfäserchen besitzen steile, korkzieherartige Windungen von wechselnder Zahl; im Gewebe, besonders an etwas dickeren Schnittstellen, kann man die Fäserchen mit Hilfe der Mikrometerschraube auf weitere Strecken hin verfolgen. Viele Spiralfäserchen liegen einzeln (Fig. 6), manche sind mit anderen der Länge nach zu einem derberen Strange vereint, so daß man oft nur an den sperrenden Enden (Fig. 5) entscheiden kann, daß derartige Fasern aus mehreren parallel verlaufenden Einzelfibrillen bestehen. Fig. 5 erweckt ganz den Eindruck einer „in Längsteilung begriffenen Spirochäte“. Einige Gefäßschnitte zeigen keine Spiralfasern im Lumen, andere weisen darin recht viele auf (Fig. 2). An besonders defekten Gefäßwandungen sieht man, wie sich diese Fasern loslösen und ins Lumen hineingeraten. Die 6 Photogramme beweisen wohl genügend, daß die besprochenen Spiralgebilde mit den bei Lues gefundenen identisch sind.

Dieser Fall ist sehr lehrreich, weil er die Richtigkeit meiner durch vielfache Kontrollversuche gewonnenen Anschauung bestätigt, denn er zeigt von den sogenannten „Lues-Silberspirochäten“ nicht unterscheidbare Spiralfasern in größter Zahl bei Abwesenheit jeglicher echten Spirochäten! Das Bestreben Hoffmanns, diesen Fall so darzustellen, als ob eine Einwanderung von Darmspirochäten ins Blut stattgefunden habe, erledigt sich von selbst, wenn man bedenkt, daß ja Muttertier und Fötus mittels der Giemsa-Färbung für spirochätenfrei befunden wurden, und daß diese Feststellungen von einem Forscher getroffen wurden, der sich nicht erst seit dem Jahre 1905 mit Spirochätenuntersuchungen beschäftigt, sondern dem auf Grund seiner während der letzten 2 Dezennien erschienenen Spirochätenarbeiten vielseitige Übung und ein sicherer Blick nicht abgesprochen werden können. Im übrigen ist eine Spirillose bei Schweinen noch nicht beschrieben worden.

Bei dem Bemühen, den Karlińskischen Fall als durch Darmspirochäten hervorgerufene Sepsis hinzustellen, übersieht Hoffmann aber ganz, daß er dem Analogieschluß Raum schafft, daß auch die sogenannten „Lues-Silberspirochäten“, und was noch wichtiger ist, auch die mit Giemsa-Lösung im Ausstrich färbbaren wirk-

lichen Spirochäten, die bei septischen Neugeborenen gefunden werden können, aus dem Darm eingewanderte Saprophyten sind, denn nach seinem eigenen Zugeständnis sind ja diese von den Silberspiralen im Schweinefötus nicht zu unterscheiden. Da das Muttertier völlig gesund war, und zu seiner Schlachtung kein anderer Grund, als Fleisch zu gewinnen, vorlag, so scheitern gleich von vornherein alle Versuche, die betrachteten Spiralfasern im Schweinefötus als Folge einer Spirochätenerkrankung hinzustellen. Selbst Hoffmann wird nun aber wohl in seiner Schwärmerei für die Spirochäten kaum so weit gehen, eine spontane Syphilis der Schweine, und noch dazu eine hereditäre, anzunehmen. Auf der anderen Seite ist man doch so vorsichtig, sogar bei Tieren, auf welche Lues mit Sicherheit übertragbar ist, z. B. beim Kaninchen, nur von einer Lokalerkrankung der Cornea (Lues?) zu sprechen, und sträubt sich noch heftig, die von Siegel eruierte Allgemeininfektion anzuerkennen, obwohl es nun auch Neisser gelungen ist, mit inneren Organen einesluetischen Kaninchens positiven Impferfolg zu erhalten.

Der Karlińskische Fall zeigt, daß die sogenannten „Silberspirochäten“ im Gewebe weder mit Lues noch mit einer Spirillosekrankheit etwas zu tun haben brauchen; er lehrt außerdem, daß solche Artefakte besonders leicht im fötalen Gewebe (infolge der größeren Durchlässigkeit des Gewebes) entstehen, und zwar um so eher und reichlicher, je stärker die Mazeration etc. ist. Bei jedem in utero abgestorbenen Schweinefötus werden allerdings diese Spiralen nicht sichtbar sein, ebensowenig wie in jedem menschlichen, im Mutterleib abgestorbenen Fötus. Es müssen ganz bestimmte Bedingungen vorliegen, welche die spiralige Deformierung der feinsten Gewebefäserchen gestatten, und die noch genauer erforscht werden müssen. Soviel steht aber fest, daß die spiralige Deformierung weder durch Syphilis noch durch eine Spirillose verursacht wird, und deshalb muß von der bereits üblich gewordenen Diagnosestellung (Bab<sup>1</sup>), Mühlens u. A.) Abstand genommen werden, welche nur nach der Gegenwart oder dem Fehlen dieser spiraligen Artefakte einen Krankheitsfall als Lues oder andere Erkrankung beurteilt. Gewiß finden sich bei vielen Luesfällen solche sogenannten „Silberspirochäten“, sie sind aber auch bei vielen nichtluetischen Erkrankungen vorhanden. Einige Fälle von Doutrelepout, Babes, Reuter, Bab boten weder klinisch noch anamnestisch den geringsten Anhaltspunkt für das Bestehen einer Lues und doch fanden sich sogenannte „Silberspirochäten“! Andererseits vermißt man bei sekundärer Lues und innerenluetischen Affenorganen die „Silberspirochäten“ immer. Nachdem die in Frage stehenden Spiralgebilde nun aber auch im mazerierten Schweinefötus eines kerngesunden Muttertieres aufgefunden wurden, muß die ganze „Silberspirochäten“-Theorie als haltlos erscheinen, und deshalb ist der Karlińskische Fall allgemeiner Beachtung und dieser ausführlichen Beschreibung wert.

1) Der Babsche Versuch, die Antigenreaktion als Stütze der Spirochätentheorie zu verwerten, ist von mir schon aus formellen Gründen abgewiesen worden (Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 12). Inzwischen haben die Untersuchungen von Kraus (Wien), von Weyl (Prag) und von Landsteiner und Müller (Wien) ergeben, daß die Wassermann-Plaut-Neissersche Reaktion als eine spezifische Reaktion auf Syphilis nicht betrachtet werden kann (cf. Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 17 u. 18.)

## N a c h w o r t.

Soeben ist eine Arbeit von Schmorl (Deutsche med. Wochenschr. 1907. Heft 22) erschienen, die sich mit der Giemsa-Färbung der *Spirochaete pallida* in Gewebsschnitten beschäftigt, aber nicht geeignet ist, Klarheit zu schaffen und die Identität der *Pallida* und der sogenannten „Lues-Silberspirochäte“ darzutun. Die Schmorlsche Methodik unterscheidet sich von der bisher üblichen Giemsa-Färbung eigentlich nur dadurch, daß die Schnitte in der Farblösung flottieren und dann auf dem Objektträger vor der Ueberführung in Balsam trocken werden müssen. Infolge der hierdurch notgedrungen auftretenden Verzerrungen und Schrumpfungen arbeitet Schmorl noch mit einer neuen Fehlerquelle, denn in derartigen Schnitten wird man naturgemäß spiralig geschrumpfte Gewebsfäserchen weniger sicher von Spirochäten unterscheiden können als in tadellos präparierten.

Aber ganz abgesehen von dieser Methodik, die wegen der starken Nachteile in der histologischen Feintechnik mit Recht nicht zur Anwendung kommt, ist es Schmorl trotzdem nicht gelungen, die *Pallida* in äquivalenten Mengen wie die sogenannte „Silberspirochäte“ darzustellen. Es ist ferner zu beachten, daß die Schmorlsche Methode nicht in allen Luesfällen Spirochäten nachweist. Es ist also gar nichts gegen früher gewonnen, vielmehr aufs neue bestätigt, daß auch Syphilis ohne Spirochäten vorkommt.

Charakteristisch ist übrigens, daß der Autor seine Methodik nur an luetischen Neugeborenen erprobt, ja mit sicherem Erfolg nur an 2 Fällen ausgeführt hat. Ich habe an anderer Stelle gezeigt, daß eine Beweisführung an luetischen Neugeborenen gar nicht möglich ist, weil sehr viele infolge der geringen natürlichen Widerstandsfähigkeit einer Bakterien- und Spirochäteninvasion zum Opfer fallen. Ich habe selbst einen sehr lehrreichen Fall beobachtet. Im Blute, das einem hochgradig luetischen Kinde kurz nach der Geburt entnommen war, zeigten sich keine Spirochäten. Das Kind lebte nur ca. 16 Stunden. Nach der Sektion, die 10 Stunden post mortem vorgenommen wurde, enthielten Blut und Organe zahlreiche Spirochäten, die offenbar während des Geburtsaktes auf den Körper gelangt waren und den durch und durch kranken und schon im Absterben befindlichen Körper rapide überschwemmen. Das ist nichts Merkwürdiges, fand doch Birch-Hirschfeld, daß z. B. *Bacterium coli* schon ca. 10 Stunden nach dem Tode eines Menschen in den inneren Organen anzutreffen ist. Ich verweise hier auch auf die interessanten Versuche von Ficker (Arch. f. Hygiene. Bd. LII), welche ergaben, daß nicht pathogenes, der Nahrung beigemischt Bakterienmaterial bei saugenden Hunden, Katzen und Kaninchen schon kurze Zeit nach der Fütterung in den Organen dieser Tierchen nachweisbar waren, während sich erwachsene Tiere resistent verhielten. Nachdem erwiesen ist, daß die *Spirochaete pallida* von gewissen Zahnspirochäten nicht unterschieden werden kann, liegt die Wahrscheinlichkeit sehr nahe, daß die *Pallida* ein hauptsächlich den Intestinaltraktus bewohnender Saprophyt ist. Wenn Schmorl die Behauptung aufstellt, daß die *Pallida* nicht aus dem Darm eingewandert sein könne, so muß er hierfür den unwiderlegbaren Beweis erbringen, nicht aber die Angelegenheit dadurch für erledigt halten, daß er nach bekanntem Muster den Gegenbeweis seiner Gegnerschaft zuschiebt!

Luetische Neugeborene dürfen also ebensowenig Be-

rücksichtigung finden wie Hautaffektionen, weil das Krankheitsbild durch sekundär hinzugekommene Bakterien getrübt ist! Ebenso riskant ist es, auf dieluetischen Föten zu großes Gewicht zu legen. Es ist wohl sicher, daß Bakterien und Spirochäten von den Genitalien aus in den Uterusluetischer Frauen einwandern und dann den kranken Fötus durchwuchern können, finden sich doch in der Literatur Angaben, daß selbst im Uterus gesunder schwangerer Frauen Bakterien auftreten können. Eine Stütze hierfür bilden auch die Angaben von Mühlens, der in den inneren Organen von 8 Föten (4luetischen und 4 nichtluetischen), die noch nicht geatmet hatten (vom 5. Monat an), mehr oder minder zahlreiche Bakterien fand.

Schmorl gibt von seinem einen Falle auch unumwunden zu, daß eine Mischinfektion vorgelegen habe; damit erledigt sich dieser Fall. Aber auch der andere ist nicht beweiskräftig, denn wenn auch der Tod schon kurz nach der Geburt erfolgte, so ist deshalb eine Sekundärinfektion nicht ausgeschlossen. Die Spirochäten besitzen vor den anderen Bakterien den Vorteil, daß sie vermöge ihrer intensiveren aktiven Beweglichkeit sich schneller Eingang verschaffen können. Infolgedessen mögen die agilen Spirochäten in kurzer Zeit — es genügen ja, wie gesagt, wenige Stunden — schon weiter im Körper vorgedrungen sein, während die schwerfälligeren anderen Bakterien erst auf die nächste Umgebung der Körperoberfläche resp. des Darmrohres beschränkt sind. Vorhanden sind die Bakterien schon, nur mögen sie noch nicht so zahlreich nachweisbar sein wie nach einigen Tagen, wenn ihnen genügend Zeit zum Eindringen gegeben worden ist.

Aber alle diese Fehlerquellen lassen sich ja vermeiden. Klarheit wird man mit der bisherigen Beweisführung doch nicht schaffen. Man möge sich doch entschließen, seine Behauptungen ausschließlich an Experimentaltieren zu prüfen. Der Affe ist das gegebene Versuchstier; man kann ihn zu jeder Zeit, in jedem erwünschten Stadium schlachten und so jede Absterbeerscheinungen ausschließen; man kann hier die störenden Bakterieninvasionen vermeiden, wenn man sich auf die Untersuchung der inneren hochinfektiösen Organe beschränkt. Wenn die *Spirochaete pallida* wirklich der Lueserreger ist, so müßte sie auch hier mit Farbstoffen unzweideutig nachgewiesen werden können. Die Uebertragungsversuche von Cornea zu Cornea eines mit Vorliebe auf Hautaffektionen schmarotzenden Saprophyten beweisen natürlich nichts.

Aus den unzähligen bisherigen Versuchen geht hervor, daß bei acquirierter Lues und auch bei Impflues die *Pallida* — in den Fällen, in denen sie überhaupt vorhanden ist — sich wie andere Bakterien nur auf die Hautaffektionen und regionären Drüsen beschränkt, wo sie zurückgehalten wird. Nur bei allgemeiner Bakterieninvasion, wie sie sehr häufig als Begleiterscheinung der hereditär-kongenitalen Lues auftritt, können die Spirochäten wie die anderen Bakterien auch die inneren Organe überschwemmen. Das muß wohl beachtet werden. In den wirkliche Spirochäten beherbergenden inneren Organenluetischer Föten und Neugeborenen sind nach meinen Erfahrungen auch regelmäßig andere Bakterien vorhanden; das wird man allerdings weniger sicher mit der Giemsa-Färbung (Mühlens) entscheiden können, ergibt sich aber sofort, sobald man solche steril entnommenen Organstückchen auf Nährböden über-

trägt, die dann verpilzen. Da also die Spirochäten auf Hautaffektionen, in Lymphdrüsen und inneren Organen immer in Begleitung anderer Bakterien auftreten, so erscheint es unverständlich, mit welchem Recht man den Spirochäten im Gegensatz zu den anderen Saprophyten eine besondere Stellung einräumt. In den hochinfektiösen inneren Organen eines durch keine Mischinfektion tangierten luetischen Körpers hingegen, wie z. B. in den Organen frisch geschlachteter luetischer Affen, konnte bisher die *Spirochaete pallida* nicht wahrgenommen werden! Daher ist man auch nicht berechtigt, die Spirochäte als Lueserreger anzusprechen.

#### Tafelerklärung.

Die Photogramme wurden mit Zeiss Apochrom. 2 mm und Komp.-Okul. 8 resp. 12 bei Bogenlicht mit Zettnow-Filter aufgenommen. Levaditi-Methode.

Fig. 1. Spiralfäserchen in den tieferen Schichten der Haut eines mazerierten Schweinefötus. Vergr. 1040mal.

Fig. 2-5. Einzelne und schnurartig zusammengedrehte Spiralfäserchen in den Gefäßen. Vergr. 1040mal.

Fig. 6. Einzelne Spiralfaser im Gefäßlumen. Vergr. 1560mal.

Nachdruck verboten.

## Die intracelluläre Lagerung der Syphilisspirochäten.

[Aus dem pathologischen Institute der Universität Freiburg i. B. (Direktor: Prof. Aschoff).]

Von Privatdozent. Dr. E. Gierke.

Mit 3 Figuren.

Die anfänglich von manchen Autoren bezweifelte Angabe, daß die *Spirochaete pallida* häufig intracellulär gefunden wird, ist inzwischen von einer großen Zahl von Untersuchern bestätigt worden, so daß an der Tatsache als solcher nicht mehr gezweifelt werden kann. Wohl ist zuzugeben, daß in manchen Fällen und in manchen Organen die Regel durch intercelluläre, den Saftbahnen der Gewebe folgende Lokalisation dargestellt wird, wohl ist zuzugeben, daß häufig eine genaue Lagebestimmung außerordentlich schwer ist, andererseits aber gibt es gelegentlich Bilder, die sofort zweifellose intracelluläre Lagerung beweisen.

Die Tatsache ist in mehrfacher Hinsicht von Interesse. Muß sie doch unsere Auffassung über die Angriffsweise der Spirochäten auf die Körperzellen beeinflussen, sowie andererseits eine kritische Ueberlegung veranlassen, ob die Mikroorganismen durch ihre aktive Beweglichkeit oder durch phagocytäre Eigenschaften der Zelle in letztere hineingeraten sind, und ob vielleicht, wenigstens für manche Fälle, in der Spirochätenaufnahme eine Abwehrvorrichtung erblickt werden darf. Ferner dürfen die Befunde wohl auch eine besondere Beachtung beanspruchen hinsichtlich der immer noch nicht verstummenden Angriffe, die sich sowohl gegen die Syphilisspirochäte überhaupt, als im besonderen gegen ihre Silberdarstellung im Gewebe richten. Läßt man selbst die Spirochätenbefunde in den Epithelien der parenchymatösen Organe nicht gelten, da diese in sehr innigem Konnex mit den feinsten Nervenendverzweigungen stehen, so dürfte doch die Schulze-Salingsche Erklärung der Silber-



Fig. 1 (1040 X)

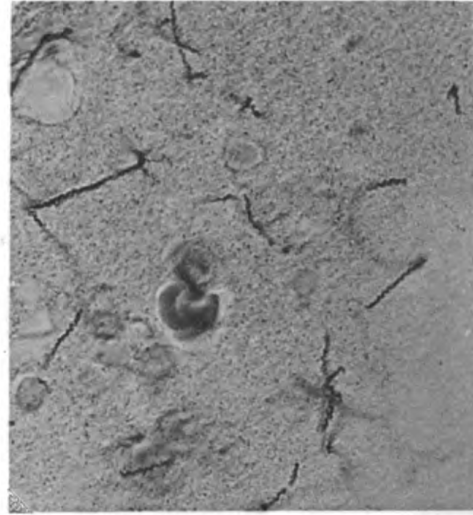


Fig. 2 (1040 X)



Fig. 3 (1040 X)



Fig. 4 (1040 X)



Fig. 5 (1040 X)

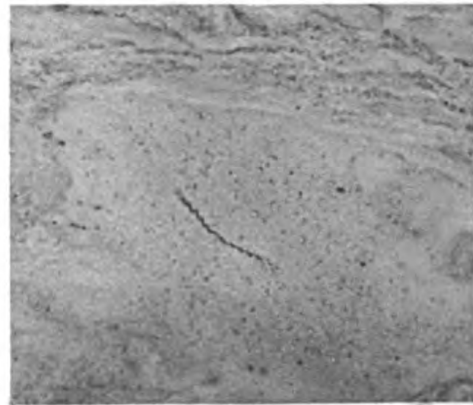


Fig. 6 (1560 X)

Saling phot.

Crayondruck von J. B. Obernetter, München.





spiralen als Nerven- und Gewebfasern völlig zerschellen an den intracellulär in mono- und polynukleären Wanderzellen gelagerten Spirochäten, über die ich im folgenden berichten werde. Oder sollte das unglückliche Kind an einem Zerfall der Nervenfasern in seiner Lunge leiden, und deren Bruchstücke den Leukocyten als willkommene Nahrung dienen?

Die sichere Beurteilung, ob Spirochäten intracellulär liegen, ist in manchen Zellen auch bei dichtgefühten kontinuierlichen Gewebsschnitten möglich, und zwar wenn entweder die Spirochäten Beziehungen zu der Zellstruktur aufweisen, sich z. B. dem Kerne anschmiegen (Versé in Nebennierenzellen), oder wenn die Wirtszelle durch ihre Größe optische Täuschungsbilder durch darauf liegende Spirochäten unmöglich macht. Dies ist sehr häufig bei Leberzellen der Fall, besonders wenn diese in manchen kongenital-syphilitischen Lebern zu wahren Riesengebilden heranwachsen. Ueber derartige spirochätenhaltige Riesenzellen der Leber habe ich früher von einem Heidelberger Falle berichtet. Aber auch bei wenig oder nicht vergrößerten Leberzellen kommt man meist zu einer Entscheidung, so daß über die Leber sehr reichlich positive Angaben vorliegen. Besonders deutlich habe ich mich, wie früher erwähnt, durch Zerzupfen imprägnierter Leberstückchen überzeugen können, da man dann durch Rotieren der Zellen im Flüssigkeitsstrom ein körperliches Bild der Zelle erhält. Für Endothelzellen, Bindegewebszellen, Pankreaszellen, Nierenepithelien u. a. liegen ebenfalls positive Angaben vor, während andere Autoren hierbei die Frage offen lassen. Ich glaube bei Pankreas- und Nierenepithelien mich von intracellulärer Lagerung überzeugt zu haben, wenn auch nicht mit derselben Sicherheit wie in Leberzellen. Im Ovulum fanden Spirochäten Hoffmann, Wolters, Bab.

Noch schwieriger liegen die Verhältnisse beim Cylinderepithel, da sich hier die Spirochäten regelmäßig in der Längsrichtung der Epithelien anordnen und eine Entscheidung, ob sie in oder zwischen den Zellen liegen, kaum gestatten. So ist mir z. B. beim Bronchialepithel ein sicheres Urteil nicht möglich. Eine derartige Stelle der Bronchialwand habe ich in Fig. 1 abbilden lassen, die dem Falle II meiner früheren Publikation entstammt. Von demselben Falle hat Hoffmann in seiner

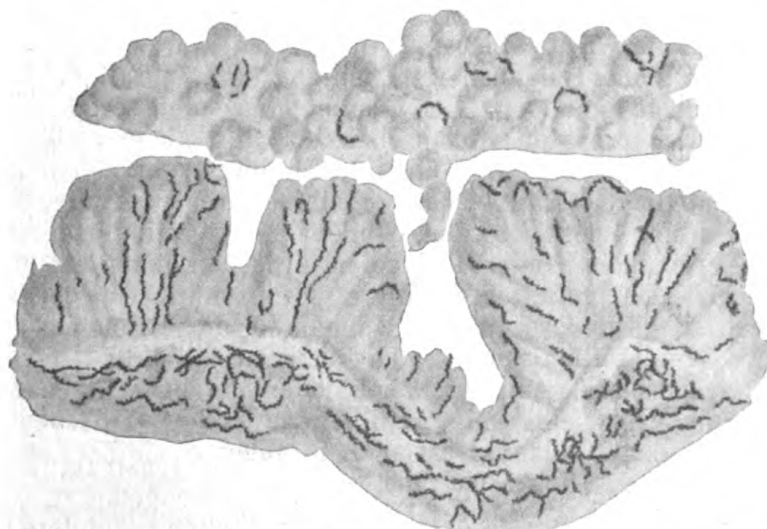


Fig. 1. Durchwanderung von Spirochäten durch die Bronchialwand und das Bronchialepithel. Von Fall II meiner früheren Publikation.

Monographie ein Mikrophotogramm veröffentlicht, desgleichen Beitzke; leider ist in letzterer Publikation die Reproduktion so schlecht ausgefallen, daß sehr wenig zu erkennen ist und die Wiedergabe einer ziemlich naturgetreuen Zeichnung nicht unangebracht sein dürfte.

Wenn es sich um freiliegende Wanderzellen handelt, die oft deutlichen Abstand von ihren Nachbarn erkennen lassen, ist die Beurteilung intracellulärer Lagerung fast stets möglich, besonders wenn, wie die Abbildungen zeigen sollen, eine völlige Anpassung an Zell- und Kernform vorhanden ist.

Diese Präparate wurden von einem Kinde gewonnen, das mit 2120 g geboren wurde und nach 4 Tagen starb. Die Placenta wog 500 g, die Nabelschnur war 50 cm lang. Beide sollen keine Besonderheiten dargeboten haben, lagen mir aber zur Untersuchung nicht vor. An Mutter und Kind waren auf Syphilis verdächtige Erscheinungen nicht aufgefallen. Eine genaue Anamnese hat sich bis jetzt leider nicht erhalten lassen. Die Sektion des Kindes führte zu folgender anatomischen Diagnose: Nekrotisierende Pneumonien im linken Oberlappen. Blutung in die Meningen um die Medulla oblongata. Harnsäureinfarkte des Nierenmarkes. Klappenhämatome an Mitralis und Tricuspidalis.

Aus dem Sektionsprotokoll sei folgendes erwähnt: M., weiblich, geboren 6. März 1907, gestorben 10. März 1907 2 $\frac{1}{2}$  h. a. m.; seziert 11. März 1907 10 h. a. m.: Lebensfähiges, fast reifes Kind ohne Hautveränderungen. Zwerchfellstand beiderseits an der 5. Rippe. Die Lungen schwimmen auch ohne daß Herz, Thymus etc. entfernt sind. Magen lufthaltig. Auf der medialen Seite des linken Oberlappens findet sich ein prominenter gelblich-weißer, zackig begrenzter Herd, der auf dem Durchschnitt von Haselnußgröße ist. Die peripheren Teile sind grau gekörnt und gehen allmählich in das blutreiche Lungengewebe über, während das Zentrum in Erbsengröße durch einen nekrotisch gelbweißen Herd von elastisch fester Konsistenz eingenommen ist. Der Unterlappen ist von grauroten, baumförmig verzweigten Partien mit vermehrter Konsistenz durchsetzt. Die rechte Lunge ist dunkel- und hellrot gefleckt, auf Druck entleert sich etwas getrübbte Flüssigkeit. Alle übrigen Organe, auch die Knochen, zeigen keine für Syphilis charakteristische oder verdächtige Veränderung.

Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß auch histologisch an den übrigen Organen außer der Lunge keine syphilitischen Veränderungen zu finden waren. Spirochäten wurden bei Silberimprägnation völlig vermißt in Leber, Milz, Nieren, Ovarien, Gehirn und Herz, einzelne Exemplare fanden sich im Stratum papillare der Haut, reichliche in Lunge und Nebennieren. Im Gehirn waren sehr schön feine Achsencylinder, zum Teil auch mit welligen und spiraligen Drehungen, zur Darstellung gekommen. Doch können diese dem erfahrenen Mikroskopiker keine Spirochäten vortäuschen, da die oft enorme Länge und der verschiedene und unregelmäßigere Windungstypus leicht die Unterscheidung ermöglicht. Hauptsächlich interessieren uns die Befunde in den Lungen. Man sieht an den Stellen mit vermindertem Luftgehalt teils gefüllte, teils komprimierte Alveolen, zwischen denen ein großzelliges mit zahlreichen stark gefüllten Kapillaren durchsetztes Gewebe vorhanden ist. Dieses ist besonders in der Umgebung der Bronchien dicht und buchtet ihre Wand oftmals ein. Manchmal ist die Wand davon durchsetzt und das Epithel emporgehoben oder defekt. Es handelt sich größtenteils um große einkernige, epitheloide Zellen, zwischen denen in verschiedener Menge polynukleäre Zellen gelegen sind. Letztere sind in der Umgebung des Nekroseherdes, wo von Lungenstruktur nur wenig zu sehen ist, mehrfach zu dichten Haufen zusammengelagert. Nach dem Zentrum des Herdes tritt die Nekrose allmählich ohne besondere Reaktionszone ein, indem die Kerne teils der Karyolyse, teils der Pyknose ver-

fallen. In weiterer Umgebung des Herdes sind die Alveolen mit großen, wohl desquamierten Zellen und roten Blutkörperchen gefüllt. Auch in der Adventitia der dickwandigen Gefäße findet sich hier und da Blutung. Fibrilläre Bindegewebssubstanz zeigt sich nach van Gieson nur stellenweise vermehrt. Mit Elasticafärbung treten die Gefäße und Bronchien deutlich hervor, während die Alveolarstruktur nur bei starker Vergrößerung durch feine elastische Züge erkennbar ist, nach dem Nekroseherd zu immer undeutlicher wird, um schließlich ganz zu verschwinden. In den Bronchien, auch der übrigen Lappen herrscht Bronchitis, kenntlich an polynukleären Leukocyten, die die Bronchialwand durchsetzen, stellenweise das Epithel abheben und in wechselnden Mengen frei im Lumen liegen. Unter diesen freiliegenden Zellen sind nur sehr spärlich rund- oder ovalkörnige Elemente, sondern fast nur polymorphkernige.



Fig. 2. Abhebung des Bronchialepithels; extracelluläre Spirochätenklumpen. Von dem hier beschriebenen Falle.

Die Untersuchung auf Spirochäten mit der Levaditischen Methode ergibt in allen verhärteten Partien Spirochäten, die manchmal in dichten Haufen im Bindegewebe liegen. Auch die Gefäßwände sind manchmal von ihnen durchsetzt. Am interessantesten sind aber die Befunde an den Bronchien, indem sich (Fig. 2) oft ganze Spirochätenballen zwischen Bronchialwand und Epithel drängen. Das Epithel wird von einzelnen Exemplaren durchsetzt und der Bronchialinhalt beherbergt ebenfalls reichlich Spirochäten. Diese liegen hin und wieder frei zwischen, manchmal an den Zellen, vielfach aber sind sie außerordentlich deutlich im Zelleib gelegen. Genaueres Studium zeigt, daß es manchmal mononukleäre Zellen, überwiegend aber polymorphkernige Leukocyten sind, die Mikroorganismen beherbergen. Man findet Zellen mit einer Spirochäte, die meist bogenförmig die Kernteile umlagert, oder an der Zellgrenze winkelig abgeknickt ist, sowie Zellen mit 2 und mehreren Spirochäten, die sich in verschiedenster Weise überkreuzen, aber nicht über den Protoplasmarand

hinausragen. Es können eine Anzahl von Spirochäten in einem Zellteil zu einem verfilzten Konglomerat zusammengeballt sein, das bei lockerem Gefüge die einzelnen Exemplare noch zu verfolgen gestattet, schließlich aber zu einem unauflösliehen schwarzen Gewirr werden kann, dessen Rand durch die wellige Begrenzung und hervorstehenden Spirochätenenden die Genese des Knäuels verrät (Fig. 3). Solche Zellen werden so intensiv schwarz, daß die Stellen, an denen sie gehäuft vorkommen, wie es in meinen Präparaten besonders an einem Bronchus der Fall ist, bei schwachen Vergrößerungen aufzufinden sind.

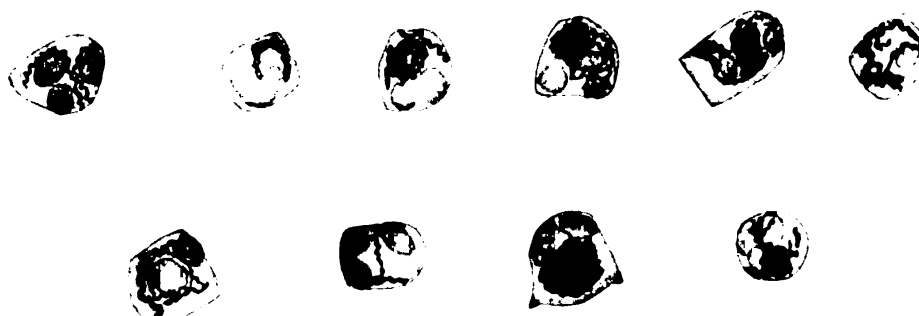


Fig. 3. Spirochäten in polynukleären Leukocyten. Derselbe Fall.  
Alle Figuren gezeichnet mit Zeiss,  $\frac{1}{12}$  hom. Imm. Okular III.

Solche Bilder können natürlich nur bei intracellulärer Lagerung entstehen, und interessanterweise sind es in unserem Falle die polynukleären Leukocyten, von den ich ein derartiges Verhalten bisher nicht beschrieben gefunden habe.

Levaditi beschreibt ebenfalls aus der syphilitischen Pneumonie eines Totgeborenen, daß die Mehrzahl der in den Alveolen liegenden Zellen Spirochäten aufgenommen sind; doch handelt es sich bei ihm um große mononukleäre Zellen, die einen zerstörenden Einfluß auf die gefressenen Mikroorganismen ausüben sollen. So deutet Levaditi Bilder, wonach die Spirochäten in den Zellen vielfach varikös geformt, fragmentiert oder in Körnchenreihen aufgelöst erscheinen. Die polynukleären Leukocyten sind nach Beschreibung und Abbildung frei. Meine Beobachtung weicht außer der Natur der aufnehmenden Zellen noch durch das Fehlen solcher Auflösungsbilder ab. Die Spirochäten sind gut erhalten, nur bei größerer Zahl verfilzt und verklumpt. Verfilzte Spirochätenhaufen findet man manchmal auch extracellulär (Fig. 2). Aber so dicht geflochtene Klumpen, wie in den Leukocyten, habe ich sonst nicht gesehen. Benda erwähnt in miliaren Gummata der Leber dichte Haufen, die durch Verfilzung und Absterben von Spirochäten entstehen und von einem Leukocytenwall umgeben sind.

Wie das Phänomen der intracellulären Lagerung zu deuten ist, ob die beweglichen Spirochäten aktiv in den Zelleib eindringen, ob die Zelle sich mittels phagocytärer Eigenschaften ihrer bemächtigt, ist schwer sicher zu entscheiden. Levaditi spricht von Phagocytose durch Makrophagen. Auch bei den Mikrophagen, den polynukleären Leukocyten wird man gern an Phagocytose denken, während bei den Parenchymzellen und Epithelien der Gedanke an ein aktives Eindringen näher liegt. Aber soeben erst hat Rössle gezeigt, in wie hohem Maße besonders Leberzellen, aber auch Pankreas- und Nierenepithelien befähigt sind, rote Blut-

körperchen in ihren Zelleib aufzunehmen und zu verdauen. Derselbe Vorgang ist für Spirochäten natürlich auch denkbar. Ich möchte daher, wie Versé, eine Entscheidung zwischen beiden Möglichkeiten nicht fällen; vielleicht kommen beide vor.

Jedenfalls ist es eine gesicherte Tatsache, daß Spirochäten neben sehr häufiger extracellulärer Lagerung, auch intracellulär in den verschiedensten Zellarten, und wie hiermit bewiesen ist, auch in den polymorphkernigen Leukocyten vorhanden sein können. Ob zu dieser Aufnahme etwa eine Vorbereitung der Mikroorganismen durch bestimmte Stoffe nötig ist, entzieht sich vorläufig der Beurteilung. Nach Löwenstein soll bei Tuberkelbacillen intracelluläre Lagerung besonders bei ausheilenden Fällen vorhanden sein. Von diesem Gesichtspunkte aus ist es vielleicht bemerkenswert, daß die übrigen Organe des Kindes offenbar mit den Spirochäten fertig geworden sind, und es nur in der Lunge zu einer lokalen Manifestation des Virus gekommen ist; es ist denkbar, daß auch hier in dem beschriebenen Phänomen eine Tendenz zur Heilung erblickt werden könnte.

#### Literatur.

- Bab, Diskussionsbemerkung in der Berliner Medizinischen Gesellschaft zu Bendas Vortrag.  
 Beitzke, Zur Kritik der Silberspirochäte. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLIII. 1907. Heft 4.)  
 Benda, Zur Kritik der Levaditischen Silberfärbung von Mikroorganismen. (Berl. med. Gesellsch. 1907. 30. Jan.)  
 Gierke, Ueber das Verhältnis zwischen Spirochäten und den Organen kongenital syphilitischer Kinder. (Münch. med. Wochenschr. 1906.)  
 Hoffmann, Die Aetiologie der Syphilis. Berlin 1906.  
 Levaditi, L'Histologie pathologique de la syphilis héréditaire. (Ann. de l'Institut Pasteur. T. XX. 1906.)  
 Löwenstein, Ueber das Verhalten der Eiterzellen gegenüber den Tuberkelbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. LV. 1906.)  
 Rössle, Ueber Phagocytose von Blutkörperchen durch Parenchymzellen. (Zieglers Beiträge. Bd. XLI. 1907.)  
 Versé, Die Spirochaete pallida in ihren Beziehungen zu den syphilitischen Gewebsveränderungen. (Med. Klinik. 1906.)  
 Wolters, angeführt von Hoffmann l. c.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Mechanismus der Zerlegung des Wutvirus in vitro durch das Radium.

### 7. vorläufige Mitteilung.

Von Prof. **Guido Tizzoni** und Dr. **Alessandro Bongiovanni**.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Rehns zeigte als erster, daß das Radium eine zerlegende Wirkung in vitro auf das Wutvirus ausübt. In der Tat gibt Rehns in einer kurzen Mitteilung<sup>1)</sup> an, daß das Radium im Reagenzglase das Virus fixe zerlegt, und daß diese Zerlegung im wesentlichen auf die Emanationen

1) Rehns, Sur quelques effets du radium. (Compt. rend. de la soc. de biol. Séance du 18 mars 1905. p. 491.)

zurückzuführen ist, während die Strahlungen keinen Anteil daran nehmen. Dieser Rehnssche Artikel geht unserer ersten vorläufigen Mitteilung über denselben Gegenstand<sup>1)</sup> um wenige Tage voraus; in ihm wird über einige Versuche berichtet, die vom Verf. in Gemeinschaft mit Viala, dem Präparator des Pasteurschen Institutes, angestellt worden sind.

Zu diesem Zwecke zeigte er, daß 1 ccm einer Emulsion aus filtriertem Virus fixe, die man in eine kleine luftleer gemachte Glasflasche gebracht hat, nach 24 Stunden jede pathogene Wirkung verliert, wenn man sie in Verbindung mit einer anderen Glasflasche gesetzt hat, welche 30 mg Radiumbromid, in 5 ccm destilliertem Wasser gelöst, enthält; die Kontrolltiere dagegen, die mit demselben unter gleichen Temperaturbedingungen gehaltenen Virus behandelt worden sind, sterben in der normalen Zeit.

Bringt man dagegen einige Tropfen einer Emulsion aus Virus fixe in ein dünnes Glasröhrchen und hält sie 72 Stunden lang über die gewöhnliche 10—20 mg Radiumbromid enthaltende Schachtel, aber in einer Entfernung von 1—2 cm von der strahlenden Oberfläche, so behält sie ihre ganze Virulenz unverändert bei.

Also würden im ersten Falle die Emanationen, die aus einer Radiumlösung frei geworden und durch das Vakuum angesogen worden sind, die völlige Zerlegung des Virus bedingt haben, während im zweiten Falle dieselbe Emulsion, welche man unter dem Einflusse der Strahlungen und außerhalb des Wirkungskreises der Emanationen gehalten hatte, unverändert bleibt (von den Emanationen nahm man irrtümlicherweise an, daß sie sich nur wenig über die strahlende Oberfläche erheben).

Hierdurch glaubte sich Rehnss zu der Schlußfolgerung berechtigt, daß die Zerlegung des Wutvirus in vitro ganz und gar auf die Rechnung der Emanationen zu setzen ist.

Bei anderer Gelegenheit ist schon gesagt worden, wie beachtenswert diese Schlußfolgerungen sind, und zwar namentlich für denjenigen, der die Versuche zur Feststellung des Einflusses der Strahlungen auf das Wutvirus betrachtet<sup>2)</sup>.

Wir haben unsererseits die Bedeutung, welche die Emanationen bei der Zerlegung des Wutvirus in vitro haben, in vollem Umfange bestätigen können; wir haben indessen nur beim Tiere direkt beweisen können, daß die kurative Wirkung des Radiums bei der Wut nur auf die Strahlungen zurückzuführen ist, wie die Heilungen beim Kaninchen mit Radiumpräparaten beweisen, die in ein zugeschmolzenes Glasrohr eingeschlossen und bei denen die Emanationen ausgeschaltet waren; bei den Versuchen in vitro dagegen beschränkten wir uns darauf, den oben erwähnten Vorgang indirekt zu beweisen, dadurch, daß wir das Fehlen dieser Zerlegung des Wutvirus in allen den Fällen nachwiesen, in denen die Emanationen absolut ausgeschaltet worden waren.

Der Beweis wurde von uns auf 2 Weisen geführt; wir verhinderten das Heraustreten der Emanationen aus dem Apparate dadurch, daß wir ihn in eine Bleischachtel einschlossen und mit Mastix in der Wärme ein dünnes Deckglas auf ein in dieser Schachtel über der strahlenden Ober-

1) Tizzoni e Bongiovanni, L'azione dei raggi del radio sul virus rabido in vitro e nell'animale. [1. Comunicazione preventiva.] (Letta alla R. Accad. delle scienze di Bologna nella seduta del 9. Aprile 1905. Rendiconti. Anno 1904—1905. Riforma medica. Anno XXI. No. 18.)

2) Tizzoni e Bongiovanni, Sopra alcune condizioni necessarie per aversi la scomposizione in vitro del virus rabido col mezzo del radio. [6. Comunicazione preventiva.] (Rendiconti della R. Accad. dei Lincei. Vol. XV. Ser. 5. sem. Fasc. 5.)

fläche befindliches Loch kitteten, so daß die Strahlungen auf diese Weise freien Durchtritt hatten; oder wir verhinderten, daß die Emanationen mit der Virusemulsion in Kontakt kamen, dadurch, daß wir die Oeffnung des Aluminiumröhrchens durch einen ebenfalls mit Mastix aufgekitteten Glasstöpsel hermetisch verschlossen.

In beiden Fällen bewahrte das Virus seine ganze Wirksamkeit, auch wenn es dem Radium 24 anstatt 6 Stunden, d. h. eine 4mal längere Zeit ausgesetzt worden war, als zur Zerlegung des Virus nötig ist; hierdurch wurde bewiesen, daß durch die vollkommene Ausschaltung der Emanationen die Zerlegung des Wutvirus in vitro durch das Radium verhindert wird.

Nach Beendigung der Untersuchungen am Tiere mußte man nun das Studium dieser Frage wieder aufnehmen, um zu sehen, ob überhaupt und welche Wirkungen die Emanationen allein auf das Wutvirus hätten, und ob zu seiner Zerlegung außer den Emanationen auch die Beteiligung der Strahlungen erforderlich wäre.

Ferner ist es sicherlich von größtem Interesse, die Bedingungen genau zu bestimmen, unter denen die Zerlegung des Wutvirus in vitro durch das Radium stattfindet; und zwar handelt es sich hier nicht um die Lösung eines wissenschaftlichen Problems, sondern auch um praktische Anwendungen und Vorteile, die sich daraus für die Herstellung eines antirabischen Vaccins ergeben könnten, welches in wirksamer Weise und mit einigen Vorteilen das heute allgemein gebräuchliche ersetzen könnte.

Zu diesem Zwecke haben wir zunächst die Versuche Rehn's genau wiederholt, indem wir die Emanationen, die aus einer Radiumlösung (1 cgm Radiumbromid mit 10 000 radioaktiven Einheiten pro Centigramm in 5 ccm destillierten Wassers) frei werden, in ein luftleeres Röhrchen mit 1 ccm filtrierter Wutmaterialemlusion leiteten und sie 24 Stunden lang in kalter Umgebung mit der erwähnten Emulsion in Berührung ließen. So oft wir auch die Versuche wiederholten, die Resultate waren immer negativ, denn die Kaninchen, denen man das so behandelte Virus subdural beigebracht hatte, starben in derselben Zeit an Wut wie die Kontrolltiere.

Hiermit wollen wir übrigens nicht im geringsten die in dieser Hinsicht von Rehn's erhaltenen Resultate anfechten, weil ein negatives Ergebnis nicht ausreichend ist, um ein positives zu entkräften, und weil wir bei unseren Versuchen — wir müssen es zugeben — in Ermangelung von besserer eine Emanationsquelle verwenden mußten, die viel schwächer als die von Rehn's benutzte war.

Wir können nur bestätigen, daß in unseren Händen der Versuch nicht geglückt ist; dies kann nur durch 2 Ursachen bedingt sein: Entweder haben wir unsere Untersuchungen nicht unter genau denselben Bedingungen wie Rehn's angestellt oder irgend ein Versehen hat ihr Resultat beeinträchtigt.

Nach den Mißerfolgen bei den ersten Versuchen hielten wir es für unsere Pflicht, diese Frage in ihrem ganzen Umfange zu untersuchen; wir experimentierten zu diesem Zwecke mit den Emanationen und den Strahlungen einzeln oder mit beiden zusammen, nachdem wir sie künstlich getrennt hatten, und zwar verwandten wir sowohl das Radium in Lösungen, die bekanntlich eine größere Menge von Emanationen ausenden, als auch das Radium in fester Form in der gewöhnlichen englischen Schachtel, mit welchem der größte Teil unserer früheren Untersuchungen angestellt worden war.

Bei diesen Untersuchungen haben wir immer das fixe Virus verwandt, das am Ende des 4. oder im Verlaufe des 5. Tages Fieber hervorrief und den Tod konstant in  $6\frac{1}{2}$  oder 7 Tagen herbeiführte.

#### A. Experimente mit Radiumsalzen in Lösung.

Bei diesen Versuchen gebrauchten wir dasselbe Radiumpräparat, das wir schon bei früheren Experimenten angewandt hatten. Die betreffende Lösung war, wie gesagt, mit 5 ccm destillierten Wassers bereitet und in einem Apparate enthalten, der dem Emanationen erzeugenden von der Firma Armet de Lisle fabrizierten Apparate ähnlich war. Durch den Hinweis auf die betreffende Figur und Beschreibung im letzten Katalog dieser Firma können wir uns seine Schilderung an dieser Stelle ersparen.

Aus diesem Apparate wurden die Emanationen mittels einer Glasröhre bis fast zur Oberfläche der Virusoberfläche geleitet, die sich in einer Menge von ungefähr  $\frac{1}{2}$  ccm am Boden des Röhrchens befand.

In einer zweiten Reihe von Versuchen in der oben geschilderten Anordnung fügte man noch ein zweites in ein Glasröhrchen eingeschlossenes Radiumpräparat<sup>1)</sup> hinzu, welches direkt in die den Emanationen ausgesetzte Emulsion versenkt wurde.

Endlich gebrauchte man bei anderen Versuchen nur das besagte in ein zugeschmolzenes Glasröhrchen eingeschlossene Präparat, das man in die Virusemulsion wie bei früheren Experimenten versenkte.

In dieser Weise experimentierte man im ersten Falle nur mit den Emanationen, im zweiten Falle mit den Emanationen und Strahlungen zusammen und im letzten ausschließlich mit den Strahlungen.

Die Resultate dieser Untersuchungen waren folgende: Impfte man Tiere mit dem Virus, auf welches nur die Emanationen (2) 24 Stunden lang eingewirkt hatten, so starben alle an Wut gleichzeitig mit den Kontrolltieren, dagegen blieben diejenigen am Leben (3), welche man mit Virus behandelt hatte, das zu gleicher Zeit und ebenso lange wie das vorige den Emanationen und Strahlungen ausgesetzt worden war; im letzten Falle starben diejenigen Tiere, welchen man eine Emulsion injiziert hatte, die dieselbe Zeit lang nur den Strahlungen ausgesetzt worden war, ebenso an Wut wie die Kontrolltiere.

Hieraus geht hervor, daß die Emanationen und Strahlungen getrennt bei unserer Versuchsanordnung keine Wirkung in vitro auf das Wutvirus haben, und daß man, um eine Zerlegung des Virus herbeizuführen, gleichzeitig beide zusammen einwirken lassen muß.

Dies wird seine volle Bestätigung in den Resultaten finden, die sich bei der anderen Versuchsreihe ergeben haben.

#### B. Experimente mit Radiumsalzen in trockenem Zustande.

Bei diesen Experimenten haben wir uns zweier Radiumpräparate bedient, von denen wir wußten, daß sie unter den in unseren früheren Arbeiten angegebenen Bedingungen das Virus fixe nach einer Exposition von 6 Stunden vollkommen zerlegen.

Von diesen beiden Präparaten diente das eine, das in der gewöhn-

1) Dieses Präparat, welches dem chemischen Institute zu Bologna gehört, wurde uns von Herrn Prof. G. Ciamician zur Verfügung gestellt, dem wir an dieser Stelle nochmals unseren besten Dank aussprechen möchten. Es bestand aus 5 mg Radiumbromid von der Firma D. Richard Stheiner in Hamburg; der radioaktive Wert war nicht angegeben.



lichen Schachtel (englisches Modell) enthalten war, und aus 1 cgr Radiumbromid von 500 000 R.E. pro Centigramm bestand, als Quelle für die Emanationen; das andere, welches aus 2 cg Radiumbromid zu 100 000 R.E. pro Centigramm bestand, bildete die Quelle für die Strahlungen. Um in sorgfältiger Weise das Heraustreten der Emanationen aus dem Apparate zu verhindern und um gleichzeitig die Bedingungen des Durchtrittes der Strahlungen in keiner Weise zu verändern, wurde die gewöhnliche englische Schachtel, die das in Rede stehende Präparat enthielt, in eine Bleischachtel mit einer der strahlenden Oberfläche entsprechenden Oeffnung eingeschlossen, auf welcher mit Mastix in der Wärme derselbe aus dem Innern des Apparates entnommene Glimmerschirm befestigt wurde.

Um ferner nur die Emanationen des Präparates No. 1 zur Verwendung kommen zu lassen, benutzte man den Umstand, daß diese sich mittels eines Glasrohres leiten lassen und daß die Strahlungen von einem Bleischirme vollkommen aufgehalten werden. Die Versuchsanordnung wurde denn auch entsprechend diesen Verhältnissen getroffen.

Der Apparat bestand also aus einer kleinen Glaskammer, welche die Schachtel mit dem Präparate No. 1 enthielt; die heraustretenden Emanationen wurden mittels einer 2mal rechtwinkelig gebogenen Glasröhre in eine ebenfalls gläserne Flasche geleitet, in welche das Aluminiumröhrchen mit der zu untersuchenden kleinen Menge Wutvirusemulsion hereingebracht werden sollte; die genannte Flasche und der ganze obere Teil des Apparates waren gegen die Strahlungen geschützt, die aus demselben Präparate infolge eines dicken Bleischirmes nach allen Seiten ausstrahlten.

Wollte man ferner die vereinigte Wirkung der Emanationen und der Strahlungen untersuchen, dann brachte man das Aluminiumröhrchen mit dem Virus im Innern der erwähnten gläsernen Flasche oberhalb des zweiten Präparates an, bei dem man, wie gesagt, den Austritt der Emanationen vollkommen verhindert hatte.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen war sehr klar; in derselben Zeit wie die Kontrolltiere starben alle Tiere, die mit dem nur den Emanationen oder nur den Strahlungen (4) ausgesetzten Virus behandelt worden waren, auch wenn die Expositionsdauer 16—24 Stunden betrug; dagegen blieben alle 3 Kaninchen am Leben, welchen man subdural die Wutvirusemulsion injiziert hatte, die 16 Stunden lang gleichzeitig den Emanationen und den Strahlungen ausgesetzt worden war.

Was die Zeit anbelangt, die zur vollkommenen Zerlegung des Wutvirus in dieser Weise erforderlich ist, so haben wir nicht den kürzesten Termin festzustellen versucht, da uns die Konstatierung der Tatsache als solcher am meisten interessierte. Wir können nur bestätigen, daß bei gleichzeitiger Einwirkung der aus getrennten Quellen stammenden Emanationen und Strahlungen, wie es bei dem vorher beschriebenen Apparate der Fall war, die zur völligen Zerlegung des Virus erforderliche Zeit ein wenig länger ist, als wenn man bei jedem der beiden Präparate direkt und in der angegebenen Weise die Emanationen und die Strahlungen benutzt, welche sie regelmäßig produzieren.

In der Tat genügen in diesem letzten Falle 6 Stunden, um jede pathogene Wirkung des subdural den Kaninchen inokulierten Wutvirus vollkommen zu vernichten; läßt man dagegen auf dasselbe Virus die Emanationen und die Strahlungen einwirken, welche aus zwei verschiedenen Präparaten stammen, so ist eine gleich lange Exposition nicht

mehr ausreichend, um dieselben Wirkungen zu erzielen, und die durch subdurale Injektion beim Kaninchen geprüfte Wutemulsion führt den Tod des Tieres ebenso wie bei den Kontrolltieren herbei.

Und daß die Sache so sein muß, ist leicht zu verstehen; denn bei der Versuchsanordnung, die wir zur Prüfung der kombinierten Wirkung der Emanationen und der Strahlungen auf das Wutvirus wählen mußten, müssen die ersten einen viel längeren Weg zurücklegen, um zur Emulsion des Zentralnervensystems zu gelangen, da ferner auch die Zeit, die erforderlich ist, damit die Emanationen den ganzen Apparat anfüllen können, länger ist, so muß sich infolge aller dieser Ursachen eine Verzögerung in ihrer Wirkung äußern.

Aus diesen Resultaten können wir schließen, daß unter den Bedingungen, die wir zur Zerlegung des Wutvirus mit Radiumsalzen in Lösung und in festem Zustande gewählt haben, die Gegenwart der Emanationen absolut erforderlich ist, wie schon aus unseren früheren Untersuchungen hervorgeht.

Ferner erkennen wir, daß zur Erzielung dieser Wirkung die Emanationen allein nicht ausreichend sind, sondern daß die Mitwirkung der Strahlungen erforderlich ist.

Mit anderen Worten, die Zerlegung des Wutvirus *in vitro* ist durch die gleichzeitige Wirkung der Emanationen und der Strahlungen bedingt, während im Tierkörper, wie gesagt, die Strahlungen allein genügen, um die Wirkungen desselben Virus zu verhindern und die Krankheit zu heilen.

Vor allen Dingen muß man immer die schon in einer anderen Arbeit gegebenen Vorschriften zu erfüllen suchen, d. h. *in vitro* nur eine kleine Menge der Wutemulsion (einige Zehntel eines Kubikcentimeters) der Radiumwirkung aussetzen und der exponierten Masse eine möglichst große Oberfläche geben. Ist die Quantität des exponierten Virus sehr viel größer (5–10 ccm), so entzieht sich ein großer Teil der Emulsion der Wirkung der Emanationen und bei subduraler Injektion dieser Emulsion sterben die Tiere in derselben Zeit wie die Kontrolltiere.

Kann man nun also den wissenschaftlichen Teil der Frage, der die Ursachen der durch Radium bedingten Zerlegung des Wutvirus *in vitro* betrifft, als gelöst betrachten, so läßt sich dies nicht von dem praktischen Teil der Frage behaupten, der auf die Gewinnung großer Mengen zerlegten Virus zu Vaccinationszwecken gerichtet ist, und mit dem wir uns jetzt gerade beschäftigen.

Der Unterschied zwischen der Wirkung *in vitro* und im Tierkörper ist leicht zu verstehen, wenn man sich an die hierüber in einer anderen Arbeit<sup>1)</sup> gemachten Bemerkungen erinnert, d. h. die Wirkung entfaltet sich nur in manchen Perioden der Krankheit kräftig, welche den ersten Entwicklungsphasen des Parasiten entsprechen, in denen wahrscheinlich von den Radiumstrahlen leicht angreifbare und zerstörbare Formen vorkommen, während sie konstant in den späteren Krankheitsperioden ausbleibt, in welchen sich widerstandsfähigere Formen finden, die wenig oder gar nicht von demselben physikalischen Agens beeinflusst werden. Daher kommt es also, daß man im Tierkörper bei der Wut erfolgreich wirken kann, wenn man die Krankheit in demjenigen Stadium trifft,

1) Tizzoni e Bongiovanni, Dell'azione curativa dei raggi del radio sulla rabbia da virus di cane. (Rendiconti della R. Accad. della scienze di Bologna. Anno 1905–1906. Sed. 26. Nov. 1905.)

in welchem nur Initialformen des Keimes vorhanden sind, die leicht von den Strahlungen zerstört werden; wie diese Strahlungen nun nicht mehr ausreichen, um in der letzten Periode der Krankheit eine heilsame Wirkung zu entfalten, so können sie auch nicht allein auf das aus dem Kadaver entnommene Virus einwirken, das auch die resistenteren Formen des Keimes enthält, zu deren Zerstörung außer den Strahlungen auch die direkte Mitwirkung der Emanationen erforderlich ist.

So stehen die von uns *in vitro* und im Tierkörper beobachteten Tatsachen nicht in offenem Widerspruche zueinander, wie es vielleicht auf den ersten Blick erscheinen könnte, sondern ergänzen und vervollständigen sich gegenseitig vielmehr.

Wollen wir den erwähnten Tatsachen auf den Grund gehen, so fragen wir uns zunächst, welchen Anteil die Strahlungen an der Zerlegung des Wutvirus *in vitro* nehmen, d. h. dienen sie indirekt dazu, das Metall für die Emanationen in gewisser Weise leitungsfähiger zu machen, so daß diese in Kontakt mit dem Virus kommen können, oder wirken sie direkt auf die Wutemulsion ein, sei es nun dadurch, daß sie im Verein mit den Emanationen seine Zerstörung bewirken, oder daß sie nur eine Art von Sensibilisierungsmittel bilden, so daß das Virus dadurch gegen die Wirkungen der Emanationen empfindlicher wird?

Die Tatsache, daß den Emanationen, welche allein mechanisch durch den das zu untersuchende Virus enthaltenden luftleeren Raum in das Röhrchen hineingesogen sind, in keiner Weise selbst bei langem Kontakt dessen Zerlegung gelingt, während dieselbe nur dann in vollkommener Weise stattfindet, wenn sich mit denselben Emanationen auch die Strahlungen vereinigen, welche aus einem Präparate in einem zugeschmolzenen und direkt in das Virus versenkten Glasröhrchen stammen, diese Tatsache scheint uns die erste Annahme auszuschließen, die wir in Ermangelung genauerer Kenntnisse in unseren früheren Arbeiten aufgestellt haben.

Um schließlich noch mehr Licht in diese Frage zu bringen, wollten wir noch sehen, ob die Natur des Metalles, aus welchem das die Emulsion enthaltende Röhrchen besteht, irgend einen Einfluß auf die Zerlegung des Wutvirus *in vitro* hätte. Hierdurch ließ sich möglicherweise feststellen, ob der in Rede stehende Einfluß von den bekannten Gesetzen der elektrischen Leitung oder auch von dem Grade der Durchlässigkeit der einzelnen Metalle für die vom Radium ausgesandten Strahlungen abhängt.

In dieser Hinsicht konnten wir nur beobachten, daß außer dem Aluminium alle anderen von uns geprüften Metalle (Kupfer, Zink, Blei) dasselbe Verhalten wie das Glas zeigen, d. h. sie begünstigen absolut nicht das Zustandekommen der Zerlegung des Wutvirus durch das Radium in dem Röhrchen.

Während so bei dem Aluminiumröhrchen unter den von uns angegebenen Bedingungen als Minimum eine 6-stündige Expositionsdauer zur völligen Zerlegung des fixen Wutvirus genügt, behält dieses Virus dagegen seine ganze Wirksamkeit unverändert bei und sterben die mit ihm subdural inokulierten Tiere ebenso rasch an Wut oder etwas später wie die Kontrolltiere, wenn man das Aluminiumröhrchen durch ein Röhrchen aus Kupfer, Zink oder Blei oder auch einfach durch ein Glasröhrchen ersetzt.

Dies findet auch in dem Falle statt, in welchem man den gewöhnlichen Satz von 6 Stunden auf ein Maximum von 24 Stunden verlängert,

d. h. wenn man das Virus dem Radium eine 4mal längere Zeit aussetzt, als zur Erzielung positiver Resultate mit Aluminiumröhrchen erforderlich ist. Nur bei Kupferröhrchen konnte man einige Verzögerung nach einer hinreichend langen Expositionszeit bemerken, eine Verzögerung, welche bei dem dem Radium 16—24 Stunden lang ausgesetzten Virus  $1\frac{1}{2}$  bis 4 Tage betrug. Wir können also hinsichtlich des die Emulsion enthaltenden Röhrchens behaupten, daß die Natur des Metalles, aus dem das Röhrchen besteht, eine sehr wichtige Rolle bei der Zerlegung des Wutvirus in vitro spielt, und daß wir ferner von allen untersuchten Metallen, Aluminium, Kupfer, Zink und Blei, nur von dem ersten wissen, daß es die größte Durchlässigkeit für die Radiumstrahlen besitzt. Es erwies sich zur Erzeugung des in Rede stehenden Phänomens als geeignet. Außerdem können wir behaupten, daß es in den Serienversuchen nicht möglich war, eine direkte Beziehung zwischen der Zerlegung des Wutvirus und dem Grade der elektrischen Leitfähigkeit der einzelnen Metalle oder ihrer Durchlässigkeit für die Radiumstrahlen festzustellen.

*Nachdruck verboten.*

## L'Aggressine et la dialyse.

[Travail de l'Institut d'Hygiène et de Bactériologie de l'Université de Gand.]

Par le Dr. H. De Waele, Gand.

Avec 4 diagrams.

La conception d'une action agressive a été créée par Bail et ses collaborateurs. Ils y voyaient une substance nouvelle, née du concours du microbe et de l'organisme et dont on démontre la présence dans les exsudats infectieux après les avoir débarassés des corps microbiens. La substance est spécifique, thermostabile et peu ou pas toxique par elle-même, mais elle a la propriété de rendre mortelle une dose non mortelle de culture à laquelle elle est ajoutée au moment de l'infection; ce pouvoir est attribué à une action chimiotactique négative sur les phagocytes.

Wassermann et Citron objectèrent que les produits d'extraction de cultures microbiennes ordinaires, soit par du sérum normal, soit par l'eau distillée, ont les mêmes propriétés; ces substances seraient donc préformées dans les cultures. Ces auteurs donnent à ces extraits le nom d'aggressines artificielles. Les antiaggressines sont les mêmes substances que celles que l'on obtient par l'injection de microbes et le pouvoir agressive repose sur une fixations des alexines dérivées des leucocytes.

Doerr étudie de nouveau les exsudats; il estime que la manifestation d'un pouvoir agressive est un phénomène moins constant que ne l'admet Bail. Les exsudats contiennent des substances dérivées des corps microbiens, on peut les mettre en évidence par des réactions de précipitation. L'action agressive est due à une intoxication complémentaire, ce qui s'obtient d'une façon parfaitement comparable avec toute dose submortelle de toxine diphtérique ou autre.

Sur la base de ces expériences, Kraus, sous la direction duquel elles avaient été faites, crut pouvoir conclure que l'existence d'une substance nouvelle n'était pas démontrée.

Dans un travail récent, Sauerbeck démontre que les aggressines de Bail sont toxiques à forte dose, que leur action sur les leucocytes n'est pas constante et que souvent les animaux succombent à une « mort par toxines ». D'autre part la démonstration d'un pouvoir aggressique est surtout facile avec les microbes produisant beaucoup d'endotoxine. Le chauffage à 50°—70° diminue leur action mais ne la supprime pas. À côté d'une action spécifique il y a une action non spécifique moins intense mais évidente. Les toxines tétanique et diphtérique peuvent également être employées comme aggressines.

En poursuivant nos recherches sur la dialyse des produits microbiens, nous avons constaté que des expériences de ce genre nous permettaient d'analyser plus loin que les auteurs précédents le problème des aggressines. Nous nous sommes servi de deux souches de Bacilles typhiques, l'une W B fort virulente: 0,5 cc de culture de 24 h. injectés dans le péritoine tuent un cobaye en 24 h., l'autre Go dont 2 cc de culture sont constamment supportés par le cobaye.

I. 3 cultures de 24 h. sur agar de Ty W B délayés dans du liq. physiologique de NaCl sont infectés dans le péritoine d'un cobaye.

L'animal succombe en 24 h. et donne 5 cc d'exsudat aggressique.

Celui-ci est centrifugé et additionné de toluol.

Cobaye 2 0,5 cc tel quel de le péritoine + 1 cc Ty Go dans le péritoine: survie.

Cobaye 3 0,5 cc dialysé (partie non dialysable) + 1 cc Ty Go: survie. Les doses employées paraissent donc trop faibles.

II. Même préparation de l'aggressine. Au lieu du toluol on emploie de l'acide phénique à raison de 0,5%.

Cobaye 5 1 cc tel quel + 1 cc Ty Go † 24 h.

Cobaye 6 1 cc dialysé (partie non dialysable) + 1 cc Ty Go † 48 h. la propriété aggressique est donc diminuée par la dialyse mais persiste tout de même dans la partie non dialysable.

III. Même préparation de l'aggressine l'animal ayant succombé en 19 h. — L'exsudat est additionné de toluol.

6 cc sont mis à dialyser pendant 2 jours en présence de 6 cc de liquide physiologique de NaCl; après 2 jours on a 7 cc de liquide à l'intérieur du sac dialyseur (partie non dialysable) et 0,5 cc de liq. extér. (dialysable).

Cobaye 8 0,5 cc liq. ext. + 2 cc Ty Go † 24 h.

Le liquide intérieur (non dialysable) est soumis pendant 5 jours encore à la dialyse en présence de liquide physiologique renouvelé afin de le débarrasser de tout mélange avec la partie dialysante.

Cobaye 9 0,5 cc + 2 cc Ty Go † 18 h.

Dans un exsudat aggressique il y a donc 2 substances l'une dialysante, l'autre pas, qui toutes deux sont à peu près également aggressiques.

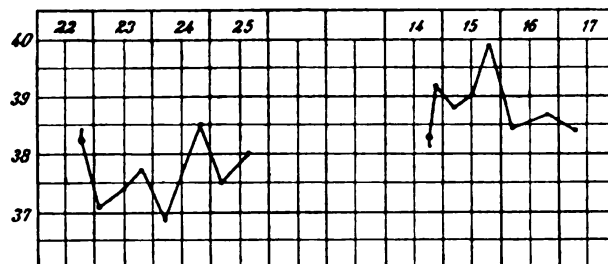
IV. Thermostabilité de ces substances.

La première de ces substances, celle qui dialyse, est relativement thermostable, elle résiste à un chauffage de 20 minutes à 58°.

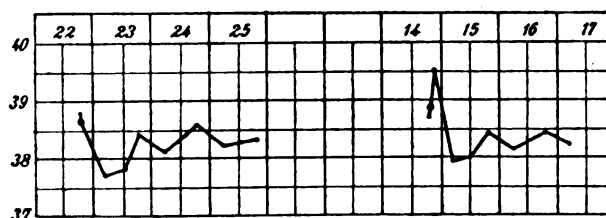
La seconde, celle qui ne dialyse pas, est altérée par un chauffage analogue; en effet injectée à la dose de 0,5 cc (diluée avant le chauffage avec 0,5 cc de liq. physiologique) en même temps que 2 cc Ty Go, elle ne rend pas mortelle cette dose de culture à laquelle les animaux de contrôle survivent.

V. Action pyrétogène. Les tableaux de température qui suivent montrent une différence très nette entre les deux parties constituantes de l'exsudat-aggressine au point de vue pyrétogène et anaphylactisant.

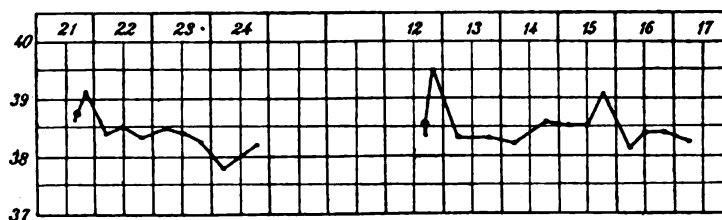
a) Exsudat-aggressine tel quel: effet de 2 injections successives de 0,5 cc à un cobaye.



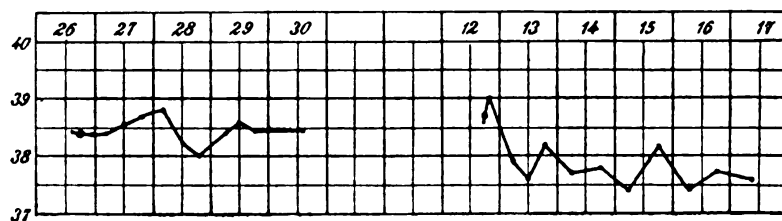
b) Exsudat-aggressine, partie non dialysante; effet de 2 injections successives de 0,5 cc à un cobaye.



c) Exsudat-aggressine soumis à la dialyse: partie dialysante. Effet de 2 injections successives de 0,5 cc à un cobaye.



d) Partie non dialysante correspondante de la précédente. Effet de 2 injections successives de 0,5 cc à un cobaye.



Conclusions. La dialyse permet donc de séparer en deux parties les exsudats décrits par Bail comme doués de la propriété agressive. Après la séparation chacune des 2 parties continue à posséder cette fonction agressive.

La première de ces parties constituantes, dialysable, est relativement thermostable; elle se rapproche d'une part des agressines artificielles

de Wassermann et Citron; d'autre part, par son action pyrétogène (surtout à la reinjection) elle rappelle les substances dialysantes et anaphylactisantes des cultures microbiennes étudiées antérieurement par nous.

L'autre partie constituante est non dialysable et non thermostabile; elle est moins pyrétogène et non anaphylactisante. Elle se rapproche plutôt des toxines vraies. Ce point fera le sujet d'un travail ultérieur.

Les contradictions auxquelles a donné lieu l'étude des agressines s'expliquent en partie par l'intervention simultanée des deux parties constituantes.

La propriété agressive ne se rattache donc probablement pas à un produit microbien nouveau ou même distinct; le mot convient cependant bien pour définir une fonction sur l'importance de laquelle Bail a eu le mérite d'attirer l'attention d'une façon spéciale.

#### Bibliographie.

- Bail, Untersuchungen über Typhus- und Choleraimmunität. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905.)  
 —, Untersuchungen über die Aggressivität des Cholera vibrio. (Ibid. Bd. LIII. 1905.)  
 Weil, Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905.  
 Bail und Kikuchi, Arch. f. Hyg. Bd. LIII. 1905.  
 Bail und Weil, Unterschiede zwischen aggressiven Exsudaten und Bakterienextrakten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906.)  
 Wassermann und Citron, Ueber die Bildungsstätte der Typhusimmunität. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. L. 1905.)  
 — —, Zur Frage der Bildung der bakteriellen Angriffsstoffe im lebenden Organismus. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 28.)  
 Citron, Ueber die Immunisierung mit Exsudaten und Bakterienextrakten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905.)  
 —, Die Immunisierung gegen Schweineseuche mit Hilfe von Bakterienextrakten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. 1906.)  
 —, Ueber natürliche und künstliche Aggressive. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906.)  
 Doerr, Ueber die infektiösbefördernde Wirkung steriler Exsudate. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906.)  
 Kraus, Die Fortschritte der Immunitätsforschung. Originalbericht über die Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. Beiheft.)  
 Sauerbeck, Ueber die Aggressive. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LVI. 1907.)

*Nachdruck verboten.*

## Beiträge zur Biologie normaler Tiersera.

[Aus der Universitäts-Augenklinik zu Würzburg.]

Von Paul Rissling, Tierarzt, Cöln.

Bei der großen Bedeutung, die in den letzten Jahren das Blutserum durch die Serumtherapie erlangt hat, kann es keinem Zweifel unterliegen, daß die Serumforschung auch in der Veterinärmedizin in Zukunft einen immer breiteren Raum einnehmen wird. Man braucht nur die Aufgaben zu berücksichtigen, welche von der Immunitätsforschung auf dem Gebiete der Seuchenbekämpfung teils bereits geleistet sind, teils noch geleistet werden sollen. Ich erinnere nur an die erfolgreiche Bekämpfung des Milzbrandes, des Rotlaufes, der Schweineseuche, der Schweinepest und an die Versuche über Tuberkuloseimmunisierung. Andererseits

brauchen wir nur an die Bekämpfung der Maul- und Klauenseuche, des Rotzes, der Brustseuche, der Wut und an die Streptokokkenerkrankungen zu denken, um zu der Ueberzeugung zu gelangen, daß hier noch ein weites Arbeitsfeld vor uns liegt.

Immer mehr zeigt es sich auf dem Gebiete der Humanmedizin, daß sich eine ganze Reihe von Infektionskrankheiten in einem charakteristischen Gepräge der Serumzusammensetzung wieder spiegeln. Es sei nur an die Bemühungen erinnert, für diese Erkrankungen eine Serumiagnose auszuarbeiten, z. B. bei Typhus, Cholera, Pest, Tuberkulose u. s. w.

Auch in der Veterinärmedizin steht für verschiedene Infektionskrankheiten die Frage der Serodiagnostik im Mittelpunkt des Interesses, wie wir aus den Untersuchungen über Tuberkulose, Rotz, Schweineseuche, Druse, Geflügelcholera, ferner aus Versuchen ersehen können, mittels eines agglutinierenden Serums besonders nahestehende Bakterien, wie Schweineseuche, Schweinepest, Geflügelcholera u. a. zu identifizieren resp. zu differenzieren.

Gibt es aber für einige Infektionskrankheiten eine Serumdiagnose, die auf spezifischen biologischen Wirkungen des Serums beruht, so wird sich die Frage aufwerfen lassen, ob eine solche dereinst auch noch bei anderen Erkrankungen zu erzielen sein wird in ähnlicher Weise, wie dies auch in der Humanmedizin immer mehr angestrebt wird. Daß eine Erleichterung und Sicherstellung der Diagnose, falls dieselbe an der Hand von Serumreaktionen schnell und zuverlässig auszuführen wäre, gerade in der Veterinärmedizin willkommen sein müßte, wo der Arzt auf eine Anamnese u. a. oft verzichten muß, bedarf keiner weiteren Erörterung.

So ist sowohl die Lösung von serotherapeutischen als serodiagnostischen Fragen in der Zukunft zu erwarten. Soll diese Erwartung aber in Erfüllung gehen, so ist unbedingt erforderlich, daß zunächst unsere Kenntnisse von der Biologie des normalen Serums abgerundeter und vollständiger werden; denn erst unter genauester Berücksichtigung der normalen Verhältnisse der Serumbeschaffenheit wird eine Beurteilung des abweichenden Verhaltens möglich sein.

Sieht man sich aber in dieser Beziehung in der Literatur um, so ist zu konstatieren, daß derartige Untersuchungen systematisch nach bestimmten Gesichtspunkten noch nicht ausgeführt sind. Bisher liegen nur vereinzelte Mitteilungen vor, welche die Biologie des normalen Tierserums betreffen. Hierzu kommt nun noch der Umstand, daß die Resultate der verschiedenen Autoren oft nicht ohne weiteres zu vergleichen sind, weil bei den einzelnen Arbeiten keineswegs eine einheitliche Technik angewandt wurde. Vor allem fehlt aber noch vollkommen eine Arbeit, in welcher diese bisher bekannten Wirkungen übersichtlich und nach bestimmten Gesichtspunkten so zusammengestellt sind, daß sich jeder schnell über irgend eine Frage orientieren kann.

Um daher einen allgemeinen Ueberblick über die gesamten biologischen Wirkungen normaler Sera und die Gestaltung dieser ganzen Verhältnisse zu bekommen und sich ferner über gewisse Fragen schnell orientieren zu können, war es neben einer kritischen Sichtung des bereits vorhandenen Materials besonders nötig, eigene Untersuchungen in möglichst großem Umfange anzustellen, wobei zugleich das bisher auf diesem Gebiet Geleistete auf breiter Basis nachgeprüft und ergänzt werden konnte. Das Hauptgewicht war bei diesen Untersuchungen nun



darauf zu legen, bei der Technik der einzelnen Versuche unter Berücksichtigung der in der Immunitätsforschung üblichen Verfahren einheitlich vorzugehen.

Von Herrn Prof. Dr. Römer, Vorsteher des Laboratoriums der Universitäts-Augenklinik zu Würzburg, auf diese Punkte hingewiesen, habe ich mir auf seinen Rat hin die Aufgabe gestellt, unter Berücksichtigung der obigen Gesichtspunkte zur Frage der Biologie des normalen Tierserums einen Beitrag zu liefern.

### A. Bakterienagglutinine des normalen Tierserums.

Neben einem der wichtigsten Fortschritte auf dem Gebiete der Immunitätslehre, der Entdeckung des Pfeifferschen Phänomens (86), durch das wir die ersten und wichtigsten Einblicke in die Wirkungsweise der bakteriolytischen Immunsera erhalten haben, nimmt einen breiten Raum im Ausbau der modernen Immunitätsforschung das Agglutinationsphänomen ein.

Das Verdienst, das Zusammenballen und die übrigen Erscheinungen mancher Bakterien unter der Einwirkung spezifischer Immunsera zuerst als spezifische Immunitätsreaktion erkannt und auch schon differentialdiagnostisch verwertet zu haben, gebührt Gruber und Durham (52). Das Phänomen gewann namentlich Bedeutung durch die kurze Zeit darauf von Widal (107) erfolgte Mitteilung, daß diese Agglutination, die bisher immer nur als Immunitätsreaktion betrachtet wurde, auch ein Zeichen der Infektion sei; Widal konnte zeigen, daß die Agglutination beim Abdominaltyphus die Stellung der Diagnose nicht erst in der Rekonvaleszenz, sondern auch schon während der Krankheit zuläßt. Somit war nun der Anfang einer klinischen Serodiagnostik gemacht.

Es würde den Rahmen meiner Arbeit überschreiten, auf die Streitfragen über das Wesen der Agglutination oder auf die Arten derselben selbst näher einzugehen, oder auf die Schwierigkeiten hinzuweisen, die sich infolge der ungemein zahlreichen Versuche und bei dem tieferen Eindringen und der besseren Kenntnis aller einschlägigen Verhältnisse namentlich differentialdiagnostisch bei der Identifizierung besonders nahestehender Bakterien infolge Gruppen-, Haupt- und Partialagglutininen ergeben haben. Immerhin kann doch die Serodiagnose als ein für die innere Medizin unentbehrliches Hilfsmittel bezeichnet werden. In der Humanmedizin ist sie außer bei Typhus, Cholera und Pest, wo sie als diagnostisches Hilfsmittel sogar behördlicherseits vorgeschrieben ist, auch bei verschiedenen anderen Infektionskrankheiten, wie bei Ruhr, Tuberkulose, Fleischvergiftung, bei Coli- und Streptokokkeninfektionen zum Teil erfolgreich angewandt.

Auch in der Veterinärmedizin hat man von Anfang an dem Phänomen der Agglutination erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt und hat untersucht, ob nicht bei verschiedenen Erkrankungen der Tiere dem Agglutinationstiter ihres Serums für die Diagnose der Krankheit oder zur Differenzierung von Bakterien eine Bedeutung zukommt.

Eine besonders ausgedehnte Bearbeitung fand ob ihrer praktischen Bedeutung von klinischer Seite die Agglutination bei der trotz aller Hilfsmittel oft so schwer diagnostizierbaren Rotzkrankheit. Wenngleich sich diese Untersuchungsmethode wegen verschiedener Schwierig-

keiten und speziell auch wohl wegen der negativen Ergebnisse einiger Forscher, wie Dediulin (40), Nikolsky (80), Petrowsky (85) noch keinen Platz in der allgemeinen Praxis hat erobern können, so ist sie doch nach der Ansicht der meisten Forscher, wie Bonome (33), Reinecke (90), Rabieaux (88), Wladimiroff (109), Pokschischewsky (87), Fedorowski (46), Afanassjeff (22) u. A. neben den anderen Hilfsmitteln zur Erkennung des Rotzes von unbestreitbarer Wichtigkeit, indem sich der Agglutinationstiter des Serums rotziger Pferde weit über die Grenze des Wertes erhebt, der sonst im Serum normaler und auch anderweitig, jedoch nicht rotzig erkrankter Pferde zur Beobachtung kommt. Ja, nach der Ansicht von erfahrenen Untersuchern, wie Schütz und Miessner (98), ist sie schon praktisch so weit verwendbar, daß man mit ihrer Hilfe in einem Bestande die Rotzkrankheit tilgen kann, und andererseits sich die Besitzer auch gegen die Einschleppung von Rotz schützen können, wenn sie den Ankauf von Pferden vom Agglutinationswert ihres Blutserums abhängig machen.

Auch bei der Tuberkulose wurden Versuche angestellt, die Serumagglutination als Mittel zur Diagnose derselben verwerten zu können. Nähere Angaben über diese Verhältnisse finden sich in einem besonderen Abschnitte am Schlusse dieses Kapitels über Bakterienagglutination.

Hier seien nur noch kurz die Ergebnisse über die Anwendung des serodiagnostischen Verfahrens bei anderen Infektionskrankheiten erwähnt.

Es beobachtete Ostertag (81) nach Einwirkung des Serums von schweineseuchekranken Tieren eine deutliche Agglutination des *Bacillus suisepiticus*. Dieselbe Erscheinung konnten Ostertag und Durbeck (82) bei der Wirkung des Serums von schweinepestkranken Tieren auf Kulturen des *Bacillus suisepitifer* konstatieren.

Weiter fand Zschokke (110), daß das Blutserum einer seit einem halben Jahre am „gelben Galt“ erkrankten Kuh auf Kulturen der diese Krankheit erregenden Streptokokken stark agglutinierend wirkte. Jess und Piorkowsky (60) sahen, daß das Druseimmunserum Drusestreptokokken in sehr starken Verdünnungen (1:2000) agglutinierte.

Auch bei der Geflügelcholera fand Jess (59) eine hohe agglutinierende Fähigkeit des Serums der mit Geflügelcholeraabacillen immunisierten Tiere.

Trotz dieser Erfolge ist es zu einer praktischen Anwendung des serodiagnostischen Verfahrens etwa in dem Maße, wie die Gruber-Widalsche Reaktion zur Diagnose des Typhus abdominalis des Menschen, in der Veterinärmedizin nicht gekommen. Kitt (62) sieht den Grund hierfür lediglich in der „Umständlichkeit des ganzen Verfahrens“. Während also das Agglutinationsphänomen in der Hand des Klinikers immer nur eine begrenzte Anwendung erfahren hat, ist seine Verwendung als Bakteriendifferenzierungsmittel eine vielseitigere.

So zeigte die Agglutinationsmethode in der Veterinärmedizin einen praktischen Erfolg bei der vielumstrittenen Frage über die Feststellung der verwandtschaftlichen Beziehungen des Schweinepesterregers. Nach den eingehenden Untersuchungen Ostertags (81) und seines Schülers Grabert (50) sprach der Ausfall der Agglutinationsprüfung außer den sonstigen wesentlichen Merkmalen gegen eine Artverwandtschaft von Schweineseuche- und Schweinepestbakterien.

Weiter konnte Voges (104) mit Hilfe dieser Methode nachweisen,

daß die Bakterien der Geflügelcholera und die der Schweineseuche nicht identisch sind.

Auch in die Beziehungen des *Streptococcus equi* zu dem Schützchen Brustseucheerreger ist durch die Agglutinationsmethode Licht gebracht worden. Während Hell (54) und Foth (47) beide Erreger mit Rücksicht auf ihre große morphologische und kulturelle Aehnlichkeit für Subspecies einer Art ansahen, Lignières (72) beide sogar für identisch erklärt hatte, konnte Bongert (34) demgegenüber durch die Agglutinationsprüfung das Gegenteil feststellen.

Bevor nun diese Agglutination von Bakterien zu diagnostischen Schlußfolgerungen u. s. w. überhaupt verwertet werden konnte, war es wohl vor allem nötig, auch das normale Serum auf seine Agglutinationsfähigkeit und die Grenzen derselben bei den verschiedenen Bakterien zu prüfen.

Nimmt man weiter noch hinzu, daß auch bei der Serumtherapie der Menschen und Tiere das Serum von Tieren Verwendung findet, so ist es allerdings auffallend, daß gerade von tierärztlicher Seite über die im normalen Blut unserer wichtigsten Haustiere vorkommenden Agglutinine verhältnismäßig wenig Untersuchungen vorliegen.

Deshalb glaubte ich, daß ein Ueberblick über diese Verhältnisse willkommen sei, und habe nun nach der Zusammenstellung der Literatur auch selbst die Sera von Pferd, Rind, Schaf und Schwein einer Agglutinationsprüfung auf verschiedene Bakterien unterzogen, wie Staphylokokken, Streptokokken, Milzbrand-, Proteus-, Coli-, Typhus-, Schweinepest-, Schweineseuche-, Geflügelcholera-, Rotlauf-, Rotzbacillen, Choleravibrionen sowie Tuberkelbacillen.

Nach diesen allgemeinen Betrachtungen will ich zuerst die von verschiedenen Autoren im normalen Serum von Pferd, Rind, Schaf und Schwein gefundenen Agglutinationswerte für die obengenannten Bakterienarten anführen, und zwar beginne ich mit den nur für den Menschen pathogenen Bakterien, dem Typhusbacillus und dem Choleravibrio.

### Literatur.

#### Typhusbacillus.

Während Baljaeff (29) und Horrocks (56) durch normales Pferdeserum keine Agglutination der Typhusbacillen fanden und sie auch van de Velde (103) bei einer Serumverdünnung von 1:20 vermißte, wurde von verschiedenen anderen Autoren die entgegengesetzte Behauptung von Kraus und Löw (69), daß normales Pferdeserum die Typhusbacillen beeinflusse, bestätigt. Nach Grabert (50) wurden zwei Typhusstämmen noch bei einer Verdünnung von 1:10 agglutiniert. Müller (79) fand je 2mal bei Verdünnungen von 1:8 und 1:16, und 1mal noch bei 1:32 bei schwacher Vergrößerung Agglutination. Auch Dieudonné (42) erhielt, wie er gelegentlich erwähnt, stets positive Resultate bei 1:15 bis 1:20 je nach dem Virulenzgrad der Kultur. Weiter fand auch Scheller (96) in für normales Pferdeserum verhältnismäßig hohen Verdünnungen, bei 1:100 und zuweilen darüber, eine allerdings unvollkommene und spurenweise Agglutination lebender Typhusbacillen; seine Versuche mit bei 60—62° abgetöteten Bacillen ergaben eine etwas schwächere und nicht so feste Agglutination wie die mit den lebenden Bacillen.

Ein relativ hohes Agglutinationsvermögen gegenüber den Typhusbacillen besitzt nach Angabe der einzelnen Untersucher das normale Rinderserum.

Es trat, wie Lüdke (76) angibt, 2mal die Reaktion bei 1:100 und einmal bei 1:50 ein, allerdings zeigte sich bei einem Rinde bei 1:20 keine Agglutination der Bacillen; Lüdkes weitere Untersuchungen über das normale Ochsen Serum ergaben in 5 Fällen zweimal bei 1:10 und dreimal bei 1:66 eine starke Agglutination. Aehnlich hohe Werte fanden auch Hahn und Trommsdorff (53), die nach einer Stunde bei 1:40 beginnende Häufchenbildung antrafen. Entsprechende ausführlichere Angaben macht weiter Müller (79), der beim erwachsenen Rinde 2mal bei 1:8 und einmal bei 1:32 bei schwacher Vergrößerung eine positive Reaktion konstatieren konnte. Ein besonderes Interesse gewinnen die Untersuchungen Müllers noch durch den Nachweis, daß sich diese Agglutinine auch im späteren Leben selbständig bilden können; denn in 2 Fällen, wo er den Versuch mit Kalbsserum anstellte, wurden die Typhusbacillen nicht agglutiniert. Diese Angabe Müllers konnte auch Lüdke (76) in vollstem Maße bestätigen: er fand bei 3 Kälbern im Alter von 2—4½ Wochen die Agglutinationsfähigkeit auf Typhusbacillen nur sehr gering ausgesprochen — 2 Kälber agglutinierten nur bei einer Verdünnung von 1:1, 1 Kalb noch bei 1:10 — während 8 Ochsen, wie ich schon oben erwähnt habe, ein Blutserum hatten, welches im Durchschnitt noch bei einer Verdünnung von 1:50 Typhusbacillen sehr gut zur Agglutination brachte.

Weiter fand Grabert (50) bei zwei Rindern bei 1:10 eine positive Reaktion, die auch Löwit (74) bei 1:1 und 1:10 nie vermißt hat.

Besredka (32) glaubt sogar nach seinen positiven Befunden diese Eigenschaft des normalen Ochsen Serums für eine Deutung des Wassermannschen Versuches — durch gleichzeitige Injektion von Ochsen Serum einem Mangel an Komplement bei Zuführung bakterizider Immunsere abzu helfen — benutzen zu können, indem er annimmt, daß das Rinderserum allein durch seine Fähigkeit, Typhusbakterien zu agglutinieren und die Phagocytose stärker wirksam werden zu lassen, die Infektion unterdrückt.

Anders liegen die Verhältnisse beim Schaf.

Jatta (57) hatte bei der Prüfung von zwei Schafseris auf 3 Typhusstämmen bei 1:10 ein negatives Resultat; dagegen berichtet Grabert (50), daß zwei verschiedene Typhusstämmen von einem Schafserum bei 1:10 agglutiniert wurden. Eine Mittelstellung zwischen beiden nimmt Müller (79) ein, der 1mal keine, dagegen 3mal bei 1:16 und 1mal noch bei 1:32 eine positive Reaktion beim normalen Schafserum nachweisen konnte.

Durch das Serum normaler Ferkel sah Baljaeff (29) niemals eine Beeinflussung von Typhusbacillen; den gleichen Befund machte auch Grabert (50) bei einem Schwein mit zwei Aufschwemmungen verschiedener Typhusstämmen, während er jedoch bei Verwendung von Bouillonkulturen beide Male bei 1:10 noch eine allerdings unvollständige Agglutination erhielt.

#### Choleravibrio.

Nach den Angaben von Kraus und Löw (69) soll normales Pferdeserum wohl die choleraähnlichen Vibrionen in hohen Ver-

dünnungen agglutinieren, was auch von Hetsch und Lentz (55) und von Müller (79) bestätigt wird — jedoch soll es auf die echten Vibrionen der Cholera asiatica keinen Einfluß ausüben. In Bezug auf diese letztere Angabe wird jedoch von verschiedenen anderen Beobachtern das Gegenteil behauptet. So benutzte schon Bordet (36) zu dem Nachweis der Vielheiten der Agglutinine im normalen Serum gerade die auf Choleravibrionen agglutinierend wirkende Kraft des normalen Pferdeserums. Auch Hetsch und Lentz (55) fanden, daß eine große Anzahl von Cholerastämmen durch Pferdeserum agglutiniert wurde, und zwar meist noch bei einer Verdünnung von 1:10 und 1:20. Ueber ähnliche Werte berichtet auch Dieudonné (42); doch betont er dabei, daß beim normalen Serum der Virulenzgrad der Kultur von großem Einfluß sei, wenn auch nicht so groß wie bei den Immunseris. Mit virulenter Cholera sah Dieudonné bei 1:10, mit avirulenter noch bei 1:30 eine deutliche Agglutination. Etwas höher ist der Durchschnittswert, den Kollé (67) gelegentlich angibt, nämlich 1:40. Bei umfangreichen Untersuchungen über die „bakterizide Cholera-diagnostik“, die Kollé und Gotschlich zusammen (68) an einer Reihe von Tierarten ausführten, kamen sie für das Pferdeserum speziell zu folgendem Ergebnis: Von 19 echten, verschiedenen Cholerastämmen wurden vom normalen Pferdeserum 5 Stämme bei einer Verdünnung von 1:10 nicht beeinflußt; dagegen war bei 4 anderen Stämmen die Reaktion bei 1:10 und bei 5 anderen Stämmen bei 1:20 positiv. Zwei weitere Kulturen wurden bei 1:50, wieder 2 noch bei 1:100, ja eine Kultur wurde sogar noch bei 1:200 agglutiniert, doch war hiermit auch bei diesem Stamm der Grenzwert erreicht. Endlich will ich noch bemerken, daß nach Gasiorowski, wie Paltauf (83) zitiert, für Choleravibrionen im normalen Pferdeserum gleich hohe Agglutinationswerte wie im Immunserum vorkommen können, und zwar noch bei Serumverdünnungen von 1:300—350.

Das Normalserum des Rindes halten Hetsch und Lentz (55) zu diesbezüglichen Agglutinationszwecken für nur wenig brauchbar, weil es die Choleravibrionen zu gering agglutiniere. Auch Lüdke (75) und Löwit (74) fanden keine erhebliche Beeinflussung durch normales Rinderserum; während nach Löwits Angaben bei 1:1 und 1:10 die Agglutination meist noch eintrat, konnte sie Lüdke bei 2 Rindern bei 1:20 nicht mehr konstatieren. Dagegen ermittelten Kollé und Gotschlich (68) erheblich höhere Werte: eine Kultur wurde vom Rinderserum bei 1:10, 7 weitere noch bei 1:20 und eine sogar noch bei 1:50 agglutiniert.

#### Staphylokokken.

Die hier einschlägigen Beobachtungen sind nur spärlich; sie betreffen zumeist die Wirkungen der Staphylokokken-Immunsera, ferner die der Sera vom Menschen oder normaler kleiner Tiere, besonders Kaninchen. Doch geben Kraus und Löw (69) an, das normales Pferdeserum Staphylokokken agglutinieren könne.

#### Streptokokken.

Auch hier beziehen sich die Arbeiten meist auf Immunsera. Ueber normale Sera liegen nur wenig Untersuchungen vor. Aronsohn (27) fand keine Agglutination durch Pferdeserum. Dagegen berichten Moser und Pirquet (78), daß normales Pferdeserum Streptokokkenstämme

verschiedener Herkunft häufig agglutiniere, jedoch nur in geringen Verdünnungen. Unter 15 Stämmen fanden sie bei 5 Agglutination bei 1:4; einmal war die Reaktion bei 1:64 noch positiv, doch soll dieses Serum unsicherer Provenienz gewesen sein. Weiterhin fanden Rossiwall und Schick (93) eine agglutinierende Wirkung des normalen Pferdeserums auf 8 verschiedene Stämme, die jedoch nie in höheren Verdünnungen wie 1:16 bei makro- und mikroskopischer Untersuchung zu konstatieren war. Dagegen sah Wlasjewski (106) dieselbe noch in Verdünnungen von 1:20 bis 1:50.

Im Gegensatz zu dieser Agglutinationsfähigkeit des normalen Pferdeserums vermochte normales Schafserum, wie Stolpe (101) gefunden hat, verschiedene Streptokokkenstämme nicht einmal bei 1:5 zu agglutinieren.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber einen für Fische pathogenen Bacillus (*Bac. piscicidus haemolyticus*).

[Aus dem königl. Institut f. experim. Therapie zu Frankfurt a. Main. Direktor Geh.-Rat P. Ehrlich. Bakteriologisch-hygienische Abteilung: Prof. M. Neisser.]

Von Dr. Lewis H. Marks, Assistenten der Abteilung.

Bei Gelegenheit einer beabsichtigten Experimentaluntersuchung bedurften wir einer Anzahl größerer lebender Fische, die wir in einem großen Glasreservoir von etwa 40 l Inhalt zu halten suchten. Aber alle Versuche, die Fische am Leben zu erhalten, schlugen fehl, bis wir die Ursache des Todes in einem Bakterium fanden, das in unserem Reservoir vorhanden war und das eine außerordentliche Virulenz besaß. Es war augenscheinlich eingeschleppt durch einen kranken Fisch, denn aus der Fischhandlung, aus der wir unsere Fische bezogen hatten, sind uns in der Folge mehrfach tote Fische zugegangen, deren Organe denselben Bacillus beherbergten. Die von uns beobachteten Fische waren Schleien, Karpfen und Goldfische.

Das Bakterium ist ein lebhaft beweglicher Bacillus von kurzer dicker Form; häufig hängen zwei aneinander. Er färbt sich mit allen Farben leicht, ist gramnegativ und zeigt im Tierkörper eine sehr deutliche Kapsel. Auf gewöhnlichem Agar wächst er bei 37° und 22° schnell, bei 10° langsam. Die Kolonien auf Agar sind von weicher Konsistenz, von schmutzig gelblichweißer Farbe, mit regelmäßigem Rand. Er wächst auf allen Nährböden leicht, verflüssigt Löffler-Serum bei 37°, Gelatine bei 22° allmählich. Auf Endo-Agar sind die Kolonien ganz hellrosa, nach 48 Stunden rot, ohne Metallglanz. Auf Gelatineplatten zeigen die Kolonien scharfe Umrandung ohne Ausläufer und ohne proteusartige Fadenbildung. Traubenzuckeragar wird vergoren, Milchzucker nicht vergoren. Sterile Milch gerinnt am 3. Tage vollständig bei alkalischer Reaktion. Lackmusmolke wird erst spurweise sauer, innerhalb 2—3 Tagen stark alkalisch. In Bouillon wird Indol gebildet. (Nachweis nach Böhme, cfr. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905.)

Tabelle I.  
Die Häufigkeit seines Vorkommens.

Serie	No.	Befund	Art	Endo-Agarkulturen				Aufenthalt	Bemerkungen
				Herz- blut	Darm	Milz	Galle		
A	1	tot	Karpfen	positiv	positiv	positiv	negativ	im Reservoir	
	2	beinahe tot	"	negativ	"	"	"	" "	
	3	" wohl "	"	"	"	"	"	" "	
B	4	" wohl "	Schleie	"	negativ	negativ	"	aus dem Laden	sofort getötet
	5	scheinb. wohl	Karpfen	"	positiv	"	"	im Reservoir	getötet nach 5 Std. im Reservoir
C	6	wohl	Schleie	"	negativ	"	"	im frisch. Wasser	getötet
	7	"	"	"	"	"	"	" " "	"
	8	beinahe tot	"	"	positiv	"	"	im alten Reservoir	"
D	9	tot	"	positiv	"	positiv	"	" " "	
	10	beinahe tot	Karpfen	negativ	"	"	"	" " "	
	11	scheinb. wohl	Schleie	"	"	"	"	" " "	getötet nach 20 Std.
E	12	tot	"	"	"	"	"	" " "	
	13	"	"	—	"	"	"	aus dem Laden	
F	14	"	"	—	"	"	"	" " "	
	15	"	"	positiv	"	"	"	" " "	
	16	"	"	"	"	"	"	" " "	

Auf Leuchtagar findet kein Leuchten statt. Die Ueberimpfungen finden am besten täglich statt, weil der Bacillus sich häufig nach 3—4 Tagen nicht mehr überimpfen läßt. Haltbar scheint eine Agarstichkultur zu sein, die nach eintägigem Wachstum bei 37° bei 22° aufgehoben wird.

Die Virulenz des Bakteriums ist, wofern es sich um frisch aus dem Tierkörper heraus gezüchtete Kolonien handelt, eine ungewöhnlich große, wie folgender Versuch zeigt:

Aus dem Darm eines spontan gestorbenen Fisches werden 2 Oesen in 1 ccm Bouillon gebracht, davon 0,5 ccm einer Maus ip. injiziert, tot nach 10 Stunden.

Davon Herzblut, etwa 5 Oesen in 1 ccm Bouillon, und 0,5 ccm davon einer Maus ip. injiziert, tot nach 7—8 Stunden.

Davon 5 Oesen Herzblut in 1 ccm Bouillon und 0,5 ccm davon einer Maus ip. injiziert, tot nach 6 Stunden.

Aus dem Herzblut dieser Maus Reinkultur. Mikroskopisch in dieser Maus und den anderen Mäusen die durch ihre Kapselbildung und das gramnegative Verhalten leicht erkennbaren Bacillen nachweisbar.

Die Virulenz der lebenden Agar- und Bouillonkultur gegenüber Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen zeigt Tabelle II und III. Wir haben keinen Wert darauf gelegt, die Dosis letalis minima zu bestimmen.

Interessant war die Toxinbildung des Bakteriums, die aber nur an frisch aus dem Tierkörper gezüchteten Kolonien nachweisbar ist. Der Bacillus produziert ein Hämolyisin, das bei 58° völlig inaktivierbar ist und das z. B. in der Menge von 0,025 ccm 1 Tropfen Kaninchenblut komplett löst (Gesamtvolumen 2 ccm); das keimfreie Filtrat ist für die kleinen Versuchstiere stark giftig, wie Tabelle VI zeigt. Selbst bei subkutaner Einverleibung genügt 0,05 ccm, um eine Maus in 36 Stunden zu töten. 0,02 ccm töteten auch bei ip. Einverleibung nicht mehr. Die Identifizierung des in den späteren Objekten gefundenen Bacillus war durch die Agglutinationsreaktion leicht möglich, da wir durch intravenöse

24\*

Einspritzung toter Kulturen beim Kaninchen leicht ein sehr wirksames Agglutinin erhalten konnten, das mit formalinisierte Kultur bequem zu titrieren war.

Tabelle II.

Virulenz einer eintägigen Agarkultur. (1 Kultur in 6 ccm physiol. NaCl-Lösung aufgeschwemmt.)

No.	Tiere	Dosis		Resultat	Endoagar- kultur von Herzblut	Mikroskopischer Befund in		
		ip.	sbk.			Milz	Nieren	Leber
1	Maus	0,2		tot nach 3 Std.	Reinkultur	Positiv	positiv	nicht gemacht
2	"		0,1	" " 12 "	"	"	"	" positiv "
3	"	0,05		" " 5 "	"	"	"	"
4	"		0,1	" " 5 "	"	"	"	"
5	"	0,04		" " 6 "	"	"	nicht gemacht	"
6	"	0,01		" " 6 "	"	"	" positiv "	"
7	Meerschw.	0,2		" " 5 "	"	"	nicht gemacht	"
8	"		0,4	" " 7 "	"	"	"	"
9	Kaninchen	0,4		" " 20 "	"	"	"	"
10	"		0,6	" " 20 "	"	"	"	nicht gemacht

Tabelle III.

Virulenz einer 24-stündigen Bouillonkultur.

No.	Tiere	Dosis		Resultat	Endoagar- kultur von Herzblut	Mikroskopischer Befund in		
		ip.	sbk.			Milz	Nieren	Leber
1	Maus	0,3		tot nach 12 Std.	Reinkultur	positiv	nicht gemacht	nicht gemacht
2	"	0,2		" " 12 "	"	"	"	" positiv "
3	"		0,3	" " 18 "	"	"	"	"
4	"		0,2	" " 18 "	"	"	"	"
5	"	0,1		" " 12 "	"	"	positiv	"
6	"	0,05		" " 12 "	"	"	"	"
7	"		0,1	" " 20 "	"	"	"	"
8	Meerschw.	0,5		" " 24 "	"	"	"	"
9	"		0,6	" " 24 "	"	"	nicht gemacht	nicht gemacht

Tabelle IV.

#### Hämolytische Versuche.

Bouillonkultur bei 37° 7 Tage. Filtration durch Reichel-Filter. Alle Röhren mit physiologischer NaCl-Lösung auf 2 ccm aufgefüllt. Röhren bleiben 2 Stunden bei 37°, 18 Stunden im Eisschrank.

Filtrat	Kaninchenblut	Meerschweinchen- blut	Mäuseblut	Ochsenblut
1,0	+	+	+	+
0,5	+	+	+	wenig
0,25	+	+	+	wenig
0,1	+	+	+	—
0,05	+	+	+	—
0,025	+	+	+	—
0,01	wenig	wenig	+	—
Kontrolle	—	—	—	—
Dasselbe inaktiviert bei 60° 1 Stunde.				
1,0	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—
Kontrolle	—	—	—	—



Tabelle V.  
Hämolytische Versuche.  
Bouillonkultur bei 37° 2 Tage und 22° 5 Tage. Filtration durch Reichel-Filter.  
Versuchsordnung wie Tabelle V.

Filtrat	Kaninchenblut	Meerschweinchenblut	Mäuseblut	Ochsenblut
1,0	+	+	+	—
0,5	+	+	+	—
0,25	+	+	+	—
0,1	wenig	wenig	+	—
0,05	—	—	wenig	—
0,025	—	—	—	—
0,01	—	—	—	—
Kontrolle	—	—	—	—
Dasselbe inaktiviert bei 58° 1 Stunde.				
1	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—
Kontrolle	—	—	—	—

Tabelle VI.  
Giftigkeit des Toxins.  
Bouillonkultur bei 37° 7 Tage. Filtration durch Reichel-Filter.

No.	Tiere	Dosis		Resultat	
		ip.	subk.		
1	Maus	0,1		tot nach 18 Stunden	frisches Filtrat
2	"	0,08		" " 24 "	" "
3	"	0,04		" " 24 "	" "
4	"		0,2	" " 30 "	" "
5	"		0,1	" " 30 "	" "
6	"		0,05	" " 36 "	" "
7	Meerschw.	0,2		" " 24 "	" "
8	"		0,5	" " 36 "	" "
9	Kaninchen	0,4		" " 36 "	" "
10	"		0,6	" " 36 "	" "
11	Meerschw.	0,1		lebt	Filtrat 2 Tage alt
12	"		0,3	"	" <sup>2</sup> " "
13	Maus	0,02		"	frisches Filtrat
14	"	0,01		"	" "
15	Kaninchen	i. v. 0,2		tot in 24 Stunden	" "
16	"	" " 0,5		lebt	Filtrat 4 Tage alt

Die ätiologische Bedeutung unseres Bacillus war schon dadurch äußerst wahrscheinlich gemacht, daß nur Fische, die in diesem Reservoir gehalten wurden, starben, und die Bacillen in den Organen zeigten. Uebrigens war das Wasser dieses Reservoirs nicht nur für Fische virulent, sondern auch bei intraperitonealer Einspritzung von 0,2 ccm für Mäuse, die nach 24 Stunden mit typischem Befund starben. Ebenso verstarb eine Maus, die mit einem Stück Brot gefüttert war, welches mit dem Wasser getränkt war, nach 6 Tagen mit typischem Befund. Setzten wir ferner einem reinen Wasser einen Teil des Reservoirwassers hinzu, so starben auch in diesem Wasser die Fische nach 36 Stunden mit typischem Befund, und dasselbe trat ein, wenn wir einem frischen Wasser eine Aufschwemmung unserer Kultur zusetzten. Die gleichzeitig als Kontrollen angesetzten Fische starben nicht oder aber zeigten nicht in Organen und Herzblut unseren Bacillus. Wir dürfen deshalb den Bacillus,

den wir *Bacillus piscicidus haemolyticus* nennen, als den Erreger des Fischsterbens in unserem Reservoir ansehen. Durch seine hohe Virulenz, die Produktion eines Toxins und Hämolytins scheint er uns besonders interessant zu sein. Er unterscheidet sich durch seine Kapselbildung, durch seine Virulenzverhältnisse, durch das Fehlen der Farbstoffbildung und durch das Fehlen der Ausläufer auf der Gelatineplatte von den bisher beschriebenen fischpathogenen Bakterienarten (cf. Babes und Riegler, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIII. 1903. B. Hofer, Handbuch der Fischkrankheiten. 2. Auflage. 1906).

Anmerkung bei der Korrektur: In der Zwischenzeit haben wir ein Antitoxin bei Kaninchen hergestellt.

*Nachdruck verboten.*

## Ein Beitrag zur Färbung der Negrischen Körperchen.

[Aus dem kgl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.

Direktor: Geh. Ob.-Med.-Rat. Prof. Dr. Gaffky.]

Von Dr. Otto Lentz, Leiter der Wutschutzabteilung.

Mit 3 Tafeln.

Die klassische und wohl auch heute noch von den meisten Untersuchern angewandte Färbemethode für die Darstellung der Negrischen Körperchen ist die von Negri empfohlene Mannsche Färbung mit einer Methylblau-Eosin-Mischung. Daß sie aber nicht überall befriedigende Resultate gegeben hat, kann man schon aus den mannigfachen Versuchen verschiedener Untersucher entnehmen, sie durch andere Methoden zu ersetzen. Meistens war hierbei auch der Wunsch maßgebend, einen tieferen Einblick in die feinere Struktur der Körperchen zu erhalten und hierdurch Anhaltspunkte über ihr Wesen zu gewinnen.

Aber auch bei einfacheren, lediglich der Diagnose dienenden Untersuchungen genügen ihre Resultate häufig den Ansprüchen der Praxis nicht. Ich stimme mit Bohne<sup>1)</sup> vollkommen darin überein, daß die bei der Mannschen Färbung sich ergebende Rotfärbung der Kernkörperchen in den Ganglienzellen bisweilen eine bestimmte Diagnosenstellung sehr erschwert. Als weiteren Mangel habe ich empfunden, daß die Innenstruktur der Körperchen, die sich bei der Mannschen Färbung als Vakuolenbildung zu erkennen gibt, sehr häufig nicht klar hervortritt, so daß bei freiliegenden Körperchen eine Unterscheidung von den in gleichem Farbenton gefärbten roten Blutkörperchen schwierig wird. Weiterhin bleibt aber bei der Mannschen Färbung das Gliagewebe, sowie das Protoplasma der Ganglienzellen so stark gefärbt, daß dadurch kleinere Negrische Körperchen — und diese finden sich gar nicht selten — vollständig verdeckt werden können. Diesem Umstande ist es wohl auch mit zuzuschreiben, daß die meisten Untersucher bei der Passagewut keine Negrischen Körperchen gefunden haben.

1) Bohne, A., Die Negrischen Körperchen und ihre Bedeutung für die Diagnose der Tollwut. (Zeitschr. f. Infekt. paras. Krankh. u. Hygiene d. Haustiere. Bd. II. Heft 2/3.)

Auch die Färbemethoden von Mallory<sup>1)</sup>, Williams und Lowden<sup>2)</sup> sowie Frothingham<sup>3)</sup>, bei welchen die Präparate mit Eosin und Methylenblau getrennt gefärbt und dann mit Aethylalkohol differenziert werden, befriedigten mich nicht, da bei ihnen zwar die Methylenblaufärbung differenziert wird, die Eosinfärbung jedoch so stark hervortritt, daß darunter die Uebersichtlichkeit des Präparates leidet und das Auffinden kleinerer Negrischer Körperchen schwierig wird. Einen großen Vorteil boten aber diese Methoden vor der Mannschen insofern, als sie die Innenstruktur der Körperchen deutlicher in Form von blau gefärbten Innenkörperchen hervortreten ließen.

Ich suchte nun durch Modifizierung der Färbung und Differenzierung, andererseits auch durch Anwendung von Beizen die erwähnten Mißstände zu beseitigen und die Innenstruktur womöglich noch deutlicher sichtbar zu machen.

Das Resultat meiner mannigfach modifizierten Färbeversuche waren zwei Färbemethoden, die ich im Folgenden kurz schildern möchte. Sie sind nicht komplizierter als die früher empfohlenen Methoden und geben, wie ich mich bei Gelegenheit von Kursen mehrfach habe überzeugen können, selbst in der Hand des Weniggeübten gute Resultate.

Beide Methoden sind sowohl für Ausstriche als auch für Schnitte geeignet. Die Ausstriche stelle ich in der Weise her, daß ich durch das Ammonshorn einen Querschnitt lege, sodann mit Hilfe zweier Scalpelle die die großen Ammonshornzellen enthaltenden Partien, welche ebenso wie der Zug der kleinen Fimbrienzellen als Streifen grauer Hirnschubstanz auf dem Ammonshornquerschnitt deutlich hervortreten, herauschneide und diese zwischen zwei sauber geputzten Objektträgern (nach van Gieson)<sup>4)</sup> mit ganz gelindem Druck quetsche, während ich die Objektträger voneinander abziehe. Beide so erhaltenen Ausstriche kommen sofort, noch feucht, in Methylalkohol und werden hier 1 Minute lang fixiert. Zur Entfernung des Methylalkohols werden sie darauf in absolutem Aethylalkohol ab gespült und sodann gefärbt.

Die Schnitte präpariere ich in der von Bohne<sup>5)</sup> beschriebenen Weise: 2—3 mm dicke Querscheiben des Ammonshorns werden 1 Stunde lang in Aceton bei 37° C gehärtet, sodann 1½ Stunden in Paraffin (Schmelzpunkt 55°) im Paraffinschrank von 58° belassen und darauf eingebettet. Die 2—3 µ dicken Mikrotomschnitte werden auf lauwarmem Wasser geglättet und von hier auf sauber geputzten und geglähten Objektträgern aufgefangen. Das überschüssige Wasser lasse ich abtropfen und trockne die Objektträger auf einer mäßig warmen Metallplatte oder im Brutschrank; dabei kleben die Paraffinschnitte auf dem Objektträger vollkommen fest an. Die ganze Prozedur vom Schneiden bis zum vollkommenen Trocknen der Schnitte dauert kaum 10 Minuten<sup>6)</sup>. Zur Entfernung des Paraffins kommen die Objektträger in Xylol und

1) u. 2) Williams, A. W. and Lowden, M. M., The etiology and diagnosis of hydrophobia. (Journ. of inf. dis. Vol. III. 1906. No. 3.)

3) Frothingham, The rapid diagnosis of rabies. (The Journ. of med. res Vol. XIV. 1906. No. 3.)

4) van Gieson, Eine sichere und einfache Methode für Nervenstudien, hauptsächlich ihre Anwendung in der Diagnose und Untersuchung der Negrischen Körperchen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 2.)

5) Bohne, A., Beiträge zur diagnostischen Verwertbarkeit der Negrischen Körperchen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LII. 1905.)

6) Nicht wie Pfeiler (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. II. Heft 4/5) behauptet, 6—7 Stunden.

zur Beseitigung des letzteren in absoluten Alkohol. Alsdann werden sie gefärbt.

Als Farblösungen dienen:

I. Eosin extra B-Höchst 0,5  
60-proz. Aethylalkohol 100,0.

II. Loefflersches Methylenblau:

Gesättigte alkoholische Lösung von Methylenblau

B-Patent-Höchst 30,0

0,01-proz. Kalilauge 100,0.

Als Differenzierungsmittel dienen:

I. Alkalischer Alkohol:

Alcohol absolutus 30,0

1-proz. Lösung von Natr. caust. in Alc. absol. 5 Tropfen.

II. Saurer Alkohol:

Alcohol absolutus 30,0

50-proz. Essigsäure 1 Tropfen.

Für Färbung B außerdem Methylalkohol sowie als Beize Lugolsche Lösung:

Jodi 1,0

Kal. jodat. 2,0

Aq. dest. ad 300,0<sup>1)</sup>.

Zur Färbung werden Ausstriche wie Schnitte aus dem absoluten Alkohol unmittelbar in die alkoholische Eosinlösung übertragen. Der Gang der Färbungen ist folgender:

Färbung A.

- 1) Färben in der Eosinlösung 1 Minute lang.
- 2) Abspülen in Wasser.
- 3) Färben in der Methylenblaulösung 1 Minute lang.
- 4) Abspülen in Wasser.
- 5) Abtrocknen durch vorsichtiges Aufdrücken auf Fließpapier.
- 6) Differenzieren in alkalischem Alkohol, bis das Präparat nur noch schwache Eosinfärbung erkennen läßt.
- 7) Differenzieren in saurem Alkohol, bis bei Schnitten die Ganglienzüge noch eben als schwach blau gefärbte Linien zu sehen sind, bezw. bei Ausstrichen an den dünneren Stellen alles Blau (makroskopisch) verschwunden ist.
- 8) Kurzes Abspülen in Alcohol absolutus.
- 9) a) Für Schnitte: Xylol, Kanadabalsam, Deckglas. Oelimmersion.  
b) Für Ausstriche: Trocknen, ohne Deckglas mit Oelimmersion untersuchen.

Färbung B.

- 1) Färben in der Eosinlösung 1 Minute lang.
- 2) Abspülen in Wasser.
- 3) Färben in der Methylenblaulösung 1 Minute lang.
- 4) Abspülen in Wasser.
- 5) Beizen mit Lugolscher Lösung 1 Minute lang.
- 6) Abspülen mit Wasser.
- 7) Differenzieren in Methylalkohol, bis kein Blau mehr sichtbar und das Präparat ganz rot ist.

1) Auf die Möglichkeit der Beizung mit Methylenblau gefärbter Präparate mittels Lugolscher Lösung hat mich Herr Agalli aus Charkow aufmerksam gemacht, der z. Z. im hiesigen Institut arbeitet.

8) Abspülen in Wasser.

9) Nachfärben in der Methylenblaulösung  $\frac{1}{2}$  Minute lang.

10)–15) Wie bei Färbung A No. 4)–9).

Die Farb- und Differenzierungslösungen sind längere Zeit verwendbar; wichtig ist, daß der alkalische Alkohol wasserfrei bleibt, da sonst die Färbung mißlingen kann. Ich halte die Lösungen in kleinen flachen Färbegläsern, die durch übergreifenden Glasdeckel verschlossen sind, zu ständigem Gebrauch vorrätig; die Lugolsche Lösung gieße ich jedesmal frisch auf das Präparat, das Abspülen nehme ich im Wasserglas in Leitungswasser vor.

Bei Färbung A (cf. die Abbildungen) erscheint die Gliasubstanz zart rosa oder gänzlich farblos, das Zellprotoplasma blaßblau, die Kerne der Ganglienzellen ein wenig dunkler blau, Kernkörperchen sowie die Kerne der Gliazellen, Leukocyten und Zellen der Kapillarwände dunkel- bis schwarzblau, die roten Blutkörperchen zinnoberrot. Die Negrischen Körperchen erscheinen karmoisinrot gefärbt und sind, auch wenn sie frei liegen, schon an diesem Farbenunterschied von roten Blutkörperchen zu unterscheiden. Fast ausnahmslos lassen die Negrischen Körperchen in ihrem Innern ein oder mehrere blau gefärbte Innenkörperchen erkennen, und zwar sieht man auch in den kleinsten Körperchen in der Regel wenigstens ein solches Innenkörperchen.

Die Innenkörperchen sind meist von einer schmalen Zone umgeben, in welcher das Stroma des Negrischen Körperchens etwas blasser gefärbt erscheint. Ich lasse es dahingestellt, ob es sich hier um etwas Charakteristisches oder nur um ein Produkt der Fixierung des Untersuchungsobjektes handelt.

Die Gestalt der Innenkörperchen ist sehr verschieden, kugelig, stäbchenförmig, komma- oder ringförmig, oft liegt auch in einer heller gefärbten Partie ein dunkler gefärbtes Körnchen von verschiedener Gestalt; bisweilen zeigt auch das Innenkörperchen eine netz- oder wabenartige Struktur. Häufig liegen, wie dies auch bei der Mannschen Färbung an den dort hervortretenden Vakuolen zu beobachten ist, in der Mitte des Negrischen Körperchens ein oder mehrere größere Innenkörperchen, die dann gewöhnlich eine feinere Struktur zeigen, und um sie herum, oft rosettenartig angeordnet, oder auch zwischen ihnen eine Anzahl kleinerer, die seltener eine Struktur erkennen lassen.

Die bei Anwendung der Färbung B erhaltenen Bilder stimmen im allgemeinen mit den durch Färbung A erzielten überein, jedoch ist die Färbung der Innenkörperchen eine viel intensivere; sie erscheinen hier dunkelblau bis schwarz. Die Folge davon ist, daß einmal weit mehr Innenkörperchen sichtbar werden, und daß die Struktur der größeren unter ihnen deutlicher hervortritt.

Mit Hilfe der geschilderten Färbungen habe ich auch im Ammons-horn von an Virus fixe verendeten Kaninchen in etwa  $\frac{1}{3}$  (7 von 20) der bisher untersuchten Fälle Negrische Körperchen nachweisen können. Sie waren stets außerordentlich klein,  $0,5$ – $2 \mu$  groß, waren aber an ihrer Lagerung im Innern von Ganglienzellen, an ihrer karmoisinroten Farbe und an den blau gefärbten Innenkörperchen als Negrische Körperchen einwandsfrei zu erkennen.

Erwähnen möchte ich noch, daß sich die beschriebenen Färbemethoden auch zur Darstellung ähnlicher Zelleinschlüsse, wie z. B. der Guarnierischen Körperchen, recht gut eignen, und daß ich mit ihrer Hilfe auch im Gehirn von an nervöser Staupe eingegangenen Hunden

den Negrischen Körperchen ähnliche Gebilde nachgewiesen habe, die sich aber durch das Fehlen von Innenkörperchen sowie durch ihre Lagerung außerhalb der Ganglienzellen oder im Innern von stark destruierten Zellen von den Negrischen Körperchen leicht unterscheiden lassen.

#### Erklärung zu den Abbildungen.

Abbildungen 1—3 sind Photogramme, die Herr Prof. Zettnow nach Schnittpräparaten angefertigt hat, die (cf. Abbildungen 4 und 5) nach den beschriebenen Methoden gefärbt worden sind.

Abbild. 1. Zwei große Ganglienzellen, von denen die eine in der linken Ecke ein großes Negrisches Körperchen mit rosettenförmiger Anordnung der Innenkörperchen zeigt, während in der darüber gelegenen Zelle ein gleichfalls großes Negrisches Körperchen nur verschwommen sichtbar ist. (Ammonshorn des Hundes, Färbung A. Vergr. 1:1000.) Cf. Abbildung 4.

Abbild. 2 u. 3. Zwei Ganglienzellen mit mittelgroßen Negrischen Körperchen, die massenhaft stark gefärbte Innenkörperchen hervortreten lassen. (Ammonshorn des Hundes, Färbung B. Vergr. 1:1000.) Cf. Abbildung 5.

Abbild. 4. Färbung A. Ammonshorn des Hundes. Vergr. 1:1000. Mehrere Ganglienzellen mit großen, mittleren und kleinen Negrischen Körperchen, die sämtlich ein blaues Innenkörperchen zeigen. Ein Negrisches Körperchen (rechts oben) frei, daneben wie auch links in einem Gefäß rote Blutkörperchen, die sich durch ihre zinnoberrote Farbe und Fehlen des blauen Innenkörperchens von den Negrischen Körperchen unterscheiden. Cf. Abbildung 1.

Abbild. 5. Färbung B. Schnitt durch dasselbe Ammonshorn wie zu Abbild. 4. Massenhafte und stark gefärbte Innenkörperchen in den Negrischen Körperchen, einige mit deutlicher wabenförmiger und körniger Struktur. Cf. Abbildung 2 und 3.

*Nachdruck verboten.*

## Die Züchtung anaërober Bakterien in Leberbouillon, sowie in Zuckerbouillon und in gewöhnlicher Bouillon mit einem Zusatz von Platinschwamm oder Hepin unter Luftzutritt.

[Aus dem hygienisch-chemischen Laboratorium der Kaiser Wilhelms-Akademie für das militärärztliche Bildungswesen.]

Von E. Pfuhl in Berlin.

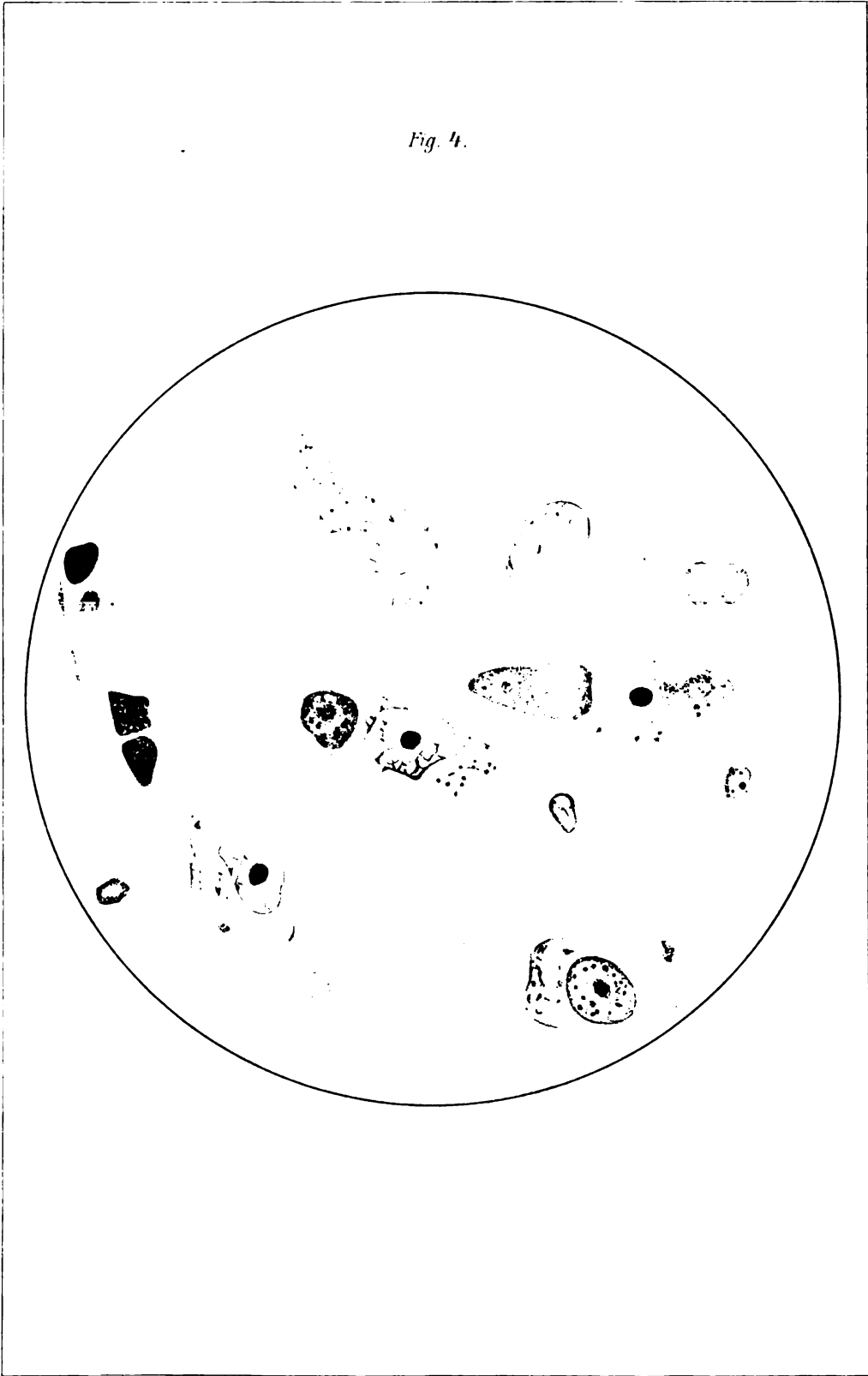
Die alten Verfahren zur Züchtung anaërober Bakterien waren alle mehr oder weniger umständlich, weil es Schwierigkeiten machte, den Luftsauerstoff von den Kulturen fernzuhalten. Zum ersten Male gelang es Tizzoni und Cattani<sup>1)</sup> im Jahre 1891, anaërobe Bakterien unter freiem Luftzutritt zu züchten, indem sie Tetanusbacillen auf Kaninchenblut zum Wachstum brachten. Später glückte es v. Hibler<sup>2)</sup>, auf einem aus Gehirnbrei hergestellten Nährboden strenge Anaëroben ebenfalls unter freiem Luftzutritt zu züchten. Im Jahre 1905 haben dann Tarozzi und Wrzosek noch bessere Züchtungsmethoden gebracht. Tarozzi<sup>3)</sup> benutzte dazu gewöhnliche Nährbouillon in Reagensröhrchen, in die er je ein frisches Organstück hineingebracht hatte. Ja, es genügte schon, wenn er ein frisches Organstück mehrere Stunden in einem Bouillonröhrchen liegen ließ und erst kurz vor der Impfung des

1) La Riforma med. 1891.

2) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXV. p. 603.

3) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVIII. p. 619.

Fig. 4.



M. Landberg, phot.

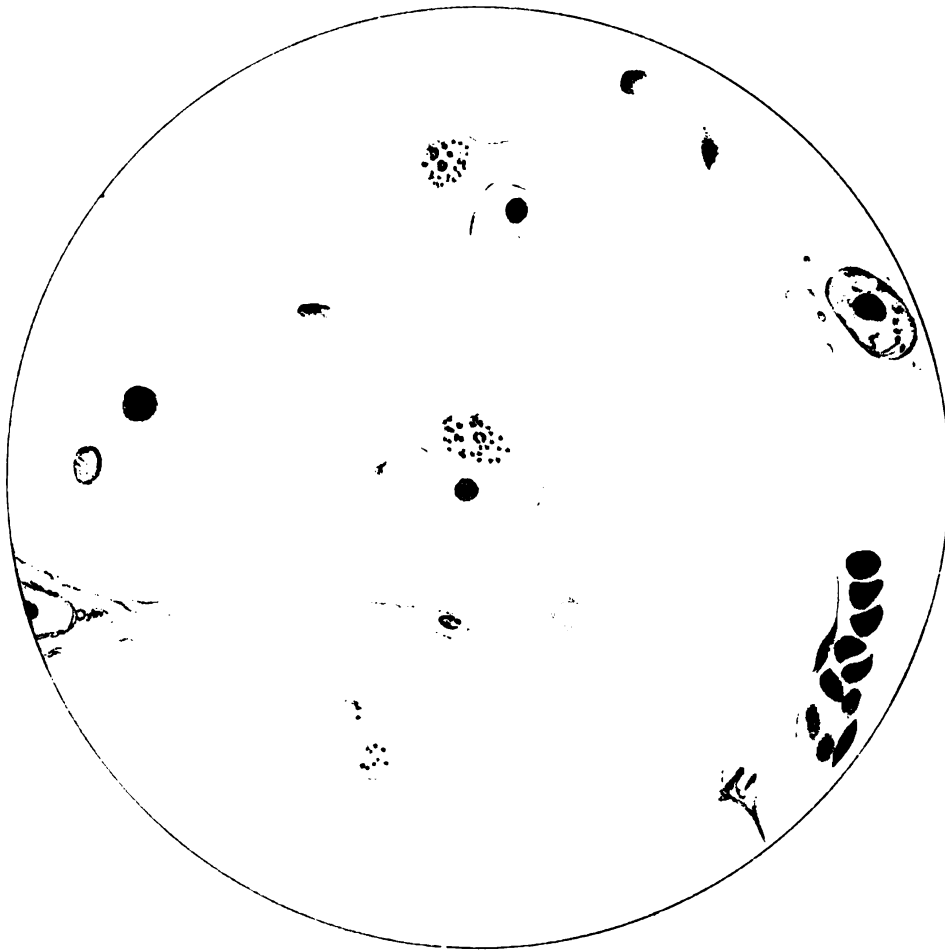
Verlag von Gustav Fischer in Jena

Druck von Johannes Ambrosius in Jena





*Fig. 5*



W. 2. 12. 1907

Verf. Dr. Gustav Fischer, Straß.

Dr. Arnold, am. Inst. Jena



Röhrchens herausholte. Am besten eignete sich dazu ein Stück Leber, Niere oder Milz, weniger ein Stück von einer Lymphdrüse, am schlechtesten ein Stück Fleisch. Wrzosek<sup>1)</sup> hat noch in demselben Jahre diese Angaben auf Grund früherer und neuerer Erfahrungen bestätigt und im folgenden Jahre<sup>2)</sup> gezeigt, daß die Anaëroben auch wachsen, wenn man die Bouillon, mitsamt dem tierischen Gewebsstück, bei 120° C durch 15 Minuten sterilisiert. Es bedeutet dies eine Vereinfachung gegenüber der Tarozzischen Methode, da man sich nun nicht mehr die Mühe zu machen braucht, ein Gewebsstück aus einem frisch getöteten Tiere auf sterile Weise zu entnehmen und in Bouillonröhrchen zu übertragen, wobei nicht immer Verunreinigungen ausgeschlossen werden können.

Vielen Bakteriologen wird freilich das Aussehen des Wrzosekschen Nährbodens nicht sehr gefallen, da nicht nur das Gewebsstück selbst, sondern auch die Niederschläge, die beim Sterilisieren in dem ausgetretenen Gewebssaft entstehen und oft an den Wänden des Reagenzgläschens haften bleiben, sehr störend wirken.

Harrass<sup>3)</sup> hat dann 1906 eine Leberbouillon mit Leberbrei und eine Gehirnbouillon mit Gehirnbrei hergestellt und diese Nährböden als sehr geeignet für die Züchtung von Anaëroben befunden. Der Nährboden wird unter besonderen Schutzmaßregeln gegen Verunreinigung in Erlensmeyerschen Kölbchen aufbewahrt, aus denen vor dem Gebrauch etwa 10 ccm Flüssigkeit nebst Organbrei in sterilisierte Reagenzgläser gegossen werden. Die Flüssigkeit, die über dem Leberbrei steht, bleibt meist schön klar und durchsichtig und trübt sich erst nach erfolgter Impfung, während die Flüssigkeit der Hirnbouillon von vornherein eine milchige Trübung zeigt. Harrass erwähnt der Vollständigkeit halber, daß er auch dann Wachstum erhielt, wenn er nur die im Erlensmeyerschen Kölbchen über dem Organbrei stehende Flüssigkeit in das Kulturröhrchen füllte, ohne daß Organbrei mitübertragen wurde. Allerdings soll dann das Wachstum wesentlich geringer gewesen sein.

Da für manche das Uebergießen des Nährbodens aus dem Kölbchen in die Reagenzröhrchen noch immer zu umständlich ist, und auch der Parenchymbrei in den Reagenzröhrchen störend wirkt, so erschien es mir wünschenswert, einen Nährboden herzustellen, der sich leicht, rasch und billig anfertigen ließe, gleich in Reagenzröhrchen abgefüllt und darin aufbewahrt werden könnte und außerdem vollständig klar und durchsichtig wäre, wie die gewöhnlichen Bouillonröhrchen. Ich ließ mir deshalb eine Bouillon aus Rinderleber<sup>4)</sup> herstellen, und zwar in der gleichen Weise, wie die gewöhnliche Nährbouillon für aërobe Bakterien zubereitet wird. Nur wurde statt  $\frac{1}{2}$  kg Rindfleisch die gleiche Gewichtsmenge Rinderleber, die in einer Fleischmühle fein zerkleinert war, mit 1 l Wasser vermischt und dann 1—2 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Hierauf wurde das Gemisch  $\frac{1}{2}$  Stunde gekocht und dann durch Leinwand gepreßt, worauf die ausgepreßte Flüssigkeit in der bekannten Weise, unter Zusatz von Pepton, Kochsalz und Sodalösung, fertig gekocht und schließlich filtriert wurde. Die Bouillon, die ich dabei erhielt, füllte ich in Reagenzgläser ein und sterilisierte diese im Dampfkochtopf. Die

1) Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 48.

2) Münch. medicin. Wochenschr. 1906. No. 51.

3) Münch. medicin. Wochenschr. 1906. No. 46.

4) Am besten eignet sich frische Rinderleber dazu, die noch nicht auf Eis gelegen hat.

Reagenzgläschen enthielten je 10 ccm Leberbouillon und sahen auf dunklem Grund opaleszierend aus, gegen das Licht gehalten aber erschienen sie ganz klar und durchsichtig. Irgend welche Leberpartikelchen waren darin nicht enthalten.

Meine Leberbouillonröhrchen unterscheiden sich dadurch von den Harrassschen, daß sie in einem Zuge fertiggestellt werden, keinen Parenchymbrei enthalten und wie gewöhnliche Bouillonröhrchen aufbewahrt werden können.

Um das Wachstum der anaëroben Bakterien in der Leberbouillon zu studieren, benutzte ich die Bacillen des Tetanus, des malignen Oedems und des Rauschbrandes, sowie den Bacillus botulinus und den Bac. putrificus Bienstock in Reinkultur. Der Tetanusbacillus wuchs darin so stark, wie die aëroben Bakterien in der gewöhnlichen Fleischwasserpeptonbouillon, die übrigen 4 anaëroben Bacillen dagegen viel üppiger. Nicht nur war die Trübung außerordentlich stark, sondern es hatte sich auch auf dem Boden des Reagenzgläschens eine mehrere Millimeter hohe Anhäufung von Bakterien gebildet. Die Kulturen ließen dabei Gasbläschen aufsteigen und verbreiteten die bekannten unangenehmen Gerüche. Die jüngeren Bacillen zeigten keine Degenerationsformen. Viele von ihnen bildeten Sporen, doch war die Sporenbildung der Tetanusbacillen nicht so gut, wie bei den Agarstichkulturen. Einer meiner Tetanusstämme bildete gar keine Sporen in der Leberbouillon. Wurden einige Tropfen einer 24-stündigen oder älteren Tetanuskultur Mäusen unter die Haut gebracht, so starben diese am folgenden Tage an Tetanus. Wurden die Tetanusbacillen in der Leberbouillon unter Luftzutritt längere Zeit gezüchtet, so ließ die Giftigkeit der Kulturen nach. Doch konnte ich immer wieder giftige Leberbouillonkulturen erhalten, wenn ich das Imptmaterial aus Agarkulturen entnahm.

Worauf beruht nun die für die Entwicklung der anaëroben Bakterien so günstige Wirkung der Lebersubstanz? In einem Vortrage, den ich am 21. März d. Js. in der Berliner Militärärztlichen Gesellschaft<sup>1)</sup> „Ueber einige einfache neue Methoden zur Züchtung von Reinkulturen anaërober Bakterien“ gehalten habe, sagte ich darüber folgendes: „Ich will hier nur anführen, daß ich gelegentlich früherer Versuche, die ich über die Sauerstoffbindung in Konservenbüchsen anstellte, gefunden habe, daß auch die Lebersubstanz allmählich Sauerstoff bindet“. Ich stützte mich dabei auf folgenden Versuch. Zwei Büchsen von etwa 500 ccm Inhalt, die ich am 28. Februar 1907 zu  $\frac{2}{3}$  mit einem Gemisch von gleichen Mengen zerkleinerter Leber und Pepton-Kochsalzlösung gefüllt hatte, ließ ich luftdicht zulöten und im Kochschen Dampfkochof sterilisieren. Hierauf wurden sie in den Brutschrank gestellt und täglich einmal durchgeschüttelt. Die eine Büchse wurde nach 4 Tagen unter Wasser geöffnet und der Sauerstoffgehalt der eingeschlossenen Luft vom Korpsstabsapotheker Dr. Strunk bestimmt. Es fanden sich darin nur noch 6,86 Proz. Sauerstoff an Stelle von etwa 20 Proz. Dagegen war die Kohlensäure auf 8,27 Proz. angestiegen. In der zweiten Büchse, die nach 8 Tagen zur Untersuchung kam, wurden nur 0,56 Proz. Sauerstoff, dagegen 12,64 Proz. Kohlensäure gefunden. Danach glaubte ich annehmen zu dürfen, daß die Lebersubstanz auch in den Bouillonröhrchen den von oben eindringenden Luftsauerstoff binden würde, und

1) Kurzes Referat in der Deutschen Militärärztl. Zeitschr. 1907. Heft 9.

daß dadurch das Wachstum der anaëroben Bakterien begünstigt werden könnte.

Auch Liefmann<sup>1)</sup> ist in seiner am 23. April d. J. erschienenen Arbeit „Ueber das scheinbar aërobe Wachstum anaërober Bakterien“ zu dem Ergebnis gekommen, „daß hier die bekannte Sauerstoffaufnahme durch die Gewebe eine Rolle spielt“. Wenn er aber behauptet, daß nur die Gewebe und nicht die gelösten Substanzen, die in die Bouillon übergegangen sind, zu reduzieren vermögen, so stehen dem die Erfahrungen entgegen, die ich mit meiner von Gewebspartikelchen freien Leberbouillon erhalten habe. Werden die Leberbouillonröhrchen ganz frisch geimpft, ohne daß sie vorher geschüttelt sind, so erhalten wir sehr üppige Kulturen der anaëroben Bakterien. Lassen wir sie jedoch einige Tage stehen oder schütteln wir sie so, daß Luft eindringt, so tritt eine Entwicklung der anaëroben Bakterien nicht mehr ohne weiteres ein. Aber auch in diesem Falle sind die Leberbouillonröhrchen für uns noch nicht verloren, denn wir können sie, wie ich mich oft überzeugt habe, zu jeder Zeit wieder brauchbar machen, indem wir sie in einem Wasserbade, das mit einem Einsatzgestell für Reagenzgläser versehen ist, mindestens 10 Minuten lang kochen<sup>2)</sup>. Dadurch werden die sauerstoffbindenden Substanzen in der Leberbouillon wieder so wirksam wie am Anfang. Auf diese Weise habe ich die Leberbouillon selbst nach 8 Wochen und noch später wieder vollständig auffrischen können. Der Erfolg hängt wesentlich davon ab, daß man jedesmal die gekochten Röhrchen rasch abkühlt, impft und in den Brutschrank stellt, ohne sie dabei zu schütteln. Dieses beschleunigte und dabei behutsame Vorgehen ist notwendig, um das zu schnelle Eindringen des Luftsauerstoffes zu verhindern. Ferner ist noch zu erwähnen, daß ich, um Impfmateriale aus einer Leberbouillonkultur in ein neues Leberbouillonröhrchen oder in einen Kolben zu übertragen, lange Platinnadeln benutzte, die unten zu einer kurzen dichten Spirale aufgewickelt waren, indem ich annahm, daß man mit einer solchen kleinen Spirale das Impfmateriale viel sicherer bis in die unterste Schicht der Nährflüssigkeit bringen konnte, als mit einer einfachen Oese. Alle diese Kunstgriffe, vom Auskochen angefangen, haben dazu beigetragen, um den Erfolg herbeizuführen. Bei einigen Versuchen, die darauf ausgingen, die Tetanusbacillen auch in Literkolben, die mit Leberbouillon gefüllt waren, zum Wachstum zu bringen, gelang dies vollkommen.

Harrass hat mit seiner vom Leberbrei abgegossenen klaren Bouillon nicht ein so gutes Wachstum erzielt wie mit einer Leberbouillon, die Lebersubstanz enthielt. Anscheinend hatte die Bouillon beim Abgießen zu viel Luft aufgenommen und war danach nicht durch Kochen aufgefrischt worden.

Bei meinen Büchsenversuchen, die ich vorher erwähnte, habe ich mich nicht nur auf die Prüfung des Gemisches von Leberbrei und Pepton-Kochsalzlösung beschränkt, sondern auch das Sauerstoffbindungsvermögen der gewöhnlichen Fleischwasser-Pepton-Bouillon untersucht. Dabei fand ich, daß auch diese in der geschlossenen Büchse Sauerstoff zu binden vermag. Da aber dieses Vermögen nicht ausreichte, um in den Bouillonröhrchen alle 5 anaëroben Bakterien<sup>3)</sup>

1) Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 17.

2) Selbst wenn die Bouillonröhrchen 4 Stunden lang gekocht waren, wuchsen die Anaëroben darin noch vorzüglich.

3) Es gelang mir nur, den Botulinus- und den Rauschbrandbacillus in den gewöhnlichen Bouillonröhrchen allein zu züchten. Uebrigens gibt v. Lingelsheim

zum Wachstum zu bringen, so nahm ich an, daß die Bindung des Sauerstoffes hier nicht rasch genug vor sich ginge. Ich machte deshalb den Versuch, die Sauerstoffbindung zu beschleunigen. Zu dem Zwecke setzte ich je ein Stück Platinschwamm zu den Bouillonröhrchen hinzu, indem ich annahm, daß der Platinschwamm als Katalysator beschleunigend auf die Sauerstoffbindung wirken würde. In der Tat erhielt ich nach diesem Zusatz Bouillonkulturen aller von mir benutzten Anaëroben. Die Platinschwammstücke, die ich dabei benutzte, waren etwas mehr als 1 g schwer. Zu jedem Röhrchen mit 10 ccm Bouillon setzte ich ein Stück hinzu und kochte dann die Röhrchen mindestens 10 Minuten im Kochtopf oder im Wasserbade. Nachdem sie rasch abgekühlt waren, impfte ich sie gleich mit den anaëroben Bakterien und stellte sie in den Brutschrank. Bei allen diesen Manipulationen wurde jedes Schütteln vermieden. Am nächsten Tage waren alle Röhrchen getrübt, mit Ausnahme eines mit Tetanus geimpften, das erst 1 Tag später trübe wurde. Es hatte ausnahmsweise nur einen Zusatz von 0,6 g Platinschwamm erhalten. Manchmal zeigte sich die Trübung nur im untersten Teil, um das Platinschwammstück herum, in den darüber stehenden Schichten dagegen nur undeutlich. Doch erkannte man auch hier sofort die Trübung, wenn man die betreffenden Röhrchen zusammen mit einem nicht geimpften Bouillonröhrchen gegen das Licht hielt. Ließ ich die Kulturen noch länger im Brutschrank, so wurde die Trübung stärker. Auch bildeten sich dann in vielen von den neu entwickelten Bacillen Sporen. Die Platinschwammstücke hatten dabei keine Veränderung erlitten und konnten immer wieder von neuem verwendet werden, nachdem sie gekocht, abgespült, getrocknet und ausgeglüht waren. Man darf nicht zu kleine Platinstückchen benutzen, da sonst kein Wachstum eintritt. Der Erfolg hängt hier nicht allein von dem beigefügten Platinschwamm, sondern auch von der Beschaffenheit der Bouillon ab. Eine Bouillon, die nachträglich bei der Sterilisierung getrübt und dann wieder filtriert und sterilisiert worden ist, eignet sich schlecht zur Züchtung von Anaëroben.

Mit Rücksicht darauf, daß die Platinschwammstücke sehr teuer sind, suchte ich nach einem billigeren Ersatzmittel. Da sich der Platinschwamm dem Wasserstoffsperoxyd gegenüber wie eine schwache Katalase verhielt, so kam ich darauf, auch andere Katalasen, vornehmlich unsere neueste Katalase, das von Much & Römer oder vom Behringwerk hergestellte sterile Hepin zu versuchen. Ich konnte dabei feststellen, daß es genügt, 1 Tropfen Hepin vermittelt einer kleinen Pipette zu einem Bouillonröhrchen hinzuzusetzen, um im Brutschrank bis zum nächsten Tage eine gute Kultur von Botulinus-, Oedem-, Rauschbrand- und Putrificus-Bacillen zu erhalten. Nur der Tetanus wuchs darin nicht. Bevor man das Hepin zusetzt, muß man das Bouillonröhrchen auskochen, um den Sauerstoff auszutreiben, da sonst das Wachstum der anaëroben Bakterien ausbleibt. Das Hepin war farblos, klar und steril. Das Bouillonröhrchen wurde durch den Zusatz von 1 Tropfen Hepin nicht getrübt. Das Hepinfläschchen wurde nach jedesmaligem Gebrauch wieder mit seinem Gummistöpsel verschlossen und in den Eisschrank gestellt, wo es sich sehr gut hielt.

---

im Handbuch von Kolle und Wassermann an, daß größere Bouillonmengen, namentlich im frisch bereiteten Zustande, meist ein gutes Wachstum des Tetanus gestatten, ohne daß der Sauerstoff abgehalten wird.

Unter Anwendung der obenerwähnten Kunstgriffe gelang es mir auch, die Botulinus-, Oedem-, Rauschbrand-, Putrificus- und Tetanusbacillen in Reagenzröhrchen zu züchten, die mit 10 ccm einer 1- oder 2-proz. Traubenzuckerbouillon gefüllt waren. Die Tetanusbacillen wuchsen auch sehr gut in Literkolben<sup>1)</sup>, die mit Traubenzuckerbouillon gefüllt waren. Dabei blieb die Giftigkeit der Kultur erhalten. War der Literkolben nur bis zur Hälfte gefüllt, so kam es nicht zur Vermehrung der Tetanusbacillen, da wegen der großen Oberfläche und der geringen Tiefe der Flüssigkeit der Sauerstoff der Luft gar zu leicht bis zum Boden eindringen konnte.

Freilich darf die Zuckerbouillon bei der Zubereitung nicht zu viel gekocht worden sein, wie z. B. in solchem Fall, wo während der Sterilisation Trübungen eintreten. Es kann dann vorkommen, daß der Gehalt an Traubenzucker zu stark zurückgeht. Ob die Traubenzuckerbouillon zur Züchtung anaërober Bakterien geeignet ist, kann man dadurch erfahren, daß man mit der Fehlingschen Lösung den Traubenzuckergehalt feststellt. Trat die bekannte ziegelrote Trübung ein, so fand ich die Traubenzuckerbouillon brauchbar.

Man kann übrigens das Wachstum in der Zuckerbouillon sehr begünstigen, wenn man in der oben geschilderten Weise Platinschwamm oder Hepin zusetzt.

Auf Grund der geschilderten Versuche kann ich sowohl die Leberbouillon für sich allein, als auch die Traubenzuckerbouillon und die gewöhnliche Bouillon mit einem Zusatz von Platinschwamm zur Züchtung anaërober Bakterien empfehlen und dabei die Benutzung der angegebenen Kunstgriffe, welche die Beimengung von Luftsauerstoff so viel als möglich verhüten sollen, dringend anraten. Diese Kunstgriffe sind nicht etwa neu, sondern von manchen bisher nur unvollständig angewendet worden.

Vor allem dürfte die Züchtung der Tetanusbacillen in Kolben, welche mit 2-proz. Zuckerbouillon gefüllt sind, die Herstellung des Tetanustoxins erleichtern, das zur Serumgewinnung und zur Wertbestimmung des Serums gebraucht werden soll oder bei den weiteren experimentellen Arbeiten über die Wirkung des Tetanusgiftes Verwendung zu finden hätte.

Mit Rücksicht hierauf muß man die Forderung stellen, daß die Nährböden, die für die Züchtung der anaëroben Bakterien in Vorschlag gebracht werden, auch für die Züchtung der Tetanusbacillen geeignet sind. Man sollte deshalb die Prüfung solcher Nährböden besonders mit Tetanusbacillen vornehmen. Auch sollte man stets verlangen, daß die Nährböden vollständig klar und durchsichtig sind, sowie daß die damit gewonnenen Tetanuskulturen Tetanusgift bilden.

---

1) Diese Literkolben wurden 20 Minuten lang gekocht, um die Luft auszutreiben, dann vorsichtig in Eiswasser gestellt und nach der Abkühlung gleich geimpft.

## Inhalt.

- Belonowsky, G.**, Zur Frage der Wirkung steriler Nahrung auf die Darmflora, p. 322.
- De Waele, H.**, L'Aggressine et la dialyse, p. 360.
- Gierke, E.**, Die intracelluläre Lagerung der Syphilispirochäten, p. 348.
- Holle**, Beitrag zur Frage der Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für nicht pathogene Mikroorganismen beim normalen und beim dürstenden Tiere, p. 325.
- Kuntze, W.**, Weitere Bemerkungen zur Farbstoffbildung des *Bacillus prodigiosus*, p. 299.
- Lentz, Otto**, Ein Beitrag zur Färbung der Negrischen Körperchen, p. 374.
- Marks, Lewis H.**, Ueber einen für Fische pathogenen *Bacillus* (*Bac. piscicidus haemolyticus*), p. 370.
- Pfahl, E.**, Die Züchtung anaërober Bakterien in Leberbouillon, sowie in Zuckerbouillon und in gewöhnlicher Bouillon mit einem Zusatz von Platinschwamm oder Hepin unter Luftzutritt, p. 378.
- Plaut, H. C.**, Ueber die Geißeln bei fusiformen Bacillen, p. 310.
- Rissling, Paul**, Beiträge zur Biologie normaler Tiersera, p. 363.
- Russ, Viktor K.**, Ein Beitrag zur kulturellen Differenzierung der Kapselbacillen, p. 289.
- Rywosch, D. und Rywosch, Marie**, Ueber die Katalyse des  $H_2O_2$  durch Bakterien, p. 295.
- Saling, Th.**, Spirochätenähnliche Spiralfasern (sogenannte „Silberspirochäten“) im Gewebe eines Schweinefötus, p. 339.
- Tizzoni, Guido und Bongiovanni, Alessandro**, Ueber den Mechanismus der Zerlegung des Wutvirus in vitro durch das Radium. VII, p. 353.
- Vessprémi, D.**, Züchtungs- und Tierversuche mit *Bacillus fusiformis*, *Spirochaete gracilis* und *Cladotrix putridigenes*. Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen gangränösen Entzündungen, p. 332.
- Wittneben, Wilh.**, *Streptococcus lanceolatus* als Erreger einer Meerschweinchenepizootie, p. 316.

---

*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.*

---



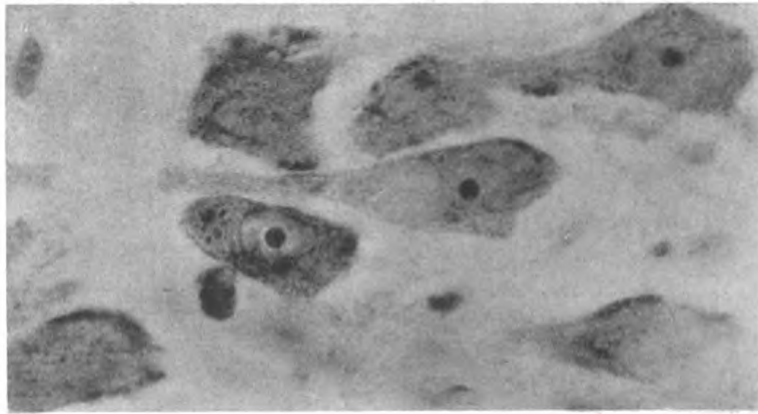


Fig. 1

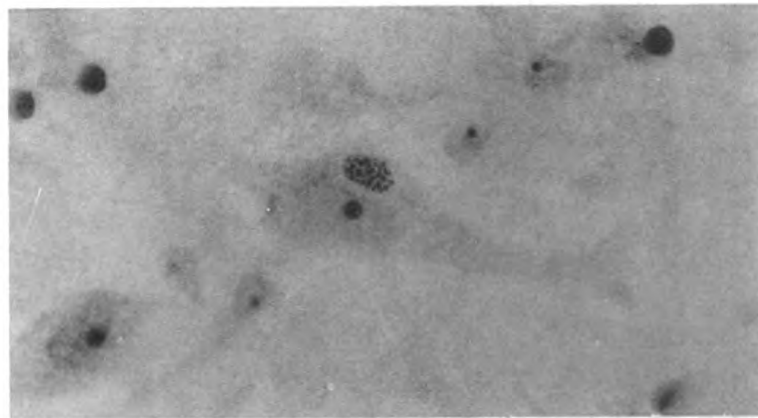


Fig. 2

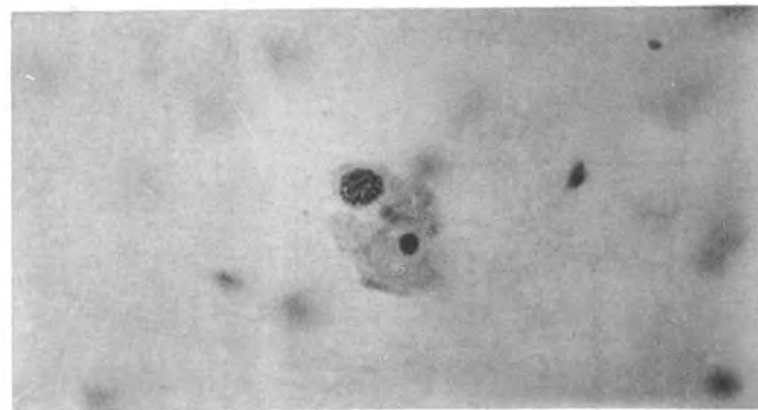


Fig. 3



# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLIV. Heft 5.

*Nachdruck verboten.*

## Die Toxizität der filtrierten Kulturen der Choleravibrionen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bologna.  
Direktor Prof. G. Sanarelli.]

Von Prof. **Guido Q. Ruata**, beauftragtem Direktor.

(Deutsch von Prof. O. v. Negri z. M.)

Die Forschungen über die Toxine der Choleravibrionen haben von einer Seite zur Bestimmung des Vorhandenseins eines Endotoxins geführt, welches aus den mikrobischen Körpern gezogen werden kann, wenn diese, aus welcher Ursache es auch sei, sich auf dem Wege der Auflösung befinden. Da aber die Auflösung der bakterischen Zelle inhärent ist, so ist es vermittelt der Vaccination der Tiere und des Menschen durch lebende, abgeschwächte oder tote Kulturen, oder durch die Aufgußprodukte von Vibrionen wohl möglich, eine aktive Immunisierung gegen die Cholera zu erhalten.

Andererseits haben verschiedene Fachmänner zahlreiche Forschungen ausgeführt, um festzustellen, ob die Choleravibrionen ein lösbares Toxin ausscheiden können, welches fähig sei, das Bild der Krankheit wiederzugeben und den Tieren Immunität zu verleihen. So erhielt z. B. Petri<sup>1)</sup>, indem er Vibrionenkulturen in peptonisiertem Wasser mit Porzellankerzen filtrierte, eine Flüssigkeit, die mit Indol, Tyrosin und Ammoniak vermischt, ein lösbares thermoresistentes Toxin enthielt, welches er als ein Toxopepton betrachtete. Die filtrierte Flüssigkeit tötete bei Inokulation auf endoperitonealem Wege ein Meerschweinchen von 196 g Gewicht bei einer Dosis von 2 ccm, während die tödliche Dosis der vollen sterilisierten Kultur bedeutend geringer war. Nach Petri sind die Stoffe, wie z. B. Ammoniak, die sich in der filtrierten Flüssigkeit mit dem Toxin vorfinden, nicht in solcher Quantität vorhanden, um der Flüssigkeit eine vergiftende Kraft zu erteilen. Hueppe<sup>2)</sup> und Scholl<sup>3)</sup> züchteten die Vibrionen in den Eiern 15 Tage hindurch im Brutschranke, schlugen sodann mit Alkohol nieder, behandelten den gesammelten und bis zur Lösung des Toxins ausgetrockneten Niederschlag mit Wasser und erhielten so eine Flüssigkeit, welche binnen wenigen Minuten die auf endoperitonealem Wege inokulierten Meerschweinchen tötete. Gruber und Wiener<sup>4)</sup> bewiesen aber, daß die Toxizität der Wirkung der in der Flüssigkeit zurückgebliebenen Stoffe, nämlich Alkohol und Schwefelwasserstoff, zu verdanken war. Gamaleïa<sup>5)</sup> hat zwei Arten von Choleratoxinen beschrieben, die sich in der Aufgußflüssigkeit der Vibriokulturen vorfinden; das eine ist thermolabil und bringt bei den Kaninchen Diarrhöe hervor; das andere ist thermoresistent und vergiftet sie, ohne Diarrhöe hervorzubringen.

1) Arbeiten aus dem k. Gesundheitsamte. Bd. VI. 1890. p. 374.

2) Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 53.

3) Arch. f. Hygiene. 1892.

4) Wien. klin. Wochenschr. 1892. No. 48.

5) Archives de méd. expér. 1892.

Gamaleïa hat seine Versuche mit aufgeweichten Vibrionen angestellt, weswegen seine Toxine, wegen der Auflösung des mikrobischen Körpers, mehr als ein Produkt der aktiven Sekretion, als endocellularer Herkunft betrachtet werden müssen. Auch Wesbrouk<sup>1)</sup> hat ein Cholera-toxin in Kulturen von auf Alkalialbumin gezüchteten Vibrionen beschrieben. Ransom<sup>2)</sup> hat ein sehr aktives, durch Filtrierung aus Bouillonkulturen gewonnenes Toxin studiert, womit auch Behring<sup>3)</sup> sich beschäftigt hat. Es widersteht einer Temperatur von 100° C und wirkt auf Meerschweinchen augenblicklich nach der Inokulation, indem es eine sehr heftige Schwächung und Hypothermie hervorruft und, wenn in starken Dosen inokuliert, die Tiere fast sofort tötet. Mit diesem Toxin ist es nach Ransom möglich, die Tiere zu immunisieren und ein antitoxisches Serum zuzubereiten. Dieser Autor sagt aber nicht, wie alt seine Kulturen waren, als er sie filtrierte, und Pfeiffer glaubt, daß es sich um alte Kulturen handelte, und daß das Toxin von der Auflösung der Vibrionen herrühre; deswegen haben eben Metschnikoff, Roux und Salimbeni<sup>4)</sup> die Frage des löslichen Toxins wieder aufgenommen.

Sie machten einen Vibrio der Cholera von Preußen vom Jahre 1894 dadurch giftig, daß sie ihn abwechselnd durch das Bauchfell der Meerschweinchen und durch Kollodiumsäcke nach Sanarelli durchgehen ließen und durch direkte Inokulation ins Bauchfell der Meerschweinchen. Sie erhielten so einen Keim, welcher fähig war, vermittelt intraperitonealer Inokulation zu  $\frac{1}{160}$  einer Agarkultur ein Meerschweinchen zu töten. Sodann wurde der Vibrio in peptonisiertem und gelatinisiertem, nach der Formel von Sanarelli<sup>5)</sup> zubereitetem Wasser gezüchtet. Die Toxizität fing von der 24. Stunde an sich kundzugeben, und erreichte ihr Maximum vom 3. zum 4. Tage. Das Giftvermögen nahm in der Folge ab, in dem Maße, wie die Kulturen alkalisch und riechend wurden. Man stellte so ein Toxin dar, welches ein 300 g schweres Meerschweinchen in 16 bis 24 Stunden bei einer Dosis von  $\frac{1}{3}$  ccm pro 100 g tötete. Durch Hinzufügung von ein wenig Serum zum Nährmittel wurde der Nutzeffekt vermehrt.

Das so dargestellte Toxin ist, wie das nach Ransom, thermostabil; die vereinte Wirkung der Luft und des Lichtes schwächen es ab, während man es in mittelst der Flamme geschlossenen Glasröhren auch 6 Monate lang aufbewahren kann. Die in den Tieren durch dieses Toxin hervorgerufene Vergiftung ähnelt dem pathologischen Bilde, welches der Injektion von virulenten Kulturen folgt. Dieses Toxin wurde zur Immunisierung verschiedener Tiere, besonders von Pferden, verwendet, um so anticholeraisches Serum zu erhalten. J. Courmont und Doyon<sup>6)</sup> wollten kurz darauf bestätigen, daß der Cholera-vibrio „de son vivant“ lösliche und filtrierbare Toxine ausscheidet; da sie aber 13, 14 und 21 Tage alte Kulturen verwendeten, ist wohl die Annahme nicht ungerechtfertigt, daß die Toxizität der Filtrate, wie wir Gelegenheit haben werden zu sehen, zum großen Teile der Auflösung der bakterischen

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1894.

2) Deutsche med. Wochenschr. 1895. p. 457.

3) Ebenda. 1898. p. 294.

4) Annales de l'Institut Pasteur. T. X. 1896. p. 257.

5) Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. 1891. No. 14—16.

6) Arch. de Physiol. norm. et path. 1896. p. 785.

Körper zuzuschreiben sei. Collina<sup>1)</sup> bereitete filtrierte Bouillonkulturen (ohne aber das Alter anzugeben!), welche, obwohl mit hämolytischen Eigenschaften behaftet, bei Inokulation in Versuchstiere niemals eine deutlich toxische Wirkung zeigten. Kraus<sup>2)</sup> studierte das Toxin eines „Vibrio von Nasik der Sammlung des Instituts Pasteur, welcher in Indien von Dr. Simond aus dem Kote von Cholera-kranken isoliert worden war. Die filtrierten Kulturen solcher Vibrionen geben ein sehr aktives thermolabiles Toxin, welches bei einer Temperatur von 58° C vernichtet wird und durch Chlor, Phormium, Phosphorsäure und schwefelsaures Ammonium abgeschwächt werden kann. Für Kraus ist der Vibrio Nasik kein Cholervibrio, denn den Ideen Pfeiffers und seiner Schule folgend, bestreitet er, daß die authentischen Cholervibrionen ein lösbares Toxin ausscheiden. Außerdem fanden Kraus und Příbram<sup>3)</sup>, indem sie die Vibrionen studierten, die von Gotschlich bei El Tor von den nicht mit Cholera behafteten Mekkapilgern aus Hedjaz isoliert wurden, daß betreffs der Toxinproduktion diese Bacillen dieselben Eigenschaften darbieten, wie der Vibrio Nasik. In dieser Schrift erklärt Kraus, daß es ihm — wie anderen Autoren — niemals gelungen sei, aus den Bouillonkulturen von Cholervibrionen ein Toxin nach Metschnikoff, Roux und Salimbenis Methode darzustellen, und daß er deshalb ein Parteigänger der Theorie von Pfeiffer sei, nach welcher das Cholera-toxin kein Produkt der Ausscheidung des Vibrios ist, sondern ein endocelluläres Toxin; dennoch meint er, gegenüber den Ergebnissen des Vibrios von Nasik und jenes von El Tor, daß man die Frage der Ausscheidung des Toxins noch nicht als definitiv gelöst betrachten kann. Es ist aber gut, zu erwähnen, daß Gotschlich selbst die 38 von ihm zu El Tor isolierten Vibrionen — zu denen die 6 von Kraus studierten gehören — als „nicht choleraartige“ betrachtet, weil sie sich nicht vom spezifischen Serum agglutinieren lassen. Und diese nämlichen Resultate haben auch Kraus und Prantschhoff<sup>4)</sup> erhalten, als sie mit dem Vibrio von Nasik und den 6 ersten Vibrionen von El Tor auch die übrigen 32 studierten.

Ein von den Cholervibrionen ausgeschiedenes lösbares Toxin wird von Brau und Denier<sup>5)</sup> in einer Arbeit beschrieben. Aus dieser Beschreibung aber — wie die Autoren teilweise selbst zugeben — ersieht man, daß man dieses Toxin eher als ein Ausscheidungsprodukt, als ein Produkt der Auflösung der abgeschwächten Vibrionen, also als ein endocelluläres Gift betrachten soll.

Aus den hier kurz erwähnten Forschungen ergibt sich also, daß die von den verschiedenen Autoren als ein aktives Ausscheidungsprodukt der Cholervibrionen studierten Toxine einige Kennzeichen gemein haben, von denen, wie wir sehen werden, besonders die Thermostabilität und Abschwächung uns am meisten interessieren. Diese Eigenschaften sind dem Toxin von Nasik und jenem von El Tor nicht gemeinsam; aber wir dürfen dabei nicht vergessen, daß ihr Charakter als echter Cholervibrionen noch sehr bestritten ist, wie Gotschlich und Kraus und deren An-

1) La Clinica medica. 1902. No. 11.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 488.

3) Wien. klin. Wochenschr. 1905. p. 999.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 377 u. 480.

5) Annales de l'Institut Pasteur. 1906. p. 578. — Rapport au Président du Conseil quarantenaire d'Egypte. Alexandrie 1905.

hänger bewiesen haben. Andererseits stellen die meisten Autoren, so Pfeiffer<sup>1)</sup>, Kolle<sup>2)</sup>, Hetsch<sup>3)</sup> und Sanarelli<sup>4)</sup>, außer den schon erwähnten und noch vielen anderen, die Eigenschaft der Vibrionen, ein Toxin auszuschcheiden, entschieden in Abrede, geben hingegen, sich auf zahlreiche Beobachtungen stützend, ein Endotoxin zu, welches sich nur bei dem Tode und der Auflösung der mikrobischen Zelle befreien kann. Kurz vor seinem Tode veröffentlichte Dr. Allan Macfadyen<sup>5)</sup> eine sehr bemerkenswerte Schrift, in welcher er dieselbe Meinung in betreff eines endocellularen thermostabilen Toxins ausdrückte, das er aus den Körpern der Vibrionen gewonnen hatte, welches nicht nur genau das Bild der Krankheit wiedergab, sondern auch gute immunisierende Eigenschaften besaß. Macfadyen neigte zu der Meinung hin, daß das Toxin von Metschnikoff, Roux und Salimbeni und die anderen ihm ähnlichen aus den toxischen Elementen des *Vibrio* entstehen können, die sich durch Autolyse und Desintegration der Zellen befreit haben.

Da somit die Frage noch strittig ist, haben wir es für interessant und nützlich erachtet, sie mit neuen Versuchen wieder aufzunehmen, und nachzuforschen, ob die Vibrionen aktiv ein Toxin ausscheiden können, und welches die Beschaffenheit und Bedeutung desselben sind. Zu diesem Studium wurden wir auch von den früher von uns selbst, auf Anraten von Prof. Metschnikoff im Institut Pasteur<sup>6)</sup> zu Paris unternommenen Forschungen bewogen, welche schon damals einige Seiten der Frage hervorhoben und uns zu einem noch nicht eingeschlagenen und vielleicht guten Wege verhelfen konnten. Wir studierten damals, aus welcher Ursache die choleraartigen und choleraähnlichen Vibrionen, welche auf den gewöhnlichen Nährmitteln gezüchtet werden, in dem Maße, wie die Kulturen älter werden, ihre morphologischen Merkmale verlieren und — wie bekannt — sich in Granulationen verwandeln.

Indem wir die Modalitäten dieses Phänomens studierten, konnten wir feststellen, daß die Granulationen sich in den Kulturen — sowohl in flüssigen als auf festen Nährmitteln — alsbald heranzubilden; sie erscheinen schon nach 24 Stunden und binnen 10—12 Tagen sind alle Vibrionen verwandelt; diese Periode kann auch abgekürzt werden, wenn man die Kulturen im Brutschranke bei 37° C hält.

Nach einigen fruchtlosen Versuchen, welche dahin zielten, zu erkennen, ob die Vibrionen etwa Stoffe ausscheiden, die die obengenannte Verwandlung hervorzubringen im stande wären, konnten wir bezüglich der Ursachen einer solchen Verwandlung beweisen, „daß die Quantität des in den Vibriokulturen gebildeten Ammoniaks das Nährmittel für die Vegetation dergestalt ungeeignet macht, daß zuerst die Entwicklung geschwächt, sodann verhindert wird, und daß gleichzeitig die Vibrionen selbst, die somit auf einem ungünstigen Boden zu leben gezwungen sind, sich bis zur Erscheinung der beschriebenen Granulationen deformieren“.

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. p. 393; Bd. XV. p. 268.; Bd. XX. p. 217. — Deutsche med. Wochenschr. 1896. No. 7 u. 8.

2) Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. p. 50.

3) Ebenda. Bd. IV. p. 1099.

4) Ann. d. l'Inst. Pasteur. 1895. p. 129.

5) Lancet, August 25. 1906. p. 494. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Org. Bd. XLII. p. 365

6) Ann. de Inst. Pasteur. T. XIX. 1905. No. 10. p. 661.

Selbstverständlich verdankt man diese Tatsache nicht allein dem Ammoniak und seinen Salzen, sondern auch — wie wir schon bewiesen haben — allen jenen Stoffen, welche die Nährmittel in für die Entwicklung ungünstige Verhältnisse versetzen, wonach man im allgemeinen annehmen darf, daß die Granulationen nur die Folge des schädlichen Einflusses des Mediums sind, in dem die Keime zu leben gezwungen sind. Mit anderen Worten stellen sie also Involutionsformen dar. Ohne jedoch die Ursachen zu bestimmen, hatten auch Gotschlich und Weigang<sup>1)</sup> die Schnelligkeit wahrgenommen, mit welcher die Vibrionen den Involutionsphänomenen unterliegen. Sie konnten wahrnehmen, daß in einer Kultur von 48 Stunden bei 37° C nur 10 Proz. der Keime lebten und am 3. Tage nur 1 Proz. Bis zu welchem Punkte kann man bei diesen allgemeinen und in allen bekannten Mitteln konstanten Verhältnissen der Kulturen von Vibrionen hoffen, von ihnen eine Toxinausscheidung zu erhalten, im Falle sie, in normalen Zuständen, fähig sein sollten, sie hervorzubringen? Aus unseren Forschungen kann man ableiten, daß die beste Periode für eine solche Ausscheidung sich bis zu dem Augenblicke erstreckt, in welchem die Lebenstätigkeit des Mikroben abnimmt oder erlischt; in unserem Falle also, bis der Vibrio die Involutionsphänomene zeigt, welche ihren letzten Ausgang in den Granulationen haben. Wir haben gesagt, daß diese vom 1. Tage anfangen sich kundzugeben und am 3. schon zahlreich sind; in der Tat aber tritt die Produktion des Ammoniaks viel früher ein, und da die Granulationen das letzte Ergebnis seiner Wirkung auf die Keime darstellt, ist es nicht unlogisch, anzunehmen, daß die vom Ammoniak herrührende Abschwächung der mikrobischen Aktivität ebenfalls früher anfängt und sich durch eine Zeitperiode hindurch fortsetzt, in welcher sie noch nicht sichtbar hervortritt, um endlich zur Granularform zu gelangen, welche die vollendete Tatsache anzeigt.

Wenn wir also die Möglichkeit einer Toxinausscheidung von seiten der Vibrionen annehmen, können wir schließen, daß die Sekretionsperiode nur eine sehr kurze ist. Um von anderen Fällen nicht zu sprechen, hat Marmorek<sup>2)</sup> einen bezüglich der Endschlüsse analogen, wenn auch in den Modalitäten ganz verschiedenen Vorfall für den Bacillus der Tuberkulose<sup>3)</sup> beobachtet. Der Autor behandelt ausführlich die verschiedenen Phasen des Lebens und der Entwicklung des Bacillus von Koch. Er besteht auf den verschiedenen Lebens- und Wachstumsphasen des Bacillus von Koch; die jungen, von ihm als „primitive“ bezeichneten Bacillen würden außer verschiedenen Färbungsreaktionen auch verschiedene biologische Eigenschaften besitzen, denn diese jungen Bacillen, welche eine sehr dünne Wachs- und Fetthülle haben, sind für die zarte Arbeit der Toxinausscheidung besonders geeignet. Daß es in der Tat so zugeht, wird durch die Beobachtung bewiesen, daß die Sekretion des Tuberkulins in gleichem Schritte mit der Verwandlung des primitiven Bacillus in den älteren Bacillus geht, was man sowohl am veränderten Aussehen des oberflächlichen Häutchens erkennt, das früher wachsartig und durchsichtig war und jetzt warzig und undurchsichtig ist, als auch am eigenartigen Geruche. Dieser Vergleich scheint uns angemessen, denn welches auch die Ursachen seien, wir haben sowohl im Vibrio als im Bacillus von Koch eine tiefgehende Verwandlung

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895. p. 376.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895. p. 376.

3) Archives générales de médecine. 24. nov. 1903. No. 47.

der „primitiven“ Eigenschaften der Mikroben in der vollen Normalität ihrer morphologischen und biologischen Eigentümlichkeiten. Diese Verwandlung übt auch einen sehr starken Einfluß auf das Vermögen der Toxinausscheidung aus, welches in einem *Vibrio* schon festgestellt, im anderen verdächtig ist.

Es würde gewiß nicht schwierig sein, auch für andere Mikroben ähnliche Vorfälle festzustellen, welche übrigens allen Beobachtern bekannt sind, und in denen die Produkte der Veränderung der Kulturmittel, dank dem Stoffwechsel, gewiß die schädlichste aller Wirkungen auf die mikrobische Tätigkeit hervorrufen, und in denen die Veränderung der kulturellen Mittel, dank dem Stoffwechsel, die schädlichste aller Wirkungen auf die mikrobische Tätigkeit hervorrufen. Ein systematisches Studium zu dem Zwecke, für jeden Keim den spezifisch geeignetsten Nährboden zu finden, würde vielleicht, ungeachtet der Ausdehnung und der großen Schwierigkeiten, zu sehr wertvollen Ergebnissen führen. Nach der bisherigen Darlegung verdient das allgemeine Gesetz, kraft dessen die toxischen Mikroben, um das Maximum des Toxins auszuschcheiden, gute und normale Vegetationsverhältnisse verlangen, welche in einer mehr oder weniger langen Zeitperiode enthalten sind, hier fast keine Erwähnung.

Nach diesen Voraussetzungen mußte in betreff der Vibrionen ein sehr wichtiger Umstand aufgeklärt werden, d. h.: Wenn die Periode, in welcher die Vibrionen das Toxin ausscheiden können, sehr kurz ist und sein muß, wie kann man es erklären, daß das von einigen Autoren insbesondere beschriebene Toxin in ansehnlichem Quantum ausgeschieden zu werden und ein hohes toxigenisches Vermögen zu besitzen scheint?

Durch diese Frage treten wir also in das besondere Gebiet der Natur und Beschaffenheit des Toxins und der Art seiner Entstehung ein; und die Lösung dieser Frage ist der Grund, daß wir die Versuche wovon wir gerade sprechen wollen, unternommen haben.

Für unsere Forschungen studierten wir vor allem verschiedene Mikroben, welche als Cholera-„typische“ Vibrionen erkannt sind. Von Dr. Manouélian vom Institut Pasteur erhielten wir den *Vibrio* „Manila 13, 1906“ und den „B. 1903“ von Brau und Denier; von Dr. Binot einen „Saigon“, einen „Cassino“ und einen „Bombay“, die alle zur Sammlung des Institutes Pasteur gehören; von Prof. Kolle in Bern den *Vibrio* „Kolle 74“; allen genannten Herren drücken wir hier unseren verbindlichsten Dank aus.

Nach wiederholten Untersuchungen wählten wir unter diesen verschiedenen Keimen den *Vibrio* „Kolle 74“ aus, sowohl weil er der bekannteste ist, als auch weil seine Virulenz sehr gut erhalten werden kann.

Als Kulturmittel gebrauchten wir zuerst Peptongelatine nach Sanarelli (Pepton Defresne 2, Gelatine Comet 2, Chlornatrium 1, Wasser 100), welche für den Cholera-vibrio gewiß das Auswahlnährmittel ist.

Um das Giftvermögen immer gleichförmig zu dosieren, haben wir die Kulturen in Röhren ausgeführt, welche genau 10 ccm Flüssigkeit enthielten, und für die Inokulation verwendeten wir immer zu 10 gebrochene Quantitäten.

(Fortsetzung folgt.)



Nachdruck verboten.

## Die Pseudotuberkulose bei Fröschen.

Von Dr. **Livio Vincenzi**,

o. Professor für allgemeine Pathologie an der Universität von Sassari.

Mit 1 Figur.

Im Jahre 1890 beschrieb ich einen Bacillus der Pseudotuberkulose, welcher durch gewisse Kulturmerkmale vom Pfeifferschen Bacillus zu unterscheiden war.

Er zeigte sich als kurzes Stäbchen, unbeweglich, ohne Sporenbildung, fakultativ anaërob. In Gelatinestrichkultur bildete er einen dünnen, opaleszierenden, feuchten Belag. Auf der Gelatineplatte waren die oberflächlichen Kolonien den Kolonien des *Bacterium coli* sehr ähnlich, nur etwas heller und mit bläulichem Farbenton. Die in der Tiefe der Gelatine gebildeten Kolonien waren kreisrund, fein granuliert, mit 2, manchmal mit 3 konzentrischen Ringen. Auf Agarstrichkulturen entstand ein opaleszierender glänzender Ueberzug.

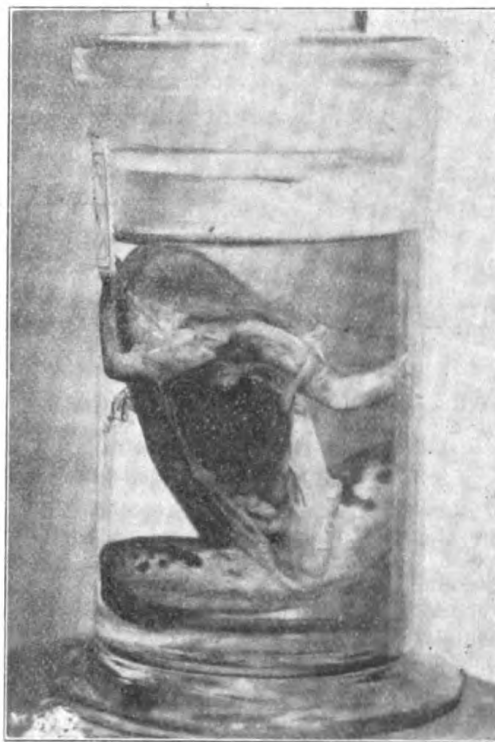
In den im festen Nährboden bei Zimmertemperatur gewachsenen Kulturen machte sich ein eigentümlicher starker Geruch geltend. Derselbe war dem Knoblauchgeruch sehr ähnlich.

Ich nannte den Bacillus „Bacillo opale agliaceo“<sup>1)</sup>.

Die Virulenz dieses Mikroorganismus war im Vergleiche zum Pfeifferschen Bacillus bedeutend stärker; er hatte aber dieselbe pathogene Wirkung auf Tiere. Meer-schweinchen und Kaninchen waren besonders leicht zu infizieren. Welchen Infektionsweg man einschlug, immer entwickelte sich die sogenannte Pseudotuberkulose.

Zweck dieser Mitteilung ist es, zu beweisen, daß der Bacillo opale agliaceo die Fähigkeit besitzt, sich dem Kaltblüterorganismus anzupassen. Für meine Experimente habe ich *Rana temporaria* gewählt. Die Frösche wurden subkutan und intraperitoneal infiziert. Nach verschiedener Zeit wurden einige getötet, andere ließ ich spontan zu Grunde gehen.

Die Infektion gelingt ohne Ausnahme, wenn die Kulturen in das Abdomen gebracht werden. Manchmal tritt der Tod nach 16—20 Tagen ein, gewöhnlich aber später.



1) Vincenzi, Ricerche sperimentali con un nuovo bacillo patogeno e considerazioni sulla così detta pseudotuberculosis zoologica. (Giorn. della R. Accademia di Medicina Torino. 1890. No. 6.)

Die pathologischen Veränderungen sind immer dieselben; man findet zahlreiche kleine, weißliche Knötchen in der Leber (s. Fig.), in der Milz, manchmal auch in den Nieren.

Aus den Knötchen wird der Bacillo agliaceo wieder in Reinkultur gezüchtet. Sein Wachstum ist üppiger und schneller bei Zimmertemperatur als bei Brüttemperatur; man bemerkt aber keine andere wesentliche Aenderung der kulturellen Eigenschaften. Die Virulenz des Bacillus wächst durch mehrere Passagen im Froschkörper nicht, und die Pathogenität für Meerschweinchen bleibt unverändert.

Subkutane Injektionen blieben bei Fröschen manchmal völlig erfolglos. Bei anderen Versuchen wurden dagegen viele kleine Knötchen im Pericardium, im Peritoneum und besonders in den Nieren gefunden.

Eine Lokalisation des Prozesses fand ich weder in der Leber noch in der Milz.

Aus den mikroskopischen Untersuchungen ergab sich, daß die Pseudotuberkulosebacillen in den Knötchen gewöhnlich in kleinen isolierten Herden liegen. Am besten färbt man sie mit alkalischem Methylblau.

Die Initialknötchen sind von kleinen Rundzellen gebildet. Die ältesten zeigen zahlreiche Herde von nekrotischen Zellen und Kernfragmente. In den Nieren fand ich die Bildungen von eosinophilen Zellen abgegrenzt.

Ob die Bacillen der Pseudotuberkulose im stande waren, im Kaltblüterorganismus dieselben charakteristischen Veränderungen wie beim Warmblüter hervorzurufen, war bis jetzt, soviel ich weiß, noch nicht erforscht.

Die Ergebnisse meiner Versuche entscheiden diese Frage im positiven Sinne.

Sassari, 11. Juni 1907.

*Nachdruck verboten.*

## Schwer färbbare Stäbchen bei einem Fall von multiplen Hautabscessen.

[Aus dem hygienischen Institut zu Kiel. Geheimrat B. Fischer.]

Von Dr. med. **Wilh. Wittneben,**

Assistenten am Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten.

Zur Krankengeschichte: 15-jähr. Knabe. Einige Monate vor der Erkrankung periproktitischer Absceß, der nach Oeffnung glatt heilt. Anfang Oktober 1906 multiple Abscesse unter der Haut, nicht vom Knochen ausgehend, an Beinen, Armen, Hals, Brust ohne nachweisbare Ursache. Das Unterhautzellgewebe ist gangränös fetzig; kein Fieber, Allgemeinbefinden wenig gestört, Lungen frei, Urin ohne Eiweiß und Zucker. Es bilden sich immer neue Abscesse bis kurz vor dem Tode am 1. Juni 1907. Zuletzt allgemeine Oedeme und Herzschwäche. (Diese Mitteilungen verdanken wir der Güte des behandelnden Arztes, des Herrn Medizinalrat Dr. v. Fischer-Benzon in Flensburg.)

In zwei Eiterproben vom 6. und 11. Dez. 1906, die bei frisch eröffneten Abscessen aus der Tiefe entnommen waren, fanden sich im Gram-Präparat mit Karbolfuchsin-Nachfärbung gramnegative, eben sichtbare gerade Stäbchen, etwas kleiner als Tuberkelbacillen in Rein-

kultur (1—2 in jedem Gesichtsfeld). Auch bei Färbung mit Fuchsin, Gentianaviolett, Methylenblau und nach Giemsa bis zu 1 Stunde heben sich die Stäbchen nur wenig mehr ab. Durch die Geißelfärbung nach Zettnow gelingt die Darstellung der Stäbchen nur unvollkommen, Geißeln sind nicht sichtbar. Keine Säurefestigkeit. Andere Mikroorganismen, wie der Tuberkelbacillus oder der *Actinomyces*-Pilz, wurden nicht gefunden. Eine dritte von einem bereits vor einiger Zeit geöffneten Absceß entnommene Eiterprobe vom 20. Jan. 1907 enthielt neben reichlichen grampositiven Kokken dieselben gramnegativen Stäbchen nur vereinzelt.

Aussaaten wurden gemacht auf Löffler-Serum, Agar, Blutagar und Kartoffeln. Aber nur von der ersten Probe zeigten sich nach 2 Tagen auf Blutagar 15—20 ganz kleine, punktförmige, wie in den Nährboden hineingewachsene Kolonien, die sich im Klatschpräparat als kleine gramnegative Stäbchen erwiesen, etwas größer und dicker als die im Ausstrich gefundenen. Anaërob angelegte Impfungen ergaben bei der ersten Probe vereinzelt kleine runde etwas bräunliche Kolonien, die gleichfalls aus gramnegativen, aber etwas großen Stäbchen bestanden, so daß ihre Identität mit den im Präparat gesehenen zweifelhaft blieb. Eine Weiterzucht mißlang. Anderweitige Kolonien waren nicht gewachsen. Die Aussaaten der 2. Probe blieben steril, die der 3. ergaben nur Kokken.

7 Tierversuche mit dem Eiter führten zu keinerlei Ergebnis. Von der 1. Probe wurde 1 ccm einem Meerschweinchen subkutan injiziert; von der 2. erhielt ein Kaninchen intravenös 5 ccm Aufschwemmung, je ein Meerschweinchen intraperitoneal 1 ccm Eiter, subkutan 1 ccm Eiter, intracardial 2 ccm Aufschwemmung, je eine weiße Maus subkutan bzw. intraperitoneal 0,5 ccm Eiter. Bei der 3. Probe wurde wegen der reichlichen Begleitskokken von Tierversuchen abgesehen.

Daß die Stäbchen zu der Entstehung der Abscesse in Beziehung stehen, wird man, da sie ja in den beiden ersten Eiterproben ausschließlich angetroffen wurden, nicht bezweifeln können, vielleicht waren sie größtenteils schon abgestorben, und sind dadurch die schwere Färbbarkeit und die mangelhaften Züchtungsergebnisse zu erklären.

Trotz dieses ungenügenden Ausfalls der Kulturen und Uebertragungsversuche scheint der Fall erwähnenswert, weil man mit der Möglichkeit rechnen muß, daß bei ähnlichen Erkrankungsfällen die Anwesenheit der Stäbchen, weil sie sich schwer färben und die Aussaaten meist steril bleiben, übersehen wird.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Bakteriologie der Parotitis epidemica.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Universität Moskau. Direktor: G. Gabritschewsky<sup>1)</sup>.]

Von Dr. W. Korentschewsky, Moskau.

Außer einer geringen Zahl Gelehrter (Bamberger, Vogel) betrachten alle übrigen die Parotitis epidemica als eine infektiöse und epidemische Krankheit. Aber nach der Ansicht einiger Autoren ist sie eine allgemeine Krankheit (Filatow, Eichhorst, Lemoine u. A.); andere betrachten sie als eine rein lokale kontagiöse Erkrankung (Niemeyer, Soltmann u. A.). Die letzteren erklären z. B. die Hodenmetastasen als direkte Virusübertragung durch die Hände des Kranken aus dem Munde in die Urethra.

Filatow (1) aber äußert folgende Meinung: „Parotitis epidemica gehört nicht zu den lokalen Krankheiten, d. h. sie ist keine infektiöse Entzündung der Speicheldrüsen; ihre Zugehörigkeit zu den allgemeinen Infektionskrankheiten ist daraus zu ersehen: 1) daß sie nur einmal im Leben den Kranken befällt, 2) daß sie einen cyklischen Lauf hat, 3) daß die allgemeinen Erscheinungen häufig den lokalen vorausgehen und nicht immer den letzteren an Intensität entsprechen und endlich 4) daß in manchen Fällen außer der glandulären Parotitis nicht nur die anderen Speicheldrüsen, sondern auch die Testiculi bei den Männern und die Mammae bei den Frauen u. s. w. (Gelenke, Endokard, Ohr) befallen werden.“

Als gewöhnliches lokales Symptom dieser Infektionskrankheit kommt nach Lemoine (2) die Parotitis vor als (häufig) Orchitis (23—35 Proz. nach Granier und Laveran), als (selten) Mastitis und andere Krankheitserscheinungen.

Fast immer garantiert die einmal überstandene Parotitis vor einer Wiederholung. Rezidive kommen selten vor [Busquet (3), Dieulafoy (4)]. Die Inkubation bei Parotitis dauert 1—3 Wochen, häufiger 10—14 Tage. Die meisten Gelehrten betrachten sie als ansteckend nicht nur in der Prodromalperiode, sondern auch in der Inkubationszeit und sogar auch nach der Genesung.

Human (5) hat sogar einen Fall von intrauteriner Ansteckung beobachtet. Die Mutter erkrankte an Parotitis im 8. Monat der Gravidität, wobei sie sich vorzeitig entband. Tags darauf zeigte sich beim Kinde eine Geschwulst in der linken Parotisgegend.

Alle diese Tatsachen bewegten die Forscher, den spezifischen Erreger dieser Krankheit zu suchen.

### I. Literaturübersicht.

Den ersten Versuch, den Erreger dieser Krankheit zu finden, machten Charrin und Capitan (6) im Jahre 1881. Sie untersuchten bakteriologisch das Blut von 6 Parotitiskranken und fanden viele Mikroben, hauptsächlich Rundformen, mitunter aber kurze, bewegliche Stäbchen. Im Urin waren sie nicht zu finden. Diese Versuche wurden bei den Schülern der Polytechnischen Schule auf Wunsch von Dr. Vedrènes.

1) Gestorben am 23. März 1907.

(7) unternommen, welche letzterer sämtliche Untersuchungen während der ganzen Epidemie veröffentlichte. Vedrènes bemerkt, daß Charrin und Capitan noch bei 8 Kranken Bacillen oder Mikrokokken, bald gewöhnliche, bald Diplokokken, manchmal auch Streptokokken fanden.

Die Aussaat des Blutes in Bouillon zeigte dieselben Mikrobenarten wie die bakterioskopischen Untersuchungen.

Tierversuche mit Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen blieben erfolglos.

In derselben Arbeit bemerkt Vedrènes, daß auch Pasteur und Roux Mikrobekulturen von Blut bei 2 Kranken zu erhalten versuchten, die Aussaat blieb aber steril. In einem schweren Parotitisfall fand Bouchard (8) dieselben Bakterien in großer Anzahl im Speichel, welcher am Eingang des Ductus Stenonianus entnommen wurde, und im eiweißhaltigen Urin.

Im Jahre 1885 fand Boinet (9) bei bakterioskopischer Untersuchung des Blutes von 15 Kranken Mikrokokken. Sie lagen bald einzeln, seltener in Form von Diplokokken, bald frei, bald in Blutgerinnseln eingeschlossen. Am meisten waren sie zu finden in Fällen, welche mit Komplikationen verliefen. Ausnahmsweise fand Boinet Bacillen, die Charrin und Capitan beschrieben haben, oder Streptokokken. Der Eiter aus einem Nackenabscesse, der während einer Parotitis entstand, enthielt Streptokokken und Staphylokokken pyogener Natur.

Netter (10) fand Mikrokokken im Blute und in der aus der Geschwulst entnommenen Flüssigkeit bei einem sehr schweren Parotitisfall, welcher mit Endocarditis kompliziert war.

Bordas (11) isolierte aus dem Blute Parotitiskranker einen Bacillus, den er in großer Anzahl im Speichel dieser Kranken fand und den er als spezifischen Erreger der Krankheit betrachtete.

Alle diese Untersuchungen waren nicht überzeugend wegen der Unvollkommenheit ihrer Untersuchungsmethoden. Bedeutend genauer und ausführlicher waren die Untersuchungen von Laveran und Catrin (12) im Jahre 1893. Die Autoren isolierten einen Diplococcus, dem sie mit großer Wahrscheinlichkeit eine ätiologische Bedeutung verliehen. Im Ganzen wurden von den Autoren 92 Fälle — davon 67 mit positivem Resultat — untersucht. In 56 Fällen wurde im Exsudat, das man aus der erkrankten Drüse durch Punktion entnommen hatte, der oben erwähnte Diplococcus 39mal gefunden, 2mal waren gemischte Kulturen und 15mal fiel das Resultat negativ aus. Das Exsudat bei Orchitis, durch Punktion aus dem Hoden entnommen, wurde 16mal geprüft, wobei man in 12 Fällen eine reine Diplokokkenkultur, und 1mal eine gemischte Kultur fand; 3mal dagegen war das Resultat negativ.

Bei 15 Blutuntersuchungen, auf der Höhe des Fiebers unternommen, fand man 10mal eine reine Diplokokkenkultur und 5mal war das Resultat negativ. (Das Blut erhielt man durch einen Stich in den Finger und versäte es in Reagenzgläsern mit Bouillon zu je 2—3 Tröpfchen.) Das Blut einiger Rekonvaleszenten ergab noch nach 15—21 Tagen Kulturen, aber einen Monat darauf war das Resultat immer negativ.

3mal wurde mit Erfolg (Reinkultur) das Hautödem im Parotisgebiet untersucht. Ebenso wurde eine Diplokokkenreinkultur in einem Exsudat aus dem Kniegelenk, welches während der Parotitis sich entwickelte, gefunden.

Diese Diplokokken wurden von den Autoren in folgender Weise charakterisiert: Der Mikrobe nimmt hauptsächlich die Form eines Diplo-

coccus an, manchmal aber die Form eines Tetracoccus oder einer Zooglöe, er ist rund, hat einen Durchmesser von 1—1,5  $\mu$ , ist mehr oder weniger beweglich [nach Angabe der Autoren<sup>1)</sup>], färbt sich leicht, nach Gram negativ. Gedeiht auf allen gewöhnlichen Nährböden. Bouillon wird bei 35° nach 24 Stunden getrübt, wobei in den folgenden Tagen die Trübung sich verstärkt und ein Niederschlag auf den Rändern und dem Boden des Reagenzgläschens sich bildet. Auf Gelatine bildet er punktförmige Kolonien, verflüssigt sie sehr langsam erst nach einigen Tagen.

Auf Kartoffel kaum sichtbarer, weißlicher Belag.

Tierversuche ergaben keine bestimmten Resultate. Bei subkutaner intravenöser und intraperitonealer Infektion von Kaninchen oder Meer-schweinchen mit  $\frac{1}{2}$ —1 ccm einer Bouillonkultur waren keine pathologischen Erscheinungen zu verzeichnen.

Bei Injektion von  $\frac{1}{2}$  ccm einer Bouillonkultur in den Hoden von Kaninchen und Hunden trat Orchitis ein, welche nach 8 Tagen verschwand. Von 26 weißen Mäusen, mit  $\frac{1}{2}$ —1 ccm einer Bouillonkultur subkutan infiziert, gingen 4 zu Grunde. Die Injektionsstelle war geschwollen und das Blut enthielt Diplokokken; bei intraperitonealer Infektion gingen von 4 Mäusen 3 mit Erscheinungen von Peritonitis und Septikämie zu Grunde.

Im Jahre 1893 fand M. Antony (13) in 5 von 6 Fällen einen Diplococcus, der dem von Laveran und Catrin gefunden ähnelte. Doch beschreibt der Autor nicht ausführlich seine bakteriologischen Untersuchungen und die Eigenschaften der Kulturen.

Im Jahre 1896 fanden die Amerikaner P. Mecray und J. Walch (14) beständig auf der Fieberhöhe bei Parotitiskranken einen Diplococcus im Speichel aus dem Ductus Stenonianus. Dieser Diplococcus war am häufigsten und am meisten im Sekrete der kranken Parotis zu finden.

Von den Autoren wurde die folgende Methode zum Entnehmen des Speichels aus dem Ductus Stenonianus angewandt: Der Mund wurde mit einer konzentrierten Borsäurelösung gespült. Darauf wurde eine leichte Massage der Geschwulst zum Entleeren des Ductus vorgenommen.

Die Ductusöffnung wurde für 5 Minuten mit Gaze, welche mit konzentrierter Borsäurelösung getränkt war, bedeckt. Nachdem wurde in den Ductus ein Seidenfaden eingeführt, welcher zur Aussaat auf Agar diente. Es gediehen gewöhnlich 2 Arten kleiner, weißer Kolonien, die langsam die Gelatine verflüssigten. Bei weiterer Untersuchung haben sich diejenigen, welche in der Minderheit waren, als Streptokokken herausgestellt. Dieser Streptococcus wuchs auf Nährböden etwas schneller als der andere — Diplococcus — heran und verflüssigte die Gelatine in 3—5 Tagen.

Gewöhnlich überwiegen die Diplococcus-Kolonien. 8mal prüften die Autoren das Blut, das aus dem Ohrläppchen in einigen Tropfen gewonnen wurde. 3mal erhielten sie eine reine Diplococcus-Kultur, 3mal mit anderen Kokken, hauptsächlich mit Staphylococcus albus der Haut gemischt und 2mal war das Resultat negativ. Die Autoren betrachten als wahrscheinlich die ätiologische Bedeutung dieses Diplococcus. Die Morphologie und Biologie wurde von Mecray und Walch folgendermaßen geschildert: Der Mikrobe gedeiht hauptsächlich

1) Die Autoren beweisen nicht durch Tatsachen die selbständige und aktive Beweglichkeit der Diplokokken.

in Diplococcus-Form, seltener zu 4 und mehr Exemplaren zusammen. Auf Agar sind die Kolonien klein, weiß, glänzend, scharf abgegrenzt, rund, zuerst einzeln, dann konfluierend. Das Gedeihen ist langsam (was charakteristisch ist). Bei Zimmertemperatur wird die Gelatine nicht vor 10—12 Tagen und langsam verflüssigt. Es zeigen sich auf ihr die Diplokokkenkolonien erst nach 3 Tagen, sie sind weiß und klein.

Auf Kartoffel wird am 3. Tage ein weißer, zarter Rasen sichtbar. Auf Serum gedeiht er am schnellsten und die Kolonien sehen nicht weiß aus. Die Lackmusmilch verändert die Farbe und gerinnt am 3. Tage. Milch ist also ein vorzüglicher Nährboden und kann wahrscheinlich als Ansteckungsquelle dienen.

Busquet (3) isolierte im Jahre 1896 in Gemeinschaft mit Feré aus dem Blute bei 3 Parotitisrezidiven und bei 17 zum ersten Male Erkrankten einen Diplococcus, der dem Laveranschen ähnelte. Im Speichel fanden sie immer einen Diplo-Streptococcus, der in Bouillon in langen Ketten wächst, aber im Infus einer Ochsenparotis, im flüssigen Menschenserum und in alten Bouillonkulturen die Diplococcus-Form bewahrt.

Der Autor beschränkt sich auf diese kurze Charakteristik der Morphologie und Biologie seines Mikroben. Am Schlusse stellt er die folgende etwas vorzeitige (nach eigener Angabe) Hypothese auf: „Unserer Ansicht nach geht dieser gewöhnliche Mundbewohner in den Ductus Stenonianus über, dringt von dort in die Parotis ein, vermehrt sich in Diplococcus-Form, geht in die Zirkulation über und ruft bestimmte Komplikationen durch seine Lokalisation in verschiedenen Organen hervor.“

Laveran (13) berichtete im Jahre 1897 über einen Parotitisfall bei einem Hunde, der 15 Tage nach seinem Besitzer erkrankte. Der Hund (ein großer russischer Windhund) leckte vor seiner Erkrankung oft den Speichel seines Besitzers. Busquet gewann aus dem Speichel des Hundes einen Diplo-Streptococcus, dessen biologische und morphologische Eigenschaften er nicht genauer angibt. Dabei führt Laveran mehrere Fälle der selbständigen Parotitisansteckung bei Hunden an, welche von Busquet und Ferré, Schüssel und Hertwig, Whittaker beobachtet waren. Eine Parotitis auf experimentellem Wege bei Hunden zu erzielen gelang keinem Forscher.

Im Jahre 1897 untersuchten Michaelis und Bein (16) 16 Parotitisfälle. In allen Fällen prüften sie das Sekret vom Ductus Stenonianus, das sie mittels einer sterilen Glaskapillare durch die Ductusöffnung von der Tiefe gewannen. In 2 Fällen erhielt man eine Reinkultur aus dem Eiter der Parotisabscesse und in einem der 2 Fälle auch aus dem Blute.

Die Eigenschaften des überall gewonnenen Diplo-Streptococcus werden von den Autoren in folgender Weise geschildert: Der Form nach erinnert er an Gonococcus, manchmal wächst er in Ketten heran. Seine Größe ist 1—1,5  $\mu$ , er besitzt eine lebhaft selbständige Beweglichkeit<sup>1)</sup>.

Auf Agar gedeiht er in Form einzelner tauartiger, durchsichtiger Kolonien, in Bouillon in Form eines kernigen, flockenartigen Bodensatzes, wobei die Flüssigkeit ganz klar bleibt. Milch gerinnt innerhalb 2 Tagen. Gelatine wird sehr langsam verflüssigt. Das langsame Gedeihen auf allen Nährböden ist für diesen Mikroben charakteristisch.

1) Diesen Schluß ziehen die Autoren nur auf Grund der Beweglichkeit der Kokken im Hängetropfen.

Versuche an Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden, Katzen, weißen Mäusen waren erfolglos.

Uebrigens ging eine Maus unter Erscheinungen von Septikämie zu Grunde.

Kontrollversuche bei Gesunden, um diesen Diplo-Streptococcus zu finden, waren erfolglos.

Endlich veröffentlichten im Jahre 1906 P. Teissier und Ch. Esmein (17) ihre sorgfältigen Untersuchungen von 45 Parotitisfällen. Zur Aussaat wurde das Blut in Mengen von 5—20 ccm aus der Armvene verwandt. Der Speichel wurde aseptisch aus dem Ductus Stenonianus gewonnen.

Die Blutuntersuchung ergab bei 45 Fällen 37mal positive Resultate. Die negativen Resultate erklären die Autoren entweder durch leichte Erkrankung oder dadurch, daß die Untersuchungen erst nach dem Temperaturabfall unternommen wurden.

33mal wurden Reinkulturen von Diplokokken, 2mal mit Streptokokken, 2mal mit einem Bacillus (Verunreinigung?) und 3mal mit einem Coccobacillus isoliert.

Von 10 Speichelaussaaten wurde in 9 Fällen ein Diplococcus — 6mal in Reinkultur und 3mal mit Streptokokken — gefunden. 1mal wurde derselbe aus dem Rachenschleim bei einer Angina, welche die Parotitis begleitete, 1mal bei einer Stomatitis, 1mal bei einem Abscessus glutaei (die als Komplikation der Parotitis hervortraten), 1mal in der Cerebrospinalflüssigkeit von einem Parotitisfall, der mit Erscheinungen von Meningitis cerebrospinalis verlief, gefunden.

In allen diesen Untersuchungen wurde immer derselbe Diplococcus gefunden, der von den Autoren folgendermaßen geschildert wird: Er gedeiht in flüssigen Nährböden in Form von Diplokokken oder Tetrakokken, häufig einzeln, seltener kettenartig oder haufenweise. Seine Größe beträgt 0,6—1,5  $\mu$ ; er färbt sich gut mit Anilinfarben und nach Gram. In Bouillon bildet sich ein Bodensatz, der mit der Zeit klebrig wird und beim Aufschütteln spiralartig sich aufhebt. Die Bouillon wird getrübt. Auf Agar bildet sich ein schmandartiger, glänzender, weißgrauer Belag, der manchmal einen Stich ins Gelbe zeigt und sich in Fäden zieht, wenn man ihn mit Platinösen abhebt.

In 12 Fällen wurde die makroskopische Agglutinationsprobe der isolierten Kulturen mit Krankensera bei einer Verdünnung 1 : 50—100 vorgenommen, wobei sie 11mal positiv ausfiel.

1mal trat die Reaktion schon nach 5 Minuten ein, gewöhnlich aber erst nach 1—24 Stunden bei 37°.

Kontrollversuche mit Serum von Gesunden und anderen Kranken waren negativ.

Die Autoren prüften ihre Kulturen auf Meerschweinchen und Kaninchen. Bei kleinen Dosen (für Meerschweinchen 1—1,5 ccm einer Bouillonkultur; für Kaninchen noch mehr) oder bei wenig virulenten Kulturen fielen die Resultate negativ aus, wodurch nach Ansicht der Autoren die Mißerfolge anderer Forscher sich erklären. Dosen von 2 bis 4 ccm einer Bouillonkultur, durch Tierpassagen verstärkt, ergeben immer positive Resultate. Bei intraperitonealer Injektion größerer Dosen gehen Meerschweinchen oft schon innerhalb 24—48 Stunden, manchmal erst nach 1—4 Wochen zu Grunde. Bei Kaninchen tritt der Tod immer spät ein, erst nach einigen Wochen.

Obduktionsbefund: Serös-eitrige Peritonitis, alle inneren Organe sind



mit Blut gefüllt, mitunter treten in ihnen Abscesse hervor, manchmal serös-eitriger Erguß in Pleura- und Perikardhöhle.

Man kann auch Tiere per os infizieren, wenn man darauf sogar nur sterile Bouillon in die Bauchhöhle einführt. Eine solche leichte Verwundung der Serosa genügt schon, um den Durchgang der Mikroben durch die Darmwand hervorzurufen.

Kaninchen gehen unter denselben Erscheinungen wie Meerschweinchen zu Grunde.

Bei 4 von 7 Kaninchenmännchen trat nach intraperitonealer Infektion nach einigen Tagen eine Orchitis ein.

## II. Eigene Untersuchungen.

Ich gehe jetzt zu den eigenen Untersuchungen über, welche noch nicht vollendet und jetzt noch im Gange sind.

Ich wandte folgende Methoden an:

1) Blut wurde immer aus der Armvene in Menge von 0,5—20 ccm entnommen und in Bouillon im Verhältnis 1:100 gesät.

2) Das Exsudat wurde mittels einer Punktion aus der entzündeten Parotis gewonnen. Ich bediente mich einer 5 ccm-Spritze und erhielt dabei gewöhnlich  $\frac{1}{2}$ —4 Tropfen. Die gewonnene Flüssigkeit wurde direkt aus der Spritze auf Agar in Petri-Schälchen verstrichen.

3) Der Speichel wurde mittels steriler Tampons gesammelt.

Im ganzen wurden 42 Kranke<sup>1)</sup> untersucht (ohne die 48 Kranken zu rechnen, bei denen nur die serodiagnostischen Untersuchungen vorgenommen worden sind, s. unten).

Zur besseren Verwertung der gewonnenen Resultate wurden die Kranken in 3 Kategorieen eingeteilt: leichte, mittelschwere und schwere. Selbstverständlich ist diese Einteilung rein künstlich und bedarf einer genaueren Erläuterung. Zu den leichten gehörten Fälle mit 5—7-tägiger Krankheitsdauer, geringer Drüsengeschwulst ohne stark ausgesprochene Oedeme, ohne Fieber oder mit subfebriler Temperatur. Die mittelschweren Fälle dauern mehr als eine Woche, die Temperatur hält 1 bis 3 Tage auf 38° an. Die Geschwulst ist mittelgroß und behindert das Kauen mäßig. Als „schwere“ Fälle betrachten wir solche, wo die Temperatur eine Woche lang über 38° anhält, die Geschwulst groß ist und von Oedem des Gesichtes und Umgebung begleitet wird und das Kauen fast unmöglich ist.

Einen schweren Fall mit Orchitis beobachtete ich nur 1mal. Ueberhaupt muß ich betonen, das schwere Fälle mir fast nicht zur Verfügung standen.

Die Leichtigkeit der beobachteten Fälle war von Einfluß auf die erhaltenen Resultate, die im entgegengesetzten Falle bedeutender wären.

Es wurden also 42 Kranke untersucht, darunter 18 leichte Fälle. (11 Rekonvaleszenten). Bei den leichten Kranken wurde 5mal das Drüsenexsudat (darunter 2mal mit positivem Resultat) untersucht. Blutuntersuchung wurde 4mal (darunter 1mal mit Erfolg) vorgenommen.

Bei den „leichten“ Rekonvaleszenten wurde das Drüsenexsudat 6mal (3mal positiv) untersucht. Das Blut wurde 8mal untersucht und hat sich als steril erwiesen.

Mittelschwere Fälle waren 20, darunter 1 Rekonvaleszent, bei welchem die Untersuchung des Drüsenexsudats positiv und des Blutes negativ

1) Es waren ausschließlich Soldaten von den Moskauer Grenadierregimentern.

ausfiel. Bei den übrigen Kranken dieser Gruppe wurde die Drüse 13mal (darunter 12mal positiv) und das Blut 16mal (darunter 4mal positiv) untersucht. In den übrigen Fällen blieb die Aussaat steril.

Schwere Fälle waren 4. Die Drüse wurde bei ihnen 4mal positiv und das Blut 2mal (darunter 1mal positiv) untersucht.

Tabelle I.

An welchem Krank- heitstage wurde die Untersuchung vorge- nommen?	Zahl der Kranken	Die Untersuchung des Drüsenexsudats		Die Blutuntersuchung	
		Diplococcus Befund	negativ	Diplococcus- Befund	negativ
Am 2. Tage	3	2	—	—	2
„ 3. „	10	5	3	1	4
„ 4. „	8	4	1	2	4
„ 5. „	4	2	2	—	1
„ 6. „	2	1	—	1	1
„ 7. „	7	3	1	—	6
„ 8. „	2	1	—	—	2
„ 9. „	1	1	—	—	1
„ 10. „	3	2	1	2	1
„ 11. „	2	—	—	—	2
	42	21	8	6	24

In allen positiv ausgefallenen Untersuchungen wurde immer derselbe Diplococcus, der ganz mit dem von Teissier und Esmein identisch ist, gefunden.

Nachdem ich schon Reinkulturen isoliert hatte, erschien der Aufsatz der erwähnten Autoren. Prof. Teissier hat mir liebenswürdig auf meinen Wunsch seine Kultur zugesandt. Die anderen Forscher, an die ich mich gewandt habe, haben ihre Kulturen nicht aufbewahrt.

Außer diesem Diplococcus sind noch andere Mikroorganismen gefunden worden; darunter im Blute 3mal: 1mal war hier neben dem Diplococcus ein Coccus, der einen gelblichen, dicken Belag auf Agar bildete und 2mal waren Kokken, die auf Agar sehr zarte, tauartige Beläge bildeten. In einem dieser letzten Fälle war noch ein Micrococcus, der dem Diplococcus ähnelte (er unterschied sich von diesem dadurch, daß er die Milch nicht zum Gerinnen brachte) und im anderen zusammen mit einem echten Diplococcus.

Ich muß betonen, daß im Exsudat der entzündeten Drüse andere Mikroorganismen ziemlich oft zu finden waren. Die Mikroorganismen, welche aus dem Blute isoliert waren, konnte man auch im Drüsenexsudat finden.

Unter den zufälligen Organismen des letzteren sind folgende zu erwähnen:

1) Mikrokokken, die auf dem Agar einen zarten, tauartigen Belag bilden. Einige Arten trüben die Bouillon, andere lassen sie klar und bilden einen bröckligen Bodensatz (10mal gefunden).

2) Kokkobacillen, die denselben Wuchs wie die erwähnten Mikrokokken zeigen (6mal gefunden).

3) *Staphylococcus aureus* (7mal).

4) *Staphylococcus albus* (3mal).

Diese Mikroorganismen waren in den ersten Krankheitstagen fast ebenso oft zu finden, wie in den folgenden. Ihre Menge war fast immer gering.

In allen untersuchten Fällen waren diese Mikroorganismen wie auch die Parotitismikrokokken auch im Speichel der Kranken zu finden.

### III. Agglutination.

Der von mir isolierte *Micrococcus* wie auch die Teissier-Esmeinsche Kultur werden vom Serum der Parotitiskranken agglutiniert. Es wurde die makroskopische Probe mit 24-stündigen Bouillonkulturen bei 37° gemacht. Das Resultat wurde nach 24 Stunden festgestellt. Manchmal trat die Agglutination schon nach 1—3 Stunden ein, häufiger aber nach 12—15 Stunden. Die meisten Kranken gehörten zu den leichten (36 von 48), wodurch der verhältnismäßig niedrige Titer der Agglutination und sogar ihre Abwesenheit sich erklären lassen. Bei der Verdünnung von 1:40—100 erhielt man positive Reaktion nur bei 11 Kranken (siehe Tab. II). Positive Resultate sind 41, zweifelhafte 4, negative 3 zu verzeichnen. Ein Unterschied zwischen dem Agglutinationsgrad meiner Kulturen und dem der Kulturen von Teissier und Esmein war nicht festzustellen. Um sich von der Spezifität der Reaktion zu überzeugen, sind Kontrollversuche mit Serum 20 Gesunder und 6 anderer Kranken<sup>1)</sup>, die niemals an Parotitis litten, vorgenommen. Die Reaktion bei Verdünnung 1:10—25 und bei 37° war nach 24 Stunden immer negativ.

Außerdem wurde die Agglutination bei 8 Gesunden, die Parotitis 8 Monate bis 7 Jahre vorher durchgemacht hatten, vorgenommen, wobei sie immer bei Verdünnung 1:10 negativ ausfiel.

Tabelle II.

Die Agglutination mit dem Serum der Mumpskranken während der Epidemie im I. Kadettencorps in Moskau 1906.

Namen der Kranken	Datum der Untersuchung	Zahl der Tage vom Beginn der Krankheit an	Anmerkungen	Agglutination
1. Anatoly J.	3. Okt.	20	Mittelschwere Parotitis	+ 1:25
2. Georges R.	"	12	" "	+ 1:40
3. Georges B.	"	4	Leichte "	? 1:10
4. Woldemar M.	"	4	" "	+ 1:10
5. Alexander P.	"	4	" "	+ 1:10
6. Iwan G.	"	5	" "	— 1:10
7. Michel J.	"	6	" "	+ 1:10
8. Alexander J.	"	5	" "	+ 1:10
9. Alexander M.	"	9	" "	? 1:10
10. Konstantin W.	"	13	" "	? 1:10
11. Boris M.	5. Okt.	11	Mittelschwere "	+ 1:25
12. Michel K.	"	15	Leichte "	+ 1:10
13. Nikolaus S.	"	10	" "	+ 1:50
14. Alexander P.	"	10	" "	+ 1:25
15. Nicolaus R.	"	5	" "	— 1:10
16. Wladimir B.	"	7	" "	+ 1:10
17. Victor J.	7. Nov.	12	" "	+ 1:10
18. Wladimir T.	"	12	" "	+ 1:20
19. Georges B.	"	11	" "	+ 1:40
20. Alexander N.	"	11	" "	? 1:10
21. Leonty B.	"	11	" "	+ 1:20
22. Sergius S.	"	16	Mittelschwere "	+ 1:100
23. Alexander K.	"	11	Leichte "	+ 1:15

1) Bronchitis, Influenza, Anaemia, Rheumatismus acut., Ulcus molle und Catarrhus interstinatorum chron.

Namen der Kranken	Datum der Untersuchung	Zahl der Tage von Beginn der Krankheit an	Anmerkungen	Agglutination
24. Konstantin N.	9. Nov.	11	Leichte Parotitis	+ 1 : 50
25. Konstantin P.	"	7	" "	- 1 : 10
26. Iwan O.	"	8	" "	+ 1 : 15
27. Andreas J.	"	9	" "	+ 1 : 20
28. Nicolaus S.	"	10	Mittelschwere "	+ 1 : 25
29. Boris A.	"	8	" "	+ 1 : 25
30. Georges L.	"	10	" "	+ 1 : 50
31. Konstantin P.	"	18	" "	+ 1 : 50
32. Eugen K.	11. Okt.	13	" "	+ 1 : 60
33. Sergius M.	14. "	9	Leichte "	+ 1 : 30
34. Peter N.	14. "	9	Mittelschwere "	+ 1 : 100
35. Elias L.	9. "	2	" "	- 1 : 10
	18. "	11	" "	- 1 : 10
	23. "	16	" "	+ 1 : 25
36. Georges M.	9. "	11	" "	+ 1 : 100
	13. "	15	" "	+ 1 : 100
37. Eugen R.	9. "	6	Leichte "	+ 1 : 10
	13. "	10	" "	+ 1 : 25
38. Boris J.	9. "	9	Mittelschwere "	+ 1 : 10
	15. "	15	" "	+ 1 : 25
39. Victor S.	9. "	4	Leichte "	+ 1 : 20
	18. "	13	" "	+ 1 : 25
40. Dimitrius K.	11. "	4	" "	+ 1 : 10
	20. "	13	" "	+ 1 : 25
41. Valentin B.	11. "	4	" "	+ 1 : 35
	20. "	13	" "	+ 1 : 35
42. Nicolaus K.	11. "	4	" "	- 1 : 10
	20. "	13	" "	+ 1 : 10
43. Nicolaus S.	11. "	15	" "	+ 1 : 40
	20. "	24	" "	+ 1 : 40
44. Nicolaus Z.	11. "	6	" "	+ 1 : 10
	20. "	15	" "	+ 1 : 25
45. Alexander W.	11. Okt.	5	" "	+ 1 : 35
	20. "	14	" "	+ 1 : 30
46. Nicolaus R.	11. "	5	" "	+ 1 : 20
	19. "	13	" "	+ 1 : 20
47. Georges P.	11. "	5	" "	+ 1 : 15
	19. "	13	" "	+ 1 : 10
48. Alexander R.	11. "	4	" "	- 1 : 10
	20. "	13	" "	+ 1 : 10

#### IV. Die Morphologie des Micrococcus und sein Wachstum auf Nährböden.

Am häufigsten tritt der *Micrococcus parotitidis* als *Diplococcus* hervor, dann auch als einzelne Kokken, etwas seltener als *Tetracoccus*, haufenweise und kettenartig. Seine Dimensionen schwanken von 0,8—1,5  $\mu$ . Färbt sich gut mit allen Anilinfarben. Gram positiv. Im hängenden Tropfen besitzt er eine lebhaft Molekularbewegung. Geißelfärbung (nach Van Ermengem) negativ. Sublimatlösungen stellen die Bewegungen nicht ein — ein Beweis, daß der *Diplococcus* keine aktive selbständige Beweglichkeit besitzt. Vermehrt sich mittels Teilung. Keine Sporenbildung.

Gedeiht gut auf allen gewöhnlichen Nährböden, am besten bei Körpertemperatur und mäßig bei Zimmertemperatur, bei +4° kein Wachsen. Anaerobiöses Wachsen ebenso gut wie bei Luftzutritt.

Vereinzelte Kolonien auf Agar sind klein, rund, scharf begrenzt, im Anfang halbdurchsichtig, weißlich. Bei Strichkultur auf schrägem Agar bildet sich ein großer, konfluierender, glänzender, schmandartiger Belag von zäher Konsistenz (zieht sich in Fäden beim Aufheben mit einer Platinnadel).

Bei Stichkultur in Agar wächst er längs dem Stiche. Auf Blutserum bildet sich ein dicker, weißlicher Belag. Bouillon wird getrübt und es bildet sich ein klebriger Bodensatz, der sich beim Aufschütteln spiralartig erhebt. Peptonwasser wird gleichmäßig getrübt und er gibt sogar nach 7-tägiger Kultur keine Indolreaktion. Auf Kartoffel weißlich-grauer, ziemlich dicker Belag. Milch gerinnt nach 2 Tagen und stellt einen guten Nährboden für die Diplokokken dar. Auf Neutralrotzuckeragar keine Gasbildung und keine Farbveränderung. Auf Gelatine bilden sich nach 1—3 Tagen punktförmige weißliche Kolonien, welche sie langsam und schwach zur Verflüssigung bringen. Auf Conradi-Drigalskischem Nährboden tritt nach 3—4 Tagen ein winziger staubartiger Wuchs hervor.

#### V. Resistenz des Micrococcus.

1) Fließender Dampf oder siedendes Wasser töten den Micrococcus innerhalb 30—40 Sekunden und T. 60° nach 8 Minuten. Einfrieren innerhalb 3 Stunden tötet ihn nicht.

2) Licht. Sommersonnenlicht tötet nicht die Kultur innerhalb 8 Stunden. Eine Kultur, welche mehr als einen Monat auf dem Fenster bei zerstreutem abwechselnden Sonnenlicht gestanden, hat ihre Lebensfähigkeit nicht verloren.

3) Austrocknen. Agarkulturen vor dem Austrocknen nicht durch Gummikappen geschützt, bleiben bei Zimmertemperatur innerhalb 7 Monate lebensfähig (trotz großen Austrocknens des Agars).

Glaskugeln in Petri-Schalen in Bouillonkultur getränkt und bei 37° getrocknet, zeigen schon nach 24 Stunden kein Wachstum, bei 13—15° getrocknet werden sie nach 4—6 Tagen steril.

In tiefen Schichten von sterilisiertem Sand, mit Bouillonkultur schwach getränkt, bei 10—12° R bleibt der Diplococcus ca. 1 Monat lebensfähig und geht erst nach völligem Austrocknen des Sandes zu Grunde. In dünnen Sandschichten in Petri-Schalen geht er nach 11 Tagen zu Grunde.

4) Im sterilisierten Speichel bleibt der Diplococcus ebenso lange lebensfähig wie auf dem Agar. Der Speichel ist also ein vorzüglicher Nährboden für den Diplococcus.

5) In Leitungswasser geht er nach 11 Tagen zu Grunde (Agarkultur).

6) Desinfektionsmittel: Ihre Wirkung ist bei Zimmertemperatur an Bouillonkulturen<sup>1)</sup> geprüft worden.

a) Sublimatlösung 1: 1 000 tötet nach einigen Sekunden

1: 5 000 " " 1 Minute

1: 10 000 " " 4 Minuten

b) Karbollösung, 5 Proz. tötet nach 1 Minute

2 " " " 1 "

1 " " " 28 Stunden

c) Alcohol absol. und 50-proz. tötet nach 1 Minute

d) Lysol 3 Proz. { tötet nach 1 Minute

2 " " " " " "

1 " " " " 40 Minuten

1) Ich wandte die Bouillonkulturen an, um der Praxis näher zu kommen, denn bei Parotitiskranken kommt zur Desinfektion hauptsächlich der Speichel in Betracht.

- e) Lysoform (wässrige Lösungen) 4 Proz. tötet nach 5 Stunden  
 f) Formaldehyd (Gewichtsprozent) wässrige Lösungen, 6 Proz. tötet nach 1 Min.  
 g) Hydrog. peroxyd. (Perhydrol 30 Proz. Merck) Gewichtsprocente " 25 "  
 h) Ferrum sesquichlor., 4 Proz. tötet nach 8 Minuten  
 i) Borsäure, 4 Proz. tötet nach 20 Stunden  
 k) Kali chloricum, 2 Proz. tötet nicht mehr als nach 45 Tagen  
 l) Seifenwasser, mit einigen Oesen Bouillonkultur gemischt, übt keine bemerkbare Wirkung auf Diplokokken mehr als nach 45 Tagen aus.

### VI. Tierversuche.

Den Versuchen wurden weiße Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde unterworfen.

Für alle diese Tiere haben sich bis jetzt die Kulturen als wenig virulent erwiesen. Sie waren nicht im stande, Krankheitserscheinungen, die der Parotitis etwas ähnlich wären, hervorzurufen. Auf Grund unserer Versuche ist uns gelungen, die minimale tödliche Dose für weiße Mäuse bis 0,2 ccm, für Meerschweinchen bis 6 ccm, für Kaninchen bis 10 ccm Bouillonkultur, bei intraperitonealer Infektion, zu bringen. Im Anfang waren viel größere Dosen nötig, um den Tod herbeizuführen, und erst nach 2—4 Tierpassagen gelang es, die Virulenz ein wenig in den erwähnten Grenzen zu erhöhen. Bei der Obduktion der zu Grunde gegangenen Tiere war immer derselbe Befund festzustellen: Die inneren Organe sind mit Blut gefüllt. Zähes, serös-eitriges Exsudat, manchmal mit Blutbeimischung, in der Bauchhöhle, manchmal auch in der Pleura- und Pericardhöhle. Es gelang uns nie, eine Orchitis bei Mäuse-, Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hundemännchen hervorzurufen, entgegengesetzt Teissier, welcher sie bei Kaninchen (in 4 Fällen) erzielte. Für Hunde hat sich bis jetzt die Kultur als avirulent erwiesen.

Die mir von Prof. Teissier zugesandte Kultur besaß dieselbe Virulenz wie die meinigen.

Es wurden im ganzen 20 weiße Mäuse (davon gingen 12 zu Grunde), 7 Meerschweinchen (davon krepiereten 5), 5 Kaninchen (3 starben) und 2 Hunde (beide sind am Leben geblieben) den Versuchen unterworfen.

Außerdem wurde die Virulenz verschiedener anderer Mikroorganismen, die mit dem *Diplococcus* zusammen waren, geprüft. Sie haben sich alle als avirulent erwiesen, und zwar alle aus dem Blute gewonnenen, sowie auch Kokken und Kokkobacillen, welche auf Agar tauartige Beläge bildeten (siehe II. Abt.).

Die Versuche wurden an Kaninchen, Meerschweinchen und weißen Mäusen ausgeführt. Es wurden für Kaninchen und Meerschweinchen mehrere Agarkulturen und für weiße Mäuse eine Agarkultur zu intraperitonealer Injektion verwendet.

### VII. Ueber die Toxine.

Um Toxin zu erhalten, wurde folgende Methode angewandt. Die Diplokokkenkulturen (meine und Teissier-Essmeinsche) wurden in breite Kolben mit Martinscher Bouillon gefüllt ausgesät und nach 2-monatlichem Aufbewahren im Thermostaten bei 37° durch die Porzellan-kerze filtriert.

Mit den erhaltenen Filtraten wurden folgende Versuche unternommen :

1) 3 Meerschweinchen (Gewicht 440, 390, 410 g) wurde in die Bauchhöhle injiziert: dem ersten 4 ccm Toxin, dem zweiten 10 ccm und dem dritten 20 ccm. Die ersten Tage nach der Injektion waren die Tiere, besonders das letztere, matt, erholten sich bald darauf und blieben am Leben.

2) 2 Kaninchen wurde intravenös einem 5 ccm, dem zweiten 15 ccm eingespritzt.

Das Resultat war negativ, abgesehen von einer geringen Temperaturerhöhung während der ersten 2 Tage.

Einem 12 kg schweren Hunde wurden gleichzeitig 30 ccm Toxin intravenös, 4 Agarkulturen des lebendigen *Diplococcus* intraperitoneal und 4 g Antipyrin subkutan (das letztere zum Schwächen des Widerstandes des Organismus) injiziert.

Das Tier fieberte die ersten 5 Tage und erholte sich.

### VIII. Schluß.

Auf Grund meiner Untersuchungen und der Arbeiten anderer Forscher glaube ich folgende Schlüsse ziehen zu können:

1) Bei Parotitis epidemica findet man im Drüsenexsudat und in anderen, von der Infektion betroffenen Organen, im Sekrete des Ductus Stenonianus, im Speichel und im Blute fast immer und hauptsächlich den obenerwähnten *Micrococcus*.

2) Alle von den Forschern isolierte Mikrokokken sind einander ähnlich (siehe Tabelle III). Auf Grund derselben morphologischen und biologischen Eigenschaften und des Virulenzgrades, sowie auch der gleichen Agglutination mit Krankenserum sind meine Kulturen identisch mit denen von Teissier-Esmein.

3) Wollen wir als identisch und genau geprüft nur meine und Teissier-Esmeinsche Kulturen betrachten, so kann man folgendes hervorheben: Wir fanden sie im Blute bei 43 Kranken (von 75) im Drüsenexsudat 21mal (von 29 Fällen). Außerdem wurde der *Diplococcus* bei einer Angina und einem Glutaeusabsceß, welche Parotitis komplizierten und aus der Cerebrospinalflüssigkeit und dem Speichel isoliert.

4) Der *Micrococcus* wird von Krankenserum in Verdünnung 1:10—100 agglutiniert.

Es wurde im ganzen von Teissier-Esmein und von mir die Agglutination bei 60 Kranken vorgenommen: darunter 52mal positiv, 4mal zweifelhaft und 4mal negativ.

5) In leichten Fällen, sowie im Anfange der Krankheit ist die Agglutination schwach, oder sie fehlt (siehe Tab. II).

6) Das Blut Gesunder, die an Parotitis nie litten, agglutiniert den *Micrococcus* nicht. Bei 8 Gesunden, die schon längst die Parotitis durchgemacht hatten, war die Reaktion ebenso negativ.

7) Die Agglutination kann als gute diagnostische Methode schon bei Verdünnung von 1:10 verwertet werden. Freilich, je höher der Titer, desto genauer ist die Diagnose. Diese Methode ist von großem Wert bei latenten Krankheitsformen (Orchitis oder anderen Krankheitserscheinungen).

8) Bei nicht schwerem Krankheitsverlaufe oder an dessen Ende, bei Lokalisation in Parotitis, ist der *Micrococcus* leichter aus dem Exsudat der erkrankten Drüse oder aus dem Speichel, als aus dem Blute zu isolieren.

9) In leichten und mittelschweren Fällen findet sich der *Micrococcus* im Blute in geringer Menge oder fehlt überhaupt. Es sind deshalb zur Aussaat große Blutmengen (nicht minder als 15—20 ccm) nötig.

10) Für Tiere ist der *Micrococcus* wenig pathogen. Es gelingt nicht, bei ihnen Krankheitserscheinungen, analog der Parotitis hervorzurufen.

Tabelle III.

	Kultur von Laveran u. Catrin	Kultur von Mecray und Walch	Kultur von Michaelis und Bein	Kultur von Teissier und Esmein	Kultur von Korentschewsky
Agar	?	Kleine, weiße, glänzend, runde zuerst einzelne, d. konfluierende Kolonien	Durchsichtige, kleine tauartige Kolonien	Schmandartiger, glänzender, gräulichweißer Belag „zäher“; einzelne Kolonien rund, klein, scharf umgrenzt	
Bouillon	Trübung n. 24 St. dann Sediment am Boden und an den Wänden	?	klar; kerniger Bodensatz	Trübung. Zäher Bodensatz, der sich beim Aufschütteln des Reagenzglases spiralenartig aufhebt und sich löst	
Gelatine		punktförmige Kolonien, weißliche, langsame Verflüssigung			
Milch	?	am 3. Tage Gerinnung		Gerinnung nach 2 Tagen	
Kartoffel	wenig sichtbarer weißlicher Belag	zarter weißer Belag	?	weißlicher, reichlicher Belag	
Nährbod. Conradi-Drigalski	?	?	?	nach 4 Tagen spärlicher, wenig sichtbarer, punktförmiger Wuchs	
Neutralrot Zucker 1 Proz. Agar	?	?	?	keine Gasbildung, keine Farbveränderung	
Blutserum	weißlicher, reichlicher Belag	graulichweißer Belag	?	weißlicher, reichlicher Belag	
Indol	?	?	?	keine Indolbildung in Peptonwasser (wöchentliche Kultur)	
Beweglichkeit	Geringe vorhanden (? Aut.)	?	lebhaftes Eigenbewegung (? Aut.)	keine aktive Eigenbewegung. Lebhaftes Molekularbewegung.	
Form	Diplo- u. Tetrakokken, rund, Größe 1,0 bis 1,5 $\mu$ , manchmal Zoogloen	Diplo-, seltener Tetrakokken	Diplo- oder Streptokokken der Form nach d. Gonokokken ähnlich, Größe 1,0—1,5 $\mu$	Diplokokken, einzelne Kokken, seltener Tetra-, Strepto- und Staphylokokken. Größe 0,8 bis 1,5 $\mu$	
Gram	negativ	?	?	positiv	
Pigmentbildung	keine	keine	keine	Nach Teissier keine bilden einige Kulturen zitronenfarbiges Pigment. Die mir zugesandte Kultur bildete kein Pigment	



11) Da in allen, sogar in leichten Parotitisfällen der *Micrococcus* im Speichel oder im Parotitisexsudate und bedeutend seltener im Blute (in letzterem hauptsächlich bei schweren Fällen) zu finden war, so können wir mit großer Wahrscheinlichkeit das Folgende feststellen.

a) Die primäre und hauptsächlich Lokalisation der Krankheit ist die Parotisdrüse.

b) Die Infektion dringt aus der Mundhöhle vor.

c) Beim Eindringen des *Micrococcus* in die Blutzirkulation ist das Erscheinen sekundärer Krankheitsherde möglich (Hoden, Gelenke, Endocard u. s. w.).

d) Durch das Eindringen großer Mengen des *Micrococcus* ins Blut werden die schweren typhusähnlichen Parotitisfälle der Autoren (Trousseau, Catrin, Colin, Deme) erklärlich.

12) Obwohl die weiteren Untersuchungen nötig sind, können wir mit großer Wahrscheinlichkeit auf Grund der erwähnten Tatsachen hervorheben, daß der beschriebene *Micrococcus* der Erreger von Parotitis epidemica ist.

Moskau, 1. Februar 1907.

#### Literatur.

- 1) Filatoff, N., Vorlesungen über Infektionskrankheiten. 1899. p. 430.
- 2) zit. nach N. Filatoff, p. 437.
- 3) Busquet, *Revue de médecine*. 1896. No. 9. p. 744—748.
- 4) Dieulafoy, *Handbuch der inneren Krankheiten*. 1899. p. 583.
- 5) Zit. nach Grancher, *Tr. des maladies des enfants*. T. I. p. 269.
- 6) Charrin et Capitan<sup>1)</sup>, *Compt. rend. de la soc. de biol.* 28 mai. 1881.
- 7) Védérènes, *Rec. de membr. de médec. mil.* Vol. XXXVIII. 1882. p. 179.
- 8) Bouchard, zit. nach Karth, *Etude sur une forme grave d'oreillons*. Thèse de Paris. 1883.
- 9) Boinet, *Lyon médic.* 1885. p. 285.
- 10) Netter, zit. nach Jaccoud, *Leç. de clin. médec., faites à la Pitié*. 1883—1884. Paris 1885. p. 513.
- 11) Bordas, *Oreillons, Recherches sur les causes de leur contagion*. Soc. de biol. 16. nov. 1889.
- 12) Laveran et Catrin, *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1893. 20 mai. p. 528—530 et 28 janvier. p. 95—98.
- 13) Antony, *Rapp. à la soc. méd. des hôpit.* 24 févr. 1893; zit. nach *Gazette de hôpit.* 1893. No. 25. p. 234.
- 14) Mecray, P. and Walch, J., *Medical Record (New York)*. Vol. L. 26. Sept. 1896. p. 440—442.
- 15) Laveran, *Rapp. sur un mémoire de P. Busquet*. (*Bull. de l'Académie de méd.* 1897. No. 40. p. 255—259.)
- 16) Michaelis, M. u. Bein, *Separatabdr. aus den Verhandl. des XV. Kongr. f. inn. Medizin zu Berlin*. 1897.
- 17) Teissier, P. et Esmein, Ch., *Compt. rend. de la soc. de biol.* Vol. LX. 1906. p. 803—806, 853—855, 897—898.

1) Die Arbeiten von No. 6—11, die in Moskau nicht zu beschaffen waren, sind zitiert nach Laveran und Catrin (siehe No. 12), bei denen dieselben sehr kurz beschrieben sind.

*Nachdruck verboten.*

**Züchtungs- und Tierversuche mit *Bacillus fusiformis*,  
*Spirochaete gracilis* und *Cladothrix putridogenes*.  
Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen  
gangränösen Entzündungen.**

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute der Universität zu  
Kolozsvár (Direktor: Prof. Buday).]

Von Dr. **D. Veszprémi**, Privatdozenten und I. Assistenten.

Mit 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Die Körnchen liegen mehr in der Mitte der Abscesse und sind nicht unmittelbar von Eiterzellen umgeben, sondern von einem mehr oder weniger breiten, hellen Hof mit verwaschenen Grenzen. Dieser Hof besteht aus einem feinen, körnigen Detritus, enthält keine unversehrten Eiterzellen, höchstens Chromatinschollen. Die aus den Lungenabscessen stammenden und die von den Hirnhäuten und aus der Mundhöhle gesammelten und mit dem Eiter eingebetteten Körnchen geben ganz genau dasselbe mikroskopische Bild, so daß es überflüssig wäre, alle gesondert zu beschreiben.

Es ist natürlich, daß wir in den Körnchen und dem Eiter der Schnitte dieselben Bakterien finden, die wir oben genau beschrieben haben. Doch ist der mikroskopische Befund der Schnitte daher von Wichtigkeit, denn Anordnung, Gruppierung und gegenseitiges Verhältnis der oben erwähnten Mikrobenarten sind nur aus den Schnitten genau ersichtlich. Die beste Orientierung gestatten in dieser Beziehung die nach Weigert gefärbten Schnitte. In den mit Fuchsin gefärbten nämlich hatten sich — obwohl auch sie ein genügend schönes Bild geben — der Grund, die an Eiweißkörnchen reiche Substanz, die Bakterienhaufen so sehr gefärbt, waren bisweilen verschwommen, so daß wir in diesem Falle den nach Weigert gefärbten den Vorzug einräumen müssen.

Das Gerüst der Körnchen bildet eine homogene, hyalinartige Substanz, die sich im allgemeinen ziemlich dunkel färbt und auch nach Weigert sich kaum entfärbt. Diese homogene Substanz ist dicht beladen mit einer Masse von Fadenbakterien, die sich im allgemeinen am besten färben, und zwar ohne jede regelmäßige Struktur (Fig. 10); radiäre Anordnung zeigt sich nicht. Im äußeren Teil der Körnchen, aber nur stellenweise und nicht die Körnchen rings einschließend, sind die spindelförmigen Bacillen angehäuft, die sich bedeutend blasser färben als die Fadenbakterien, nach Weigert rotviolett (Fig. 16b). Diese spindelförmigen Bacillen füllen auch die hie und da infolge der Gelaptheit der Körnchen entstehenden Vertiefungen aus und strahlen von hier fächerförmig in die Umgebung der Körnchen aus. Während die Fadenbakterien immer dichte Knoten bilden (Fig. 10, 16a), so daß Einzelheiten nur in dünnsten Schnitten wahrzunehmen sind, zeigen die Spindellbacillen eine gewisse Regelmäßigkeit, indem sie mehr oder weniger parallel verlaufende, gebogene Bündel bilden (Fig. 11). Die bündelförmige Anordnung ist in einzelnen Streifen dichter, in anderen schütterer, verbreitert sich in den Randpartien, wie oben erwähnt wurde, gleichzeitig verschwindet dann auch die bündelförmige Struktur und die

Bacillen erscheinen gleichmäßig voneinander losgelöst. Die Spindelbacillen bleiben ziemlich gebunden an die Körnchen und werden daher in den entfernter gelegenen Teilen der Abscesse, zwischen den Eiterzellen nur in sehr geringer Zahl angetroffen. Die Fadenbakterien hingegen kommen teils in kleinen Gruppen, teils einzeln ziemlich dicht in sämtlichen Teilen des Abscesses vor. Auch hier zeigen die Fadenbakterien dieselbe granulierten Färbung und die schon oben erwähnte wechselnde Gestalt, wie wir das bereits ausführlich beschrieben haben (Fig. 13, 14, 15). Spirochäten waren zwar in den Fuchsin Schnitten zwischen den Eiterzellen einzeln zu erkennen, in den Körnchen dagegen konnten sie nicht nachgewiesen werden. Dies kann nur so erklärt werden, daß die sehr dicht gelagerten Eiterzellen, die hyalinartige Kittsubstanz der Körnchen, ferner die Haufen von spindelförmigen Bacillen insgesamt einen so dunkel gefärbten Grund bilden, daß die ohnehin sehr feinen, zarten und blaß gefärbten Spirochäten besonders gar nicht sichtbar sind. Kokken konnte man teils in kurzen Ketten, teils in Gruppen besonders in den nach Weigert gefärbten Schnitten finden. Dagegen war in dem den Absceß umgebenden Lungengewebe kein Bakterium nachweisbar.

Was nun unseren Fall betrifft, so ist es zweifellos sowohl nach dem klinischen Bilde als auch den pathologisch-anatomischen Verhältnissen ein Krankheitsprozeß, wo am Unterkiefer eine eiterige Entzündung auftrat, die eine von dem um den rechten unteren und hinteren Backzahn lokalisierten Geschwür fortgeleitete Infektion darstellt. Die eiterige Entzündung griff dann langsam, schleichend, phlegmoneartig auf die äußeren Weichteile des Kiefers über, nach aufwärts auf den Schläfenmuskel bis hinter den Warzenfortsatz und die Schädelbasis. Von hier breitete sich dann die Eiterung auf dem gewöhnlichen Weg entlang den durch die Schädelbasis tretenden Gefäßen auch auf die Hirnbasis aus, wo sie eine sehr ausgebreitete und schwere hämorrhagisch-eiterige Entzündung der Hirnhäute hervorrief. Aus dem die venösen Sinus umgebenden Exsudat drangen die Bakterien in das Venensystem und verursachten in der Lunge metastatische Abscesse.

Von den Mikroben, die wir im Eiter der verschiedenen Stellen fanden, vom *Bac. fusiformis* und auch von der Spirochäte ist es bekannt, daß sie nicht nur allein, sondern auch zusammen und auch mit anderen Bakterien gemischt bei verschiedenen Krankheiten vorkommen. Abgesehen von der sogenannten Angina ulcerosa-membranacea, die ätiologisch mit ziemlicher Übereinstimmung von sämtlichen Klinikern mit *Bac. fusiformis* und Spirochäte in Zusammenhang gebracht wird, sind zahlreiche Fälle publiziert worden, wo diese Bakterien bei Komplikationen, die gerade zu entzündlichen, geschwürigen Prozessen der Mundhöhle hinzugekommen waren, nachgewiesen werden konnten. Wir nennen hier die peritonsillären, perilaryngealen Abscesse, das Eempyem des Sinus maxillaris. Sie wurden ferner bei Otitis purulenta, bei luetischen, tuberkulösen und krebigen Exulcerationen gefunden. Seltener werden sie genannt bei Appendicitiden, Leberabscessen, Gelenkseiterungen und putriden Prozessen der weiblichen Geschlechtsorgane. Mit diesen wollen wir uns hier im Zusammenhang mit unserem Fall um so weniger beschäftigen, als dies die neueren zusammenfassenden Arbeiten von Beitzke, Babes, Eichmeyer schon eingehend getan haben. Uns würden solche Fälle interessieren, wobei die auch von uns gefundenen Mikroben zusammen in metastatischen Eiterungen beobachtet werden.

Bei Durchsehen der überaus reichen Literatur, die sich mit diesem Gegenstande befaßt, fanden wir, daß überaus wenige solche Mischinfektionsformen zu beobachten sind, die unserem Falle ähnlich sind. Streng genommen, fanden wir in der Literatur nur zwei solche Fälle, von denen einen Silberschmidt, den anderen Feldmann beobachtete. Silberschmidt fand im Schenkelabsceß eines 58-jährigen Mannes außer „Spirillen“ 4–10  $\mu$  lange, spitz endigende, spindelförmige Bacillen zusammen mit Kokken und Coccobacillen. Daneben fand er noch 10–20  $\mu$ , ja sogar 40–70–150  $\mu$  lange, dünne Fäden, die teils wellenförmig, teils gebogen waren und an einigen Stellen größere unregelmäßige Haufen bildeten. Bei der Sektion des Falles stellte es sich heraus, daß im Gehirn ein metastatischer Absceß, in der Lunge bronchiektatische Höhlen waren, voll mit stinkendem Eiter. Während der bakteriologische Befund der Lungenhöhlen ganz genau mit dem des Schenkelabscesses übereinstimmte, fand Silberschmidt im Hirnabsceß nur lange, feine, gebogene Fäden. Als Ausgangspunkt der Infektion sieht er mit Recht die Lungenhöhlen an, den Hirnabsceß und die Schenkeleiterung hält er für metastatisch. Bei Würdigung des bakteriologischen Befundes ist es auffallend, daß Silberschmidt sich ausführlich mit dem *Bac. fusiformis* und der Spirochäte beschäftigt und daß er in demselben Maße die Fadenbakterien nicht genügend würdigt, offenbar aus dem Grunde, weil er — wie aus seiner Beschreibung hervorzugehen scheint — auch diese für fusiforme Bacillen hält, indem er schreibt: „Die Enden erschienen zugespitzt.“ Wir werden weiter unten bei Besprechung unserer eigenen diesbezüglichen Versuche auch Gelegenheit haben, auf diese jedenfalls irrige Ansicht Silberschmidts und auf seine die Züchtung dieser Bakterien bezweckenden Untersuchungen zurückzukommen; dort wollen wir dann auch seine — unserer Meinung nach ebenfalls irrigen — Schlußfolgerungen besprechen, die sich auf die Zusammengehörigkeit dieser Mikroben beziehen.

Ein anderer Fall, der das gleichzeitige Vorkommen unserer Bakterien in metastatischen Eiterungen von pyämischem Charakter bestätigt, ist in einer größeren Arbeit Feldmanns erwähnt. Bei Mittelohreiterung eines 19-jährigen Jünglings waren nebst anderen Mikroben zahlreiche Spirochäten und fusiforme Bacillen nachweisbar. Als Komplikation stellte sich in den Sinus und den Halsvenen eiterige Thrombophlebitis ein, ferner metastatische Abscesse in Lunge und Kleinhirn. Aus dem bakteriologischen Befund dieses Falles interessiert uns vor allem, daß Feldmann außer Spirochäten und Fusiformen noch Kommabacillen, lange, dünne, feine und dicke Fäden fand, daß die abgerundet endigenden Bacillen dichte Bündel und radiär (?) angeordnete Gruppen bildeten, welch letztere an *Actinomyces* erinnerten (!).

Demnach ist es klar, daß — wenn auch sehr selten — die fraglichen Mikroorganismen in der Regel zusammen, manchmal aber auch einzeln in metastatischen Eiterungen vorkommen, doch in den meisten Fällen mit anderen Bakterien, mit Kokken, Bacillenarten und besonders mit einem Fadenbakterium zusammen. Nach Durchlesen der diesbezüglichen Mitteilungen fällt es unwillkürlich auf, daß die Autoren, die den *Bac. fusiformis* und die Spirochäten ausführlich würdigen — abgesehen von den Kokken, die ja gewöhnlich die schon bekannten Strepto-, Staphylo- und Diplokokkenarten sind — die Bacillen und Fadenbakterien gerade nur per tangente erwähnen, während doch aus ihren

Beschreibungen hervorgeht, daß diese schon, was ihre Zahl betrifft, in den mitgeteilten Fällen nennenswerte Bakterienarten vorstellen.

Schon oben hatten wir Gelegenheit, auszuführen, daß in unserem Falle der Ausgangspunkt für die Infektion in der Mundhöhle zu suchen ist, daß daher auch die betreffenden Bakterien aus der Mundhöhle stammen müssen. Sowohl von der Spirochäte als auch vom *Bac. fusiformis* wissen wir, daß sie beständige Formen in der Bakterienflora der Mundhöhle sind. Was aber die Fadenbakterien betrifft, so werden wir auf diese später ausführlicher zu sprechen kommen, vorläufig wollen wir nur so viel äußern, daß wir auch von diesen der Meinung sind, sie wären durch Vermittlung der Mundhöhle in die Eiterung gelangt und daß auch sie beständige Insassen der Mundhöhle sind, denn sie werden in fast allen Fällen und von sehr vielen Beobachtern bei eiterigen und, wie es scheint, auch gangränösen Prozessen der Mundhöhle und solchen, die von hier ihren Ausgangspunkt nehmen, erwähnt. Sie sind also in dieser Beziehung ähnlich zu beurteilen wie der *Bac. fusiformis* und die Spirochäte.

Es wäre jetzt noch über die Rolle dieser Bakterien bei den Eiterungen zu sprechen. Diesbezüglich sind wir der Ansicht, daß es überhaupt unmöglich sei, sich in dieser Frage eine bestimmte, sichere Meinung zu bilden. Wenn wir mehrere solche Bakterien beisammen finden, von denen jedes schon allein Eiterung hervorzurufen im stande ist, wer könnte in einem solchen Falle mit Bestimmtheit sagen, welche Bakterienart jetzt Ursache der Eiterung bzw. der Absceßbildung ist? Denn sowohl in unserem als auch in jenem anderen Falle sahen wir, daß außer dem *Bac. fusiformis* und den Spirochäten immer noch Kokken — in der Regel Strepto- und Staphylokokken — Bacillen und Fadenbakterien zu finden waren sowohl in lokalen als auch in metastatischen Eiterungen pyämischer Natur. Abgesehen jetzt von den pyogenen Kokken, wissen wir heute — wie schon oben erwähnt — daß sowohl die Spindellbacillen als auch die Spirochäten entweder allein oder auch nebeneinander in Eiterungen vorkommen; auch sind einige Trichomyceten, Strepto- und *Cladothrix*-Arten bekannt, die eben beim Menschen in lokalen und metastatischen Abscessen in Reinkultur vorhanden sind. Es wäre daher in der Tat überflüssig und fruchtlos, unter solchen Umständen die Frage beantworten zu wollen, welche von den vielen Bakterien nun in unserem Falle die Ursache der gefundenen Veränderungen waren.

Es kann aber heutzutage die Feststellung dessen nicht außer Acht gelassen werden, ob diese Bakterien wohl zusammengehören, oder ob sie ganz besondere morphologisch und biologisch verschiedene Bakterienarten sind, daß sie also nicht allein keine verschiedenen Varietäten eines und desselben Mikroben darstellen, sondern daß sie nie ineinander übergehen bzw. sich ineinander umwandeln können. Ferner wäre sehr wichtig die Entscheidung jener strittigen Frage, ob wohl diese fusiformen Bacillen und Spirochäten identisch sind mit den morphologisch sehr übereinstimmenden und ähnlichen Mikrobenarten, die bei den verschiedenen Anginen, eiterigen Entzündungen, gangränösen Prozessen und sonstigen putriden Vorgängen eine Rolle spielen; oder ob sie trotz der großen Aehnlichkeit eventuell dennoch sich voneinander unterscheiden und für eine andere Art von *Bac. fusiformis* bzw. Spirochäten zu halten sind. Wenn aber bei diesen so verschiedenen Prozessen dieselben Mikroorganismen eine Rolle spielten, wäre Aufklärung notwendig, warum sie in einem Falle nur eine einfache pseudomembranöse oder

geschwürige Entzündung, im anderen eine lokale oder metastatische Eiterung oder sogar gangränöse Entzündung verursachen u. s. w. Trotzdem wir uns schon auf Grund des bisher Mitgeteilten über die Frage äußern könnten, welches die einzelnen Eigenschaften der fraglichen Mikroben seien, so halten wir es doch für richtiger, die soeben gestreiften strittigen Fragen im zusammenfassenden Teil unserer Züchtungs- und Tierversuche eingehend zu behandeln, um so mehr an jener Stelle, als wir — was morphologische und biologische Eigenschaften betrifft — über reichere und zuverlässigere Daten verfügen.

## II.

### Tierimpfungen aus einem Lungenabsceß.

Da die Körnchen der Abscesse so ungewöhnlich viele fusiforme Bacillen und Spirochäten enthielten, schienen sie auch zu Impfungen auf Kaninchen geeignet. Wir wollten ursprünglich die Wirkung bloß dieser 2 Mikroben studieren, überzeugten uns aber im Verlaufe unserer Versuche, daß auch das mehrfach erwähnte Fadenbakterium nicht außer acht gelassen werden dürfe. Wir impften aus dem Lungenabsceß unseres Falles auf einmal 4 Kaninchen. Von diesen diente dann das dritte und vierte zur Fortsetzung unserer Versuche, da sich der Eiter des Schenkelabscesses, der sich bei diesen entwickelte, als geeignet erwies zur Durchführung unserer späteren Impfungen. Während also die ersten 4 Kaninchen direkt mit menschlichem Material geimpft wurden, stellten sämtliche übrigen Kaninchen Tierpassagen vor. Erwähnen wollen wir noch, daß wir — abgesehen von einigen Tieren bei Beginn unserer Versuche — die Kaninchen alle subkutan bzw. intramuskulär impften, weil die Impfung — wie wir uns überzeugten — auf diese Weise viel sicherer gelang und auch der Verlauf der Infektion besser zu beobachten war; auch das Material für die weiteren Impfungen ist bequemer und zu beliebiger Zeit zu entnehmen, aber auch die bakteriologischen Untersuchungen können öfter vorgenommen werden.

Die Impfung der ersten 4 Kaninchen geschah also mit Körnchen, die wir aus dem Lungenabsceß herausgefischt und mit steriler Bouillon verrieben hatten; die der übrigen mit Eiter oder gegebenenfalls mit darin enthaltenen Körnchen aus den Abscessen, die sich schon in den Kaninchen gebildet hatten, in der gleichen Art mit Bouillon verdünnt. Die Impfungen führten wir immer mit 1 ccm Material und mit Hilfe einer sterilen Pravaz-Spritze aus.

Wir untersuchten unsere Tiere möglichst jeden Tag, unbedingt aber jeden 3. Tag und maßen bei einem großen Teil täglich in der Früh und abends die Temperatur im Mastdarm. Gleichfalls an jedem 3. Tage nahmen wir eine Untersuchung des Körpergewichtes vor und zeichneten unsere Beobachtungen in Art einer Krankengeschichte genau auf. Die Tiere, bei denen wir den Absceß bei Beachtung der nötigen Asepsis selbst öffneten, versahen wir soweit möglich auf chirurgische Art, die Absceßhöhle tamponierten wir, nachdem wir sie ausgedrückt und mit Sublimat ausgewaschen hatten, mit Watte oder Gaze oder vereinigten, wenn wir den Absceß samt seiner Wand extirpiert hatten, den Defekt schichtweise durch Naht.

Den Inhalt der Absceßhöhle untersuchten wir bei jedem Tiere mindestens 2mal, nämlich bei Eröffnung der Höhle und bei der Sektion; bei vielen aber auch öfter, oder den Inhalt zahlreicher Abscesse in Deckglaspräparaten und zwar in jedem einzelnen Falle nicht nur mit

verdünntem Karbolfuchsin, sondern auch nach Gram und Weigert färbend. Die gefundenen Resultate wurden in die Krankengeschichte des betreffenden Tieres genau eingetragen. Außerdem schnitten wir entweder bei der Eröffnung oder bei der Sektion — wenn es notwendig erschien bei beiden Gelegenheiten — aus der Absceßwand einzelne Stücke zum Zwecke histologischer Untersuchungen aus.

Unsere Versuche, die wir ohne Ausnahme an Kaninchen vornahmen, teilen wir hier mit:

1. 1180 g. Impfung in die Bauchhöhle. Das Tier wird beständig fetter, keine Spur von Krankheit. Nach 18 Tagen Sektion, nirgends pathologische Veränderungen.

2. 1000 g. Impfung in die Bauchhöhle. Beständige Abmagerung. Nach 13 Tagen Tod. Gewichtsverlust 200 g. Sektion: In der Bauchhöhle 10 ccm viel Fibrin enthaltendes seröses Exsudat. Das parietale Peritoneum, die Därme mit dickem Eiter verklebt, der in den Falten und Taschen angesammelt ist und stinkt. Im Eiter auch mit freiem Auge sichtbare nadelstich- bis mohnkorngroße grauweiße Körnchen. Milz klein. Bei mikroskopischer Untersuchung erscheinen die Körnchen blaßgelb, gelappt, erinnern in gewisser Beziehung an *Actinomyces*-Drusen. Mit Fuchsin gefärbte Präparate zeigen außer massenhaft vorhandenen Kokken viele spindelförmige Bacillen, Spirochäten und zahlreiche Fadenbakterien.

3. 1620 g. Subkutan. Nach 13 Tagen an der Impfungsstelle eine mäßige Schwellung; am 16. Tage ein nußgroßer Absceß. Öffnung desselben am 18. Tage, wobei ungefähr 30 ccm teils dünner, teils dicker, bröckeliger und ziemlich übelriechender, zäher Eiter sich entleerte. Die Absceßwand ist mit einer fahlen, grauen, nekrotischen Schicht ausgekleidet. Seit Auftreten des Abscesses magerte das Tier beständig ab, gleichzeitig aber zeigten sich auch fortwährend neue Abscesse am Schenkel, die von selbst aufbrachen, dann zuheilten, wieder rezidierten, so daß mit der Zeit viele durch Gänge miteinander kommunizierende, bis zu den Knöcheln hinunterreichende Abscesse entstanden. Aus einem großen Absceß hängen außerordentlich stinkende, fahle, schmutzige, gangränöse Gewebsetsen heraus. Bei Bewegungen der Extremität und bei Ausüben eines Druckes quillt auch an 8—10 Stellen ein dicker, übelriechender, grauweißer Eiter hervor, in dem nadelstich- bis mohnkorngroße Körnchen immer nachweisbar sind. Am 68. Tage ging das Tier nach einem Gewichtsverlust von 600 g an einem regelrechten Marasmus zu Grunde. Sektionsbefund: Der rechte Schenkel ist sowohl in den oberen als auch in den tieferen Schichten voll mit erbsen- bis bohnen großen Abscessen die an manchen Stellen in Gruppen auftreten und die Oberfläche knotig vorwölben. Ein größerer Absceß von den Dimensionen einer Nuß ist an der vorderen Seite des Schenkels sichtbar. Um das Knie, am Unterschenkel überall dicken, übelriechenden Eiter enthaltende Fisteln und kleine Abscesse. An einzelnen Stellen Zeichen von derber, schrumpfender Bindegewebsneubildung und Vernarbung. Der Absceßinhalt wurde mehrmals untersucht; wir machten aus dem Eiter der zu verschiedener Zeit geöffneten oder aufgebrochenen Abscesse immer Deckglaspräparate. Im Eiter der im ersten Monat geöffneten oder aufgegangenen Abscesse waren beständig die auch zu Fäden auswachsenden Bacillenformen und Kokken in Uebersahl. Auch die fusiformen Bacillen zeigten sich ziemlich zahlreich, die Spirochäten dagegen sehr selten. Später und besonders in den letzten Wochen war dagegen neben der beständig massenhaften Anwesenheit von Fadenbakterien bei jeder neuen Untersuchung die große Zahl von Spirochäten besonders auffallend. Sie bilden an einzelnen Stellen selbst 2—3—4-fache Knoten, sind außerordentlich dünn mit sehr schönen regelmäßigen, kleinen und feinen Wellen, die bei einzelnen selbst mit starker Vergrößerung eben nur noch zu erkennen sind. Ein Teil färbt sich blasser, ein anderer dunkler und dieselben letzteren bilden in der Regel besser ausgebildete, gut sichtbare Windungen. Die Enden der Spirochäten spitzen sich entschieden zu; dunkler gefärbte Punkte in ihrem Innern fehlen. Fusiforme Bacillen zeigen sich nur wenige, sie sind teils dünn, mit gleichmäßiger Färbung, teils gequollen, granuliert.

4. 1300 g. Subkutan. Nach 13 Tagen haselnußgroße Schwellung, die am 23. Tage zu einem Absceß von der Größe einer großen Nuß sich entwickelt. Am 31. Tage wird incidiert, dabei entleert sich sehr dicker, weißlicher, zäher Eiter, der auffallend stinkt und an den Geruch von Darminhalt erinnert. Im Eiter sind auch makroskopisch erkennbare Körnchen, die sich in nativen Präparaten als Bakterienhaufen erwiesen. In gefärbten Präparaten überaus feine Spirochäten, verhältnismäßig wenige Fusiformen, ferner massenhaft lange Fadenbakterien, manchmal in zusammenhängenden Haufen. Das Tier nimmt beständig ab, der Absceß heilt nicht, sondern sezerniert auch weiter übelriechenden, verdünnten Eiter. An der Absceßwand können später gangränöse, schmutzig-fahlgraue Fetzen gesehen werden, die teils leicht zerreißen und zerfallen. Am

60. Tage nach der Impfung Exitus. Gewichtsverlust 520 g. Sektionsbefund: Unter der Haut eine ziemlich große Höhle, die noch immer viel sehr unangenehm und durchdringend nach Gangrän riechenden Eiter enthält. Die Höhle reicht bis zum Knie und nach oben bis zur Leistenbeuge. Am unteren hinteren Teil des Schenkels ist auch eine zweite Absceßhöhle zu finden, ungefähr von der Größe einer Nuß, gefüllt mit dickem stinkenden Eiter. Bei innerer Untersuchung nichts Auffallendes. Der bakteriologische Befund wie oben.

5. 1070 g. Intraperitoneal mit dem peritonealen Exsudat des 2. Kaninchens. Das Tier nimmt zu. Nach 42 Tagen an der Impfstelle in der Bauchwand ein kleiner haselnußgroßer Absceß, daneben ein erbsengroßer; ihr Inhalt besteht aus wenig eingedicktem Eiter, in dem nur Kokken nachweisbar sind. Bei der Sektion nichts Abnormes in der Bauchhöhle, auch die innere Untersuchung ergibt nichts.

6. 1460 g. Subdural, nach Trepanation, mit dem peritonealen Exsudat des 2. Kaninchens. Nach 9 Tagen Exitus. Gewichtsverlust 410 g. Bei der Sektion in der Vertiefung zwischen Groß- und Kleinhirn ein hirsekorngroßer Eiterknoten; an der harten Hirnhaut makroskopisch keine Abweichung zu erkennen. Bakteriologischer Befund: Im Eiter schöne Fusiformen und Spirochäten.

7. 1030 g. Intramuskulär aus dem Absceß des 4. Kaninchens. Nach 13 Tagen tief in der Muskulatur ein erbsengroßer, fester Knoten fühlbar, der sehr langsam sich entwickelte bzw. wuchs, so daß er nach 50 Tagen, als das Tier getötet wurde, kaum nußgroß war. Inzwischen Gewichtszunahme zu konstatieren, nur in den letzten Wochen beginnt das Tier etwas abzunehmen; der gesamte Gewichtsverlust 160 g. Der Absceß liegt in der Tiefe der Muskulatur ganz umschrieben und wird total extirpiert. Der aseptisch eröffnete Absceß enthält dicken, kaum stinkenden Eiter. Uebertragungen auf die gewöhnlichen Nährböden bleiben steril. Im Eiter sind übrigens außer ziemlich vielen Spirochäten, Fadenbakterien und Kokken nicht viele Fusiformis-Bacillen, von denen einige sehr aufgetrieben, lang, gestreckt und dick, andere blaß, wieder andere ungleichmäßig gefärbt sind, Involutionsformen.

8. 1260 g. Wie bei No. 7. Keine Spur einer Erkrankung, keine Absceßbildung. Auch nach 2 Monaten vollständig gesund.

9. 1300 g. Wie bei No. 7. Bei beständiger Abnahme des Körpergewichts nach 9 Tagen an der Impfstelle eine verschwommene Schwellung, nach 13 Tagen ein fluktuierender Absceß von der Größe einer dicken Nuß. Am 17. Tage Eröffnung des Abscesses, wobei sich etwa 20 ccm dünner, zäher und außerordentlich stinkender Eiter entleert. Im Eiter viele mohn- bis hirsekorngroße Körnchen, die ganz leicht gesondert aus dem Eiter herausgehoben werden können. Der Absceß besteht eigentlich nicht aus einer einzigen größeren Höhle, sondern aus Fächern, die miteinander kommunizieren; das Bindegewebe ist zerstört, so daß die Höhlenwand aus den bloßgelegten, fahlgrauen, nekrotischen Muskelfasern besteht. Nach Eröffnung des Abscesses ging das Tier rasch zu Grunde, indem es am 3. Tage schon tot war. Gewichtsverlust 320 g, von denen auf die letzten Tage 220 g entfallen. An den Tagen nach Aufschneiden des Abscesses entleerte sich aus der Höhle schon von weitem stinkender, grauweißer, dünnflüssiger Eiter, der hier und da auch Körnchen enthält. Die Wand der Höhle ist schmutzgrün bis grau. Sektion: Außer den schon erwähnten Höhlen fanden wir eine von hier ausgehende, das subkutane Gewebe infiltrierende Phlegmone, die sich auf der rechten Bauchseite bis auf den Brustkasten ausdehnte, stinkend-jauchig war, sich in den letzten 2 Tagen entwickelt und den Tod des Tieres herbeigeführt hatte. Mikroskopische Untersuchung. Bei schwacher Vergrößerung erwiesen sich die Körnchen als blaßgelbe Bakterienhaufen mit gelappten Rändern. Sie haben große Ähnlichkeit mit dem mikroskopischen Bilde der eingangs erwähnten Körnchen und erinnern also einigermaßen an Actinomyces-Drusen. In diesen Körnchen sind — im gefärbten Präparat — die Fadenbakterien in Ueberzahl teils in Gemeinschaft mit sehr langen, gebogenen, schlingenförmig zurückgeschlagenen Fäden, teils mit Bacillenformen von sehr wechselnder Länge. Sie erscheinen teils im Bilde gerader Stäbchen, teils in gebogener Form, viele zeigen granuliert-färbung. Neben diesen sind verhältnismäßig bedeutend weniger dünne Spirochäten und wenig kurze Fusiformen zu sehen, ferner Kokken in Haufen und kurzen Ketten. Die Fadenbakterien und Bacillenformen färben sich nach Gram intensiver, die Fusiformis-Bacillen dagegen schwächer. Wenn man die anilinwässrige Genvianviolett-lösung auf dem Deckglas stark erhitzt, so können auch die Spirochäten sehr gut nachgewiesen werden. Im flüssigen Teil des Eiters kommen die Spirochäten in sehr großer Menge vor, ferner Fadenbakterien und Kokken; fusiforme Bacillen seltener. In dem nach der Sektion entnommenen jauchigen Eiter sind dieselben Mikroben nachzuweisen.

10. 1080 g. Intramuskulär aus dem Absceß des Kaninchens No. 3. Nach 6 Tagen an der Impfstelle eine Schwellung mit verschwommenen Grenzen, die von Tag zu Tag mehr ausgeprägt wird und am 13. Tage bricht der Absceß von selbst durch. Der



aus dem Absceß gewonnene Eiter ist weiß-hellgrau, zäh und übelriechend. Im Deckglaspräparat viele schöne Spirochäten, wenig Fusiformen und Fadenbakterien sowie wenig Kokken. Am 4. Tage nach Aufbrechen des Abscesses geht das Tier zu Grunde. Gewichtsverlust 480 g. Bei der Sektion stellt es sich heraus, daß in der Muskulatur des rechten Schenkels 2—3 miteinander kommunizierende Höhlen von der Größe einer Nuß oder Haselnuß vorhanden sind und außerdem an der äußeren Fläche in der Muskulatur zahlreiche hirsekorn- bis erbsengroße Eiterknoten, deren Inhalt aus schmutzig-grauem, überaus stinkendem, zähem Eiter besteht. Die Wand der größeren Höhlen ist etwas zerfetzt, die der kleineren mit einer fahlgrauen, nekrotischen Schicht bedeckt. Aus dem Absceß laufen zwischen den Muskelbündeln bis zur Leistenbeuge eiterige Gänge. Der mikroskopische Befund des Eiters ist derselbe wie bei der vorigen Untersuchung.

11. 1220 g. Impfung wie No. 10. In den Tagen nach der Impfung ist an dem rechten Schenkel eine mäßige Schwellung zu fühlen, die 8—9 Tage anhält, dann verschwindet, so daß an der Impfstelle gar keine Reaktion zu finden ist. Das Tier ist gesund, sein Gewicht schwankt innerhalb sehr kleiner Grenzen. Nach 34 Tagen erscheint bei langsamer, aber beständiger Abmagerung in der Tiefe der Muskulatur ein harter Knoten, der von mäßiger Schwellung umgeben ist. Dieser Befund ändert sich selbst nach Wochen nicht, das Tier aber nimmt immer mehr ab. Nach 54 Tagen ist der Knoten haselnußgröÙ und hart. Am 64. Tage Exitus. Gewichtsverlust 590 g. Sektion: Ausgesprochener Marasmus. Zwischen den unteren und oberen Muskelbündeln des Schenkels ziemlich tief ist ein haselnußgroÙer umschriebener Absceß mit kaum stinkendem, eingedicktem Eiter, der Kalkkörnchen enthält. Mikroskopische Untersuchung: Im Eiter wenig Fadenbakterien, mehr Spirochäten, sehr wenig Fusiformis-Bacillen.

12. 1150 g. Impfung wie No. 10. Das Tier magert ab. Am 9. Tage am rechten Schenkel eine gespannte Schwellung von der Größe eines kleinen Apfels, der Unterschenkel ist dick, ödematös. Nach 12 Tagen bricht der Absceß durch, der ausfließende Eiter ist weiß, dick, zäh, stinkend. Im Eiter viele Spirochäten und Fäden, wenig Fusiformen und Kokken. Nach 8 Tagen verkleinert sich die Absceßhöhle merklich, sezerniert kaum Eiter, dafür treten aber neue Abscesse am unteren Teil des Schenkels auf. Mit der Zeit brechen auch diese durch, und es erscheinen auch gegen das Knie zu erbsen- bis haselnußgroÙe kleine Abscesse, wodurch der ganze Prozeß dem bei No. 3 auf ein Haar gleicht. 56 Tage nach der Impfung Tod. Gewichtsverlust 560 g. Sektion: In der Kniegegend zahlreiche bohnen- bis haselnußgroÙe, gelblich durchscheinende, zum Teil durchbrochene Abscesse zu sehen, aus denen sich dicker, stinkender Eiter entleert. Der mikroskopische Befund ist mit dem vorangegangenen identisch.

13. 1300 g. Impfung aus dem Abscesse von No. 9 und zwar mit Körnchen in die rechte Schenkelmuskulatur. An der Impfstelle entwickelt sich sehr langsam, kaum wahrzunehmen, in 26 Tagen eine nußgroÙe Schwellung; dabei ist das Kaninchen gesund, nimmt zu. Nach 48 Tagen beginnt der Absceß zu erweichen und auch das Tier magert beständig ab. Am 78. Tage Oeffnung des Abscesses, wobei sich dicker, weißlicher, kaum stinkender Eiter entleert, in dem wenige und sich schlecht färbende Bakterien sich befinden, und zwar blasse Spirochäten, wenig Fusiformis-Bacillen und Fadenbakterien sowie Kokken. In den folgenden Wochen wird der geöffnete Absceß allmählich reiner, heilt zu. Am 109. Tage zeigt sich an derselben Stelle ein nußgroÙer frischer Absceß, in dessen Umgebung einige erbsengroÙe. Am 118. Tage Exitus. Gewichtsverlust 500 g. Sektionsbefund: Starke Abmagerung, Marasmus; an den inneren Organen ausgesprochene Atrophie. An der Impfstelle ein nußgroÙer, neben diesem zwei erbsengroÙe und am unteren Teil des Schenkels ein weiterer Absceß von der Größe einer dicken Nuß; alle enthalten dicken, kaum stinkenden Eiter. Der mikroskopische Befund ist derselbe wie oben.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

## Untersuchungen zur Aetiologie der Tumoren.

[Aus der Universitäts-Frauenklinik Berlin.]

Von Dr. E. Saul, Berlin.

### I. Ueber Impfversuche mit Kohlkrebsparasiten<sup>1)</sup>.

(Bereits erschienen in Bd. XLIII. Heft 7. p. 666.)

### II. Statistische und kasuistische Bemerkungen zur parasitären Aetiologie des Carcinoms.

#### a) Statistisches.

Mc. Connell berichtet (Journ. of Americ. Assoc. 1906. No. 17), daß die Krebsmortalität in den Vereinigten Staaten seit 10 Jahren erheblich gestiegen ist, und daß man die größeren Zahlen nicht auf verbesserte Statistik oder verbesserte Diagnose zurückführen kann. Diese Bemerkung trifft auch für das Königreich Preußen zu. Es starben hier an Krebs und anderen Neubildungen

im Jahre 1895	16 850	Personen	Es wurden im Königreich Preußen ge-
" "	1896	17 643	zählt:
" "	1897	18 315	im Volkszählungsjahr 1895
" "	1898	18 695	31 855 123 Pers.
" "	1899	20 001	" " 1900
" "	1900	20 430	34 472 509 "
" "	1901	21 488	" " 1905
" "	1902	21 876	37 278 820 "
" "	1903	23 420	Die Jahre 1895 und 1905 differieren um
" "	1904	25 050	5 423 697 = 17 Proz.
Die Jahre 1895 und 1904 differieren um			
8200 = 49 Proz.			

Die Zahl der jährlichen Todesfälle an Krebs und anderen Neubildungen stieg innerhalb der 10-jährigen Berichtszeit im Königreich Preußen ununterbrochen<sup>2)</sup>, so daß die Mortalitätsdifferenz zwischen dem ersten und letzten Berichtsjahre die enorme Höhe von 8200 Todesfällen an Krebs und anderen Neubildungen erreichte. Nach den Ziffern des Statistischen Jahrbuches der Stadt Berlin werden unter 5 Todesfällen, die durch Neubildungen erfolgen, etwa 4 durch Carcinom hervorgerufen. Man kann demgemäß die Mortalitätsfrequenz des Carcinoms für die angegebene Berichtszeit berechnen.

Die Feststellung der steigenden Häufigkeit des Carcinoms gewinnt dadurch an Gewicht, daß nach den Untersuchungen von Borrel,

1) In dieser Publikation ist an den betreffenden Stellen zu lesen: Vergrößerung 1:300.

2) Kolb hat als erster auf die zeitlichen Schwankungen der Krebsmortalität hingewiesen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902). Derartige Schwankungen werden bei Infektionskrankheiten, nicht bei Konstitutionskrankheiten beobachtet. — Im Königreich Sachsen z. B. zeigte die Krebsmortalität während der Jahre 1872—1902 eine stetig wachsende, in den folgenden Jahren eine fallende Tendenz. Dasselbst wurden gezählt

im Jahre 1902	970	Todesfälle an Krebs
" "	1903	910
" "	1904	870

Jahresbericht über das Medizinalwesen im Königreich Sachsen 1904. Leipzig 1906. — (Vergl. Wutzdorf, Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 10. p. 166). Im Deutschen Reich ist nach der Todesursachenstatistik von 1892—1898 die Krebskrankheit in erheblicher Zunahme begriffen, eine Abnahme wurde allein für Hohenzollern und Sachsen-Koburg-Gotha festgestellt.

v. Eiselsberg, Lücke, L. Pick, Marianne Plehn, Sticker und vielen anderen Autoren gutartige und bösartige Adenome bei Mensch und Tier gelegentlich in endemischer und epidemischer Verbreitung gefunden werden. Bezüglich des endemischen Auftretens der zweiten Gruppe epithelialer Neubildungen, der Epitheliome, und ihres infektiösen Charakters bestehen noch Zweifel. Aus diesem Grunde möchte ich auf die unter Flügges Leitung durchgeführte statistische Untersuchung von Frief eingehen. Dieselbe betrifft die in den Jahren 1876—1900 in Breslau vorgekommenen Todesfälle an Krebs (Klin. Jahrb. Bd. XII. 1904.) Frief stellt für die Lehre von der Infektiosität des Carcinoms folgende These auf: Nach dem an Carcinom erfolgten Tode eines Ehegatten erliegen einer carcinomatösen Erkrankung von den überlebenden Ehegatten im ersten Jahre 3mal soviel, in den folgenden Jahren doppelt soviel, als nach der Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist. Dem widersprechen die Statistiker Weinberg und Gastpar<sup>1)</sup> auf Grund der Stuttgarter Statistik, indem sie bemerken, daß Friefs Feststellung bei Berücksichtigung des Altersfaktors eine erhebliche Einschränkung erfahre. Es ist deshalb erwünscht, die Lehre von der Infektiosität des Carcinoms auch von gewerbehygienischen Gesichtspunkten stützen zu können. Dieses Postulat hat Albert Aschoff in seiner Untersuchung über „Die Verbreitung des Carcinoms in Berlin“ erfüllt (Klin. Jahrb. Bd. VIII. 1902). Nach den Angaben der Volkszählung des Jahres 1895 berechnet er, in welchem Prozentsatze die älteren Leute (darunter versteht er diejenigen, die mehr als 40 Jahre alt sind) in den einzelnen Berufsarten vertreten werden. Diese Prozentziffern vergleicht Aschoff mit der Zahl der

Carcinomsterbefälle in einzelnen Berufsarten 1897—1899  
nach Aschoff.

Berufsart	Männer <sup>2)</sup>		Frauen und andere An- gehörige	Zahl der An- gehörigen
	Carcinomfälle auf 10 000 Sterbefälle	Lebende über 40 Jahre alt Proz.	Carcinomfälle auf 10 000 Sterbefälle	
1. Chemische Industrie	385	32,52	2232	1 594
2. Metallarbeiter	508	24,36	1287	17 889
3. Maschinenbauer	569	26,04	1431	9 341
4. Bekleidung	744	34,68	966	23 875
5. Textilindustrie	749	45,75	1339	3 297
6. Nahrungs- und Genußmittel	767	21,61	1241	9 240
7. Verkehrsgewebe	808	37,15	1415	18 683
8. Gärtnerei	1125	35,39	1145	702
9. Land- und Forstwirtschaft	2503	33,41	2917	758

1) Weinberg und Gastpar, Die bösartigen Neubildungen in Stuttgart 1873 bis 1902. (Zeitschr. f. Krebsforschung. Bd. IV. 1906.)

2) Die Zahl der berufstätigen Männer betrug in Berlin nach der Volkszählung 1895

in der chemischen Industrie	3 932	Nahrungs- und Genußmittel	29 534
„ „ Metallbearbeitung	47 896	Verkehrsgewerbe	39 638
„ „ Maschinenbauindustrie	27 357	Gärtnerei	2 221
„ „ Bekleidungsindustrie	45 399	Land- und Forstwirtschaft	2 763
„ „ Textilindustrie	7 567		

Zu Unrecht hebt Aschoff hervor, daß in der Berichtszeit 1897—1899 im Fischereigewerbe kein Carcinomfall in Berlin beobachtet wurde, da die Zahl der in diesem Berufe tätigen Männer hier sehr klein ist. Im Volkszählungsjahre 1895 wurden in Berlin nur 46 Fischer gezählt.

Carcinomtodesfälle in den einzelnen Berufen, indem er unter den zum Vergleich herangezogenen Sterbefällen, die an anderen Krankheiten erfolgten, diejenigen der Kinder bis zum 15. Lebensjahre nicht berücksichtigt. Ich habe nun Aschoffs Tabelle (l. c. p. 352), soweit sie für die strittige Frage von Interesse ist, hier aufgezeichnet und dieselbe durch die Ziffern ergänzt, welche die berufstätigen Männer und die Zahl ihrer Angehörigen betreffen.

Verhältnismäßig wenig ist die chemische Industrie sowie diejenige der Metallarbeiter und Maschinenbauer an der Carcinommortalität beteiligt. Einen deutlichen Anstieg zeigt die Ziffer des Carcinoms bei der Bekleidungs- und Textilindustrie sowie bei den Nahrungsmitteln und dem Verkehrsgewerbe. Sehr hoch steht die Prozentzahl des Carcinoms bei der Gärtnerei und besonders bei der Land- und Forstwirtschaft. Unter den angeführten gewerbetreibenden Berufen besitzt die Textilindustrie die größte Durchschnittszahl älterer Leute, aber keineswegs die höchste Carcinomziffer. Die Gruppe der Nahrungsmittel zeigt eine weit geringere Anzahl älterer Leute und dennoch eine höhere Carcinomziffer. An der Zahl älterer Leute sind nach Aschoffs Untersuchung 20 Berufe durchschnittlich mit 30,35 Proz., an der Zahl der Carcinomsterbefälle im Durchschnitt mit 67,1 prom. der gesamten Todesfälle beteiligt. Nun übertrifft die Land- und Forstwirtschaft mit ihrer Zahl älterer Leute die Durchschnittsziffer nur um 3 Proz., während die Zahl der Carcinomsterbefälle in diesem Berufe fast um 400 Proz. größer ist als die Durchschnittsziffer der Carcinomsterbefälle von 20 Berufen. Da Aschoff ferner nachweist, daß die am meisten befallene Männergruppe ebenfalls bei ihren Angehörigen den größten Prozentsatz an Krebstodesfällen zeigt, so stützt seine Untersuchung wie diejenige Frieffs die Lehre von der Infektiosität des Carcinoms auch vom Standpunkte der Statistik; es ist ferner für die von Aschoff gewählte Berichtszeit erwiesen, daß das Carcinom ähnlich wie die Tuberkulose bestimmten Berufen, und zwar der Gärtnerei sowie der Land- und Forstwirtschaft, mit Vorliebe folgt.

#### b) Kasuistisches.

1. G. Hauser, Das Cylinderepithel-Carcinom des Magens und des Dickdarmes. Jena 1890. p. 109: Anatomisch histologische Untersuchungen sind nicht geeignet, die letzten Ursachen eines Krankheitsprozesses aufzuklären; indessen können die anatomisch histologischen Untersuchungen als ein Prüfstein für die über die Ursache eines Krankheitsprozesses aufgestellten Theorien angesehen werden.

2. v. Hansemann, Kritische Bemerkungen über die Aetiologie des Carcinoms. (Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 1. p. 13): Es gibt Geschwülste, die eine gewisse Aehnlichkeit mit Carcinomen haben, und die zweifellos parasitärer Natur, das sind die Gallen bei den Pflanzen.

3. Birch-Hirschfeld, Das Carcinom. (Eulenburgs Realencyklopädie. Bd. IV. 1894.) Zuweilen verläuft das Carcinom in Form einer akuten Krankheit mit multipler Knotenentwicklung in den meisten Organen. In diesen Fällen führt die carcinomatöse Erkrankung unter Fiebererscheinungen, Hirnsymptomen und gestörter Respiration sehr bald den Tod herbei. Die Carcinomknoten erreichen daher nur geringen Umfang, so daß der Ausdruck „akute miliare Carcinose“ Berechtigung hat. — Die Zurückweisung der Einwände gegen die parasitäre Natur der Zelleinschlüsse bei Carcinose wäre möglich auf Grund einer differentiellen Färbemethode.

4. A. Sticker, Ueber den Krebs der Tiere u. s. w. (Langenbecks Archiv. Bd. LXV. 1902. p. 1069.): Der Hautkrebs der Schweine hat zwei Lieblingsstellen, deren eine am Unterkiefer sich dort befindet, wo beim Fressen aus den Trögen leicht Hautabschürfungen auftreten, deren andere die Kastrationsnarbe der weiblichen Tiere ist. — Gelegentlich tritt der Hautkrebs der Schweine so häufig auf, daß die Zucht aufgegeben werden muß. Eine derartige Krebs epidemie beobachtete Eggeling bei Wülperode in der Provinz Sachsen.

— (l. c. p. 1077): Verhältnismäßig häufig erkrankt beim Pferde der Oberkiefer carcinomatös; eine ähnliche Vorliebe zeigt die Aktinomykose für den Unterkiefer des Rindes. „Ein jeder Parasit hat einen Lieblingswirt und ein Lieblingsorgan.“

—: Der Schilddrüsenkrebs der Hunde tritt endemisch auf. Unter 34 obduzierten Hunden wurden in Dresden 24 gefunden, die mit Schilddrüsenkrebs behaftet waren, während in Berlin unter 1300 obduzierten Hunden nur 4 ein solches Carcinom zeigten.

5. Ayson, Bonnet, Gilruth, Hofer, L. Pick, Marianne Plehn, Scott beschreiben den endemischen Schilddrüsenkrebs bei Edelfischen, der gelegentlich in kolossaler Verbreitung auftritt. — An Epitheliomen der Haut erkranken nicht selten sämtliche Fische eines Teiches. (Vgl. Marianne Plehn, Ueber Geschwülste bei Kaltblütern. Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 44. Vereinsbeilage und Zeitschr. f. Krebsforschung. Bd. IV. 1906.)

6. v. Eiselsberg, Erkrankungen der Schilddrüse. (Deutsche Chir. Bd. XXXVIII. 1901. p. 59 u. ff.) Es ist bekannt, daß Leute, die vorher stets kropffrei waren, dadurch, daß sie in eine Kropfgegend ziehen, kropfkrank werden können. — Virchow und Lücke bekundeten, daß in dem Trinkwasser von Gegenden, in denen das Adenom der Schilddrüse endemisch auftritt, ein Agens enthalten sein müsse, das wie ein „Miasma“ in den menschlichen Organismus eindringt. Aufkochen macht das verdächtige Wasser unschädlich; auch dürfen Leute, die zu Kropf neigen, sich in den Kropfgegenden ungestraft aufhalten, falls sie nur Mineralwasser trinken. — Carcinome und Sarkome der Schilddrüse werden in Gegenden, wo der Kropf endemisch auftritt, besonders häufig beobachtet. (Vergl. Hauser l. c. p. 111. Die Drüsenkrebse bieten die besten Beispiele dafür, daß dem krebsigen Stadium das eines gutartigen Adenoms von oft sehr langer Dauer vorangeht.)

Den mitgeteilten Daten, die leicht vermehrt werden können, sei ein Hinweis auf die Publikationen von Borrel<sup>1)</sup> und Noesske<sup>2)</sup> hinzugefügt. Beide Autoren bestreiten die parasitäre Deutung der von Foá, Plimmer, Soudakewitsch und Anderen beschriebenen vakuolären Zelleinschlüsse in Carcinomen, da dieselben in allen möglichen normalen und pathologischen Gewebekomplexen gefunden werden können. Demgegenüber ist zu bemerken, daß aus der morphologischen Uebereinstimmung dieser Gebilde nicht auf ihre Identität geschlossen werden darf, und daß deshalb keine Veranlassung vorliegt, alle vakuolären Formen übereinstimmend zu deuten. — Den Gegenstand der Vakuolen und Granula habe ich in einer der vorangegangenen Publikationen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 6) eingehender behandelt.

1) Borrel, A., Les théories parasitaires du cancer. (Annales de l'Institut Pasteur. Bd. XV. 1901.)

2) Noesske, Untersuchungen über die als Parasiten gedeuteten Zelleinschlüsse in Carcinomen. (Deutsche Zeitschr. f. Chir. Bd. LXIV. 1902.)

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die Filtrierbarkeit der Schweinepestbacillen (*Bac. suispestifer*).

[Veröffentlichungen aus dem Reichsseruminstitut in Rotterdam.]

Von **Louis F. D. E. Lourens** aus Delfshaven (Holland),  
 Unterdirektor des Reichsseruminstitutes in Rotterdam.

Mit 5 Figuren.

**Geschichtliches.** Die erste Mitteilung über die Schweinepest findet man in der amerikanischen Literatur.

Nach einer Monographie, herausgegeben von dem Bureau of Animal Industry, trat im Jahre 1833 im Staate Ohio eine Seuche unter den Schweinen auf, welche nach den beschriebenen Symptomen ganz gewiß Schweinepest war. In dieser Monographie wird gesagt, die Krankheit sei aus Europa eingeführt worden, wiewohl für letzteren Kontinent die erste Beschreibung einer solchen Krankheit vom Jahre 1846 datiert. Hamon<sup>1)</sup> beschrieb damals eine Krankheit unter den Schweinen, welche durch Gastroenteritis mit Geschwüren in den Därmen kompliziert mit Lungenentzündung charakterisiert war, ohne Zweifel wirkliche Schweinepest.

In Amerika blieb die Schweinepest aber mehr sporadisch, bis 1845, nach welcher Zeit die Krankheit sich über das ganze Land verbreitete, und seitdem ist sie dort immer vorgekommen.

Nach Brown<sup>2)</sup> ist die Schweinepest einige Jahre vor 1862 aus Amerika nach England gebracht worden, dann von hier aus wahrscheinlich durch die Einfuhr von Zuchtschweinen nach Schweden und wiederum von hieraus 1887 nach Dänemark.

Durch die Einfuhr von Schweinen aus der Provinz Oran (Algier) entstand nach Rietsch, Jobert und Martinand<sup>3)</sup> 1887 eine furchtbare Schweinepestepidemie in der Umgegend von Marseille. Von hier sollte sich die Seuche nach Italien wie auch nach Spanien verbreitet haben.

Erst um das Jahr 1890 zeigte sich die Krankheit häufig in Deutschland. Nach Preisz<sup>4)</sup> aber sollte sie schon einige Jahrzehnte vorher vorgekommen sein, nicht so sehr als eine selbständige Krankheit, sondern kombiniert mit Brustseuche. Es wurde schon im Jahre 1875 von Roloff<sup>5)</sup> eine käsige Darmentzündung bei Schweinen beschrieben, welche Krankheit ansteckend war und daher sehr wohl Schweinepest gewesen sein mag.

In Oesterreich-Ungarn war sie bis 1895 ganz unbekannt; seitdem aber verbreitet sie sich auch dort in bedeutender Weise.

In Holland war die Krankheit unbekannt, bis am Ende des Jahres 1900 von Poels<sup>6)</sup> infolge eines Regierungsauftrages eine Untersuchung

1) Hamon, Gastro-enterite du porc. (Recueil de méd. vétér. 1846.)

2) Brown, Report on swine-fever in Great Britain 1886.

3) Rietsch, Jobert et Martinand, L'épidémie des porcs à Marseille en 1887. (Compt. rend. T. CVI. 1888.)

4) Preisz, Aetiologische Studien über Schweinepest und Schweineseptikämie. Budapest 1897.

5) Roloff, Die Schwindsucht, fettige Degeneration, Skrofulose und Tuberkulose bei Schweinen. Berlin 1875.

6) Poels, De varkensziekten in Nederland 1905.

über die auftretenden, große Verluste bedingenden Krankheiten bei den Schweinen angestellt wurde. Sogleich stellte sich heraus, daß man in den Fällen, wo fortwährend eine größere Sterblichkeit bei den Schweinen und namentlich bei den jungen Ferkeln sich zeigte, Schweinepest vor sich hatte.

**Ursache der Schweinepest.** Die großen Verluste, welche die Schweinepest in Amerika verursachte, veranlaßten weitläufige Untersuchungen über die Natur dieser Krankheit, so daß schon 1878 von Detmers<sup>1)</sup> mitgeteilt wurde, daß es eine Krankheit des Verdauungskanales, hervorgerufen durch einen Mikroorganismus, sei. Er fand sodann als Ursache mehrere Bakterien, nämlich ein „Bacterium suis“ und späterhin einen „Micrococcus“. Auch von Salmon<sup>2)</sup> wurde ein Micrococcus als Ursache dieser Krankheit gefunden, ohne daß man jedoch über diese Verhältnisse vollkommen Klarheit erhielt.

Im Jahre 1885 stellten Salmon und Smith<sup>3)</sup> ausgedehnte Nachforschungen über die Erscheinung von Krankheiten bei den Schweinen an und es fand sich als Ursache eine spezielle Bakterie, welche genau von ihnen beschrieben wurde, indem im folgenden Jahre eine ausführliche Studie erschien, in welcher Salmon<sup>4)</sup> zu dem Schlusse kam, daß es zwei verschiedene Krankheiten gibt, nämlich die Hogcholera, bei welcher Abweichungen im Verdauungskanale hervortreten, und eine „infectious pneumonia in swine“, wobei die Lungenkrankheit die Hauptsache ist. Letzterer wurde der Name „Swineplague“ gegeben. Ausführlich wurden die Bacillen, welche diese Krankheiten hervorriefen, beschrieben, miteinander verglichen und deren Unterschiede bezüglich ihrer pathogenen Wirkung sowie ihrer morpho- und biologischen Eigenschaften erwähnt.

Salmon lenkte die Aufmerksamkeit auf die Tatsache, daß in chronischen Fällen von Hogcholera die Lungen sekundär von den Swineplaguebacillen infiziert werden können, so daß eine genaue bakteriologische Untersuchung nötig ist, um beide Krankheiten auseinanderzuhalten.

Der von Salmon beschriebene Swineplaguebacillus stimmte in seinen Eigenschaften mit dem von Loeffler<sup>5)</sup> in Deutschland bei der Brustseuche gefundenen überein.

Auf Grund der Untersuchungen von Detmers und Roloff sowie ausgedehnter eigener Erfahrung behauptete Billings<sup>6)</sup>, daß Salmon's Hogcholera und Swineplague identische Krankheiten wären. Er bestritt ebenfalls die Meinung von Schütz<sup>7)</sup>, daß die Schweineseuche pathologisch-anatomisch hauptsächlich eine infektiöse Pneumonie sei und betont, daß es sich um eine Septikämie, verlaufend unter verschiedenen Symptomen, nämlich bald mit intestinalen, bald mehr mit Lungenerschei-

1) Detmers, Report of the U. S. Depart. of Agricult. Washington 1878.

2) Salmon, On swineplague. (Second Ann. Report of the Bur. of Animal Industr. 1885.)

3) Salmon and Smith, The bacterium of swineplague. (The amer. monthly microscopical Journal. 1886.)

4) Salmon, Investigations of swine diseases (Hogcholera and infectious pneumonia in swine [swine plague]). (Report of the Commissioner of Agriculture for the year 1886.)

5) Loeffler, Experimentelle Untersuchungen über Schweinerotlauf. (Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Berlin 1886.)

6) Billings, Dr. Salmon's latest Hogcholera and Swineplague two distinct diseases. 1887.

7) Schütz, Ueber die Schweineseuche. (Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. 1885.)

nungen, handle. Der spezifische Organismus sollte von Detmers gefunden und von ihm zuerst als Ursache der Krankheit angesprochen worden sein. Ueberhaupt sollte derselbe dem Bacillus der Schweineseuche von Loeffler und Schütz ähnlich sein, ausgenommen daß der amerikanische eigene Bewegung zeigte und auf der Kartoffel wie ein kaffeeartiger Belag wächst, während der deutsche unbeweglich ist und auf der Kartoffel nicht wächst.

Spätere Nachforschungen haben es klar gemacht, daß der von Billings genannte Bacillus identisch ist mit dem Hogcholerabacillus von Salmon und Smith. Wiewohl im Jahre 1888 Schütz<sup>1)</sup> im Anschluß an eine Untersuchung über das Auftreten von Schweinepest in Dänemark, die daselbst von Bang 1887 auf der Insel Amager erkannt worden war, auf die Tatsache hinwies, daß jetzt drei ansteckende Schweineseuchen bekannt seien, nämlich der Rotlauf, die Brustseuche und die Schweinepest, fand man unter den zahlreichen späteren Bearbeitern der Frage, Cornil et Chantemesse, Klein, Oelander, Galtier u. A., keine Uebereinstimmung. Viele waren der Meinung, daß es sich um zwei verschiedene Seuchen handle, während Andere mehr der Ansicht von nur einer Krankheit zugetan waren.

Preis<sup>2)</sup> hat 1897 sehr umfangreiche Untersuchungen über Schweinepest und Brustseuche angestellt und darauf aufmerksam gemacht, daß, wiewohl diese Seuche von ganz verschiedenen Bakterien verursacht wird, dieselben doch sehr oft gleichzeitig bei einem und demselben Tiere sich vorfinden, wie das schon aus den ausgedehnten Nachforschungen von Salmon 1886 hervorging.

Poels bemerkt, daß die Schweinepest und die Brustseuche zwei ganz verschiedene Krankheiten seien, daß aber die Verwirrung der Angaben erklärbar sei, indem in manchen Fällen die Brustseuche als selbständige Krankheit unter den Schweinen herrschend, in anderen, namentlich bei ungünstiger Witterung, neben chronischer Schweinepest bei denselben Individuen gefunden wird. In eben diesen Fällen, bei welchen pathologisch-anatomisch die Erscheinungen der Schweinepest die Hauptsache sind, werden die Bacillen der ansteckenden Brustseuche durch bakteriologische Untersuchung sowie durch das Tierexperiment leicht nachgewiesen, die Pestbacillen aber übersehen, besonders wenn die bakteriologische Untersuchung nicht äußerst zuverlässig und genau angestellt wird. Das ist ganz gewiß der Grund, warum in späteren Untersuchungen der Brustseuchebacillus für die Ursache der Schweinepest gehalten wurde.

Als aber allgemein angenommen wurde, daß die Ursache der Schweinepest der Bac. suipestifer (Bac. cholerae suis) war, publizierten 1903 de Schweinitz und Dorset<sup>3)</sup> Untersuchungen, worin eine Krankheit beschrieben wurde, welche sowohl in Bezug auf Symptome wie pathologisch-anatomische Veränderungen der Schweinepest vollkommen ähnlich war, welche aber nicht von dem Pestbacillus verursacht wurde, sondern von einem Virus, das durch die feinsten porzellanenen Filter hindurchgeht. Die Krankheitsfälle, welche untersucht wurden, stammten aus dem südwestlichen Teil des Staates Yowa. Die Krankheit kann auf ein gesundes Tier durch eine subkutane Einspritzung von

1) Schütz, Die Schweinepest in Dänemark. (Arch. f. wiss. u. pr. Tierheilk. 1888.)

2) Preis, Aetiologische Studien über Schweinepest und Schweineseptikämie. 1897.

3) De Schweinitz u. Dorset, A form of Hog-cholera not caused by the Hog-cholera bacillus. (Bureau of Animal Industry. Oct. 1903. Circular No. 41.)



Lympe eines kranken Tieres, die durch porzellanene Filter filtriert wurde, übertragen werden. Diese Filtrate wurden vor der Einspritzung durch Anlegen von Kulturen sowie durch Einspritzung bei kleinen Versuchstieren auf die Anwesenheit von Pestbacillen untersucht. Die Seuche war sehr ansteckend; gesunde Tiere in Ställe neben kranke Ferkel gebracht, erkrankten ohne Ausnahme nach dem gewöhnlichen Inkubationsstadium. Kaninchen und Meerschweinchen waren nicht empfindlich für die Einspritzung derjenigen Menge solcher Filtrate, welche hinreichte, um Ferkel von 30—40 Pfund zu töten. Nach dem Inkubationsstadium, welches abwechselt zwischen 5—12 Tagen, gewöhnlich aber 7 Tage beträgt, zeigen die Tiere Erscheinungen von Mangel an Freßlust, dünnen, herabhängenden Bauch (hohl in den Flanken) und einen schwankenden Gang. Vielfach tritt Durchfall ein, oft mit Blut gemischt. Ohne Ausnahme ist eine Augenlidentzündung vorhanden, wodurch die Augenlider aneinander haften. Die gewöhnliche Dauer der Krankheit beträgt eine Woche, so daß die Tiere innerhalb 14 Tagen nach der Infektion sterben; bei älteren Tieren dauern Inkubationsstadium und Krankheit länger. Die pathologisch-anatomischen Erscheinungen sind Rotfärbung der Haut, mehr oder weniger verbreitet; im subkutanen Bindegewebe kommen häufig punktförmige Blutungen vor. Die Lymphdrüsen sind angeschwollen und rot-, oft bis schwarzgefärbt. Der Magen ist meistens normal, nur einzelne Blutungen in der Serosa; Dünn- und besonders Dickdärme weisen zahlreiche Blutungen auf, so auf Mucosa wie auf Serosa, indem sich nicht selten im Coecum kleine, frisch gebildete Geschwüre nachweisen lassen; Leber und Milz geschwollen, sehr blutreich; Lunge und Herz normal; Nieren stark geschwollen; alle aber mit Petechien besetzt. Kurz, es wurden in allen Einzelheiten dieselben Erscheinungen wie bei akuter Schweinepest gefunden. Es gelang ihnen ebenfalls, einen Fall mit mehr chronischem Verlauf hervorzurufen, welcher in Verlauf und Symptomen ebenso mit der chronischen Schweinepest übereinstimmte. Bei allen Ferkeln, die an der Krankheit durch filtriertes Infektionsmaterial gestorben waren, wurden immer virulente Pestbacillen gefunden, trotzdem genau Sorge dafür getragen war, daß sie nicht mit anderen Tieren oder Pestbacillen in dieser oder jener Weise in Berührung kamen.

Die gewöhnlichen Maßregeln, Isolierung der kranken Tiere, Desinfektion mit Karbol und Kalk waren hinreichend, um Weiterverbreitung der Krankheit zu verhüten.

Auf Grund dieser Untersuchungen kamen sie zu dem Schlusse, daß bei allen Epizootien von Schweinepest ein anderes Agens als der *Bacillus suispestifer* im Spiele ist und daß man in den Fällen, wo sich dieser *Bacillus* vorfindet, nicht eine reine Infektion, sondern eine gemischte, bestehend aus dem *Bacillus suispestifer* und dem Virus der Krankheit, wie es oben beschrieben wurde, vor sich hat.

Nach der Bekanntmachung dieser Mitteilungen wurde von Poels<sup>1)</sup> nachfolgender Versuch angestellt: Von einem Ferkel, welches klinisch wie auch bei Sektion mit akuter Schweinepest behaftet war und wo bei bakteriologischer Untersuchung Pestbacillen in den Organen sich vorfanden, wurden Leber, Milz, Herz, Därme und Darminhalt durch eine Fleischhackmaschine getrieben, Wasser zugesetzt, ausgepreßt und der Preßsaft durch ein Chamberland-Filter filtriert. Die auf diese Weise erhaltene bernsteingelbe, späterhin ein wenig rotgefärbte Flüssigkeit,

1) Verslag van de werkzaamheden der Rijksseruminrichting 1904—1905.

welche aber kristallhell war, wurde bei zwei Ferkeln an der inneren Fläche des Schenkels subkutan eingespritzt. Nach Verlauf von etwa zwei Wochen starben diese Tiere und es wurde bei der Sektion Schweinepest konstatiert, indem aus den Organen Pestbacillen dargestellt wurden. Die eingespritzte Flüssigkeit war durch Anlage von Agarkulturen auf ihre Sterilität geprüft worden. Weitere Experimente wurden nicht vorgenommen.

Poels ist der Meinung, daß solche Versuche nur dann ein positives Resultat geben werden, wenn das Filtrat aus Organen von Ferkeln, die mit akuter Schweinepest behaftet sind, bereitet wird.

1905 erschien eine ausführliche Arbeit von Dorset, Bolton und McBryde<sup>1)</sup>, in deren Einleitung erwähnt wird, daß, wiewohl durch die ausführlichen Untersuchungen von Salmon und Smith der Schweinepestbacillus als Ursache der Schweinepest nachgewiesen wurde und diese Angabe nachher durch sehr viele Nachuntersuchungen bestätigt worden ist, es dennoch eine Menge von Tatsachen gebe, welche mit der Annahme dieses Bacillus als ausschließliche Ursache der Seuche nicht ganz vereinbar sind. Sie glauben, daß durch ihre Untersuchungen viele dunkle Punkte aufgeklärt worden sind. Die Diagnose „Schweinepest“ machen sie von folgenden Bedingungen abhängig: 1) Die Tiere müssen sowohl klinisch wie pathologisch-anatomisch die bekannten Erscheinungen zeigen; 2) muß die Krankheit leicht durch Berührung von einem Tier auf das andere übergehen; 3) die Krankheit muß durch subkutane Einspritzung des Blutes eines kranken Tieres übertragen werden können; 4) müssen die Tiere nach überstandener Krankheit für neue Infektion immun sein. Ungeachtet dessen, daß sie ihre Experimente mit Pestbacillen verschiedener Herkunft, welche für kleine Versuchstiere sehr virulent waren, anstellten, konnten sie schwer durch subkutane Injektion die Krankheit hervorrufen, denn solche Tiere zeigten sich nach der Abheilung der Infektion noch für die spontane Infektion prädisponiert.

Durch intravenöse Infektion oder durch die Verfütterung von Pestbacillen gelang es ihnen in der Regel, Ferkel krank zu machen und zu töten. Durch Einspritzung des Blutes kranker Tiere bei gesunden konnte die Krankheit immer übertragen werden; es stellte sich aber heraus, daß durch fortgesetzte Impfung von einem Individuum auf das andere die Virulenz in dem Grade abnahm, daß man nach mehreren Monaten kein Tier mehr krank machen konnte.

Bei der Sektion konnte man keinen Unterschied feststellen zwischen Ferkeln, die an spontaner Infektion und solchen, die nach Infektion mit Pestbacillen gestorben waren. Durch Füttern mit Bacillen entstanden Erscheinungen im Darmkanale, in dem durch intravenöse Infektion mehr eine Septikämie verursacht wurde. Der größte Unterschied aber bestand darin, daß die so hervorgerufene Krankheit sehr wenig ansteckend war, daß das Blut solcher Tiere nicht virulent war für andere, und daß Tiere, welche von der experimentell hervorgerufenen Krankheit genasen, nicht immun für spontane Infektion waren. Demzufolge dachten sie sich, daß in dem Blut kranker Schweine außer dem Pestbacillus noch ein anderes Agens anwesend sein muß, und so entschlossen sie sich, Experimente mit Blut kranker Tiere zu machen, in welchem keine Pestbacillen enthalten waren. Zuerst wurde in der Art vorgegangen, daß man Blut

1) Dorset, Bolton and McBryde, The etiology of Hog-cholera. (Biochemic Division. Bureau of Animal Industry. U. S. Departm. of Agric. Bulletin No. 2. 1905.)

vom kranken Tiere im Stadium vor der Invasion der Bacillen, die in der Regel 7 Tage nach der Infektion stattfindet, nahm. Bei diesen Experimenten zeigte sich das Blut schon am 2. Tage nach der experimentellen Infektion virulent, während in einem Falle die Pestbacillen am 3. Tage, in einem anderen erst am 5. Tage nachweisbar waren. Durch Anlage von Kulturen vom 2. Tage an wurde die Abwesenheit von Pestbacillen konstatiert.

Zu einer zweiten Reihe von Versuchen wurde das Blut der kranken Tiere durch Chamberland-Filter (F und B) und Berkefeld-Filter filtriert. Zu diesem Zwecke wurde das Blut kranker Tiere in den Eiskasten gestellt und nach Gewinnung des Serums verdünnte man letzteres mit der zehnfachen Menge Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung. Von dem Filtrat wurden 22 ccm eingespritzt. Bei diesen Versuchen starb eine Anzahl der infizierten Tiere mit typischen Symptomen, wiewohl die Zahl der Todesfälle geringer war als bei den mit filtriertem Blut eingespritzten Ferkeln, ein Umstand, der zeigt, daß im Filtrat weniger Kontagium anwesend ist, indem ein Teil desselben auf dem Filter zurückbleibt. Die so erzeugte Krankheit war ansteckend für andere Ferkel, obgleich einige Kontrolltiere gesund blieben. Es waren dies Tiere, die die Krankheit überstanden hatten und für die natürliche Infektion unempfindlich waren. Das Gewebe dieser Ferkel war virulent, durch Verfüttern der Organe und Eingeweide konnte die Krankheit weiter fortgepflanzt werden. Dies geschah auch durch Harneinspritzung, wobei man aber nicht übersehen darf, daß der Harn viel Pestbacillen enthält. In allen Fällen, wo Kulturen aus den Organen von Ferkeln, gestorben infolge der Einspritzung mit filtriertem Serum, vorlagen, wurden stets Pestbacillen vorgefunden.

Auf Grund dieser Untersuchungen kommen sie zu folgenden Schlüssen: Die Krankheit, die durch das filtrierte Serum verursacht wird, ist ansteckend. Das Blut solcher Tiere ist infektiös. Wenn die Krankheit überstanden ist, sind die Ferkel gegen spontane Infektion unempfindlich.

Der *Bac. cholerae suis* ist bei Schweinen eine sehr pathogene Bakterie, welche im stande ist, der Schweinepest ganz ähnliche Krankheitserscheinungen hervorzurufen. Die so erzeugte Krankheit aber steht in Bezug auf Kontagiosität, Infektiosität und in dem Vermögen, Immunität hervorzurufen, der spontanen Infektion gegenüber zurück. Demzufolge und auf Grund der Filtratexperimente kommen sie zu dem Schlusse, daß ein sonstiges Virus im Spiele sein muß; es gelang ihnen aber nicht, dieses nachzuweisen, weder mittels Kulturen noch durch das Mikroskop, sondern nur auf experimentellem Wege. Daß dieses Virus kein Toxin ist, wird dadurch bewiesen, daß die so erzeugte Krankheit auf gesunde Tiere übergeht. Auf Grund der Tatsache, daß in allen untersuchten Fällen der *Bac. cholerae suis* anwesend war, muß angenommen werden, daß dieser Bacillus nächst dem filtrierbaren Virus eine wichtige Rolle spielt, und daß der letale Verlauf durch seine Anwesenheit sehr oft beschleunigt wird, kann nicht bezweifelt werden. Das filtrierbare Kontagium wird die primäre, der Pestbacillus die sekundäre Ursache sein; in einigen Fällen wird ersteres die Widerstandskraft der Tiere verringern, wodurch die Pestbacillen im stande sein werden, in den Körper vorzudringen. Die genannten Forscher nehmen weiter an, daß es Seuchen gibt, bei welchen das filtrierbare Kontagium nicht betätigt ist, die somit ausschließlich durch die Pestbacillen verursacht

werden und die auch deutlich kontagiös sind. Daß bei Ferkeln nach Einspritzungen mit filtriertem Serum sich immer Pestbacillen vorfanden, beweise ihnen, daß diese Bacillen als normale Bewohner auf oder in dem Körper gesunder Schweine betrachtet werden müssen. Einstweilen haben aber in dieser Richtung angestellte Versuche diese Meinung nicht bestätigt.

Bei bestimmten Epizootien im Staate Michigan war das Blut der atypischer Schweinepest gestorbenen Schweine nicht ansteckend; durch Einspritzung mit filtrierter Körperflüssigkeit aber konnte die Krankheit übertragen werden.

Boxmeyer<sup>1)</sup> stellte bei 5 infizierten Schweinen fest, daß der aus den Kadavern gewonnene, durch ein Berkefeld-Filter filtrierte Saft Schweine nach 19—38 Tagen unter gleichen Symptomen wie bei natürlicher Infektion tötete. Bei der Sektion fand man charakteristische Geschwüre im Darmkanal; das Blut war infektiös.

Die Filtrate waren durch Impfung bei Kaninchen und Meerschweinchen auf ihre Sterilität geprüft worden. Es ist die Frage, ob der Schweinepestbacillus wohl Hauptursache der Infektion sei, oder ob diese, die der Rinderpest gleicht, nicht durch einen anderen Organismus, der durch die Poren eines Berkefeld-Filters geht, bedingt wird. In Uebereinstimmung mit der vermeinten Ähnlichkeit mit Rinderpest versuchten Boxmeyer und McClintock eine Immunisation durch Einspritzung mit einer Mixtur aus virulentem Blut und Blut eines immunisierten Tieres. Das Verfahren soll schon ermutigende Resultate gezeigt haben.

Während 2 Jahren stellte Hottinger<sup>2)</sup> Untersuchungen mit *Bac. suipestifer* und *Bac. Sanarelli*, welch letzterer Bacillus von Sanarelli als Ursache des gelben Fiebers beschrieben wurde, an. Zwischen diesen beiden Bacillen besteht in morphologischer und biologischer Hinsicht große Ähnlichkeit. Durch seine Experimente kam Hottinger zu dem Schlusse, daß der *Bac. suipestifer* hinsichtlich seiner Pathogenität großen Schwankungen ausgesetzt ist. Einige Versuchstiere starben innerhalb 24 Stunden, andere hingegen erst nach Monaten, ohne daß hierfür irgend welcher Grund, auch betreffs des Quantum, angeführt werden konnte. Auch ist die Kontagiosität bei künstlicher Infektion sehr zweifelhaft. Erst nach 4 Monaten trat der Tod bei einem Schwein nach Fütterung mit großen Quanten Agar- und Milchkulturen ein, und andere Tiere, neben diesem Schweine gehalten, ohne daß sie sich berühren konnten, während aber doch Mist und Harn in ihren Stall liefen, blieben ganz gesund und zeigten bei der Sektion keine einzige auf die Krankheit bezügliche Veränderung. In einen Kaninchenstall, in welchem ein Kaninchen nach Infektion mit Pestbacillen starb, wurde ohne vorhergehende Desinfektion ein neues Kaninchen gesetzt, das am folgenden Tage tot war; aus der Leber wurden Pestbacillen isoliert. Dies war eine natürliche Infektion, trotzdem das Inkubationsstadium zu kurz war und niemand mitgeteilt hat, daß an Orten, wo unter Schweinen Schweinepest herrscht, eine ähnliche Krankheit unter Kaninchen oder Meerschweinchen konstatiert wurde. Infolge seiner eigenen und mit Rücksicht auf die oben erwähnten amerikanischen Untersuchungen kommt

1) McClintock, Ch. T., Boxmeyer, Ch. H. and Siffer, J. J.. Studies on Hogcholera. (Journ. of inf. Diseases. 1 März 1905; Bull. de l'Inst. Pasteur. T. III. Juillet 1905.)

2) Hottinger, Ueber das Verhältnis des *Bac. suipestifer* zur Schweinepest. (Schweizer Arch. f. Tierheilk. Bd. XLVII. 1905. Heft 5.)

Hottinger zu dem Resultat, daß der Pestbacillus nicht die Ursache der Schweinepest ist. Das Zunehmen der Seuche trotz der getroffenen sanitären Maßregeln beruht nach seiner Ansicht auf dem Fehler, daß die Maßregeln nur gegen den Bac. suipestifer gerichtet sind, der doch seines Erachtens nur ein coliähnlicher Darmsaprophyt mit erworbenen pathogenen Eigenschaften ist, der immer, aber nicht ausschließlich, bei mit Pest behafteten Tieren vorgefunden wird.

Angeregt durch die erwähnten Untersuchungen über Schweinepest in Amerika wurden im Boardslaboratorium <sup>1)</sup> Nachprüfungen mit Material von „Swine-fever“-Ferkeln aus verschiedenen Teilen des Landes angestellt. Diese Experimente bestätigten einige der wichtigen und neuen Tatsachen. Festgestellt wurde, daß das Blut der Schweinepestkranken nach Filtrierung durch das Chamberland-Filter virulent ist, so daß es durch Filtrieren möglich ist, festzustellen, ob Schweinepest in solchen Fällen vorhanden ist, wo Tiere ohne die typischen Veränderungen der Seuche sterben. Diese Methode soll schon ausgezeichnete Resultate ergeben haben.

Zu Filtrierversuchen benützte Hutyra <sup>2)</sup> den Kadaver eines 2-jährigen Schweines, welches wegen sehr akuter Krankheit notgeschlachtet werden mußte. Die Sektion ergab krupös-katarrhalische Pneumonie, graurote Hepatisation mit seröser Infiltration der intralobulären Septa und akute Schwellung der Lymphdrüsen; Darmschleimhaut glatt. Im Lungenabstrich massenhaft bipolare Bacillen, auf Agar typische Kulturen derselben, virulent für Meerschweinchen und Mäuse. Die für diese Experimente benützte Lungenflüssigkeit und das Blutserum wurden durch ein Chamberland-Filter F filtriert. Das Filtrat erwies sich in der Kultur als keimfrei. Ein Ferkel, 5 Monate alt, wurde mit Filtrat des Blutserums des notgeschlachteten Schweines eingespritzt. Nach 2 Tagen erkrankte dieses Tier unter Fieberscheinungen, Mangel an Freßlust, Husten, dünnem Kotabsatz und fortwährendem Liegen. Nach etwa 18 Tagen trat allmählich Wiederherstellung ein. Das Tier wurde 25 Tage nach der Einspritzung geschlachtet. Bei der Sektion fand man an den Rändern des vorderen Lungenlappens stellenweise graurote Hepatisation, in der Nähe des oberen Randes der rechten Lunge einige kleine, nekrotische Herde. Follikel in der Schleimhaut des Dickdarmes bis linsengroß mit zentralen Eiterpfropfen. In der Nähe der Aftermündung drei erbsengroße submuköse Eiterknoten. In den hepatisierten Lungenteilen wurden bipolare Bacillen gefunden, in den nekrotischen Herden der Lunge, in den Darmfollikeln und in den submukösen Darmabscessen Streptokokken.

Ein zweites Ferkel, ebenfalls 5 Monate alt, wurde mit filtrierter Lungenflüssigkeit eingespritzt; nach 3 Tagen Fieber und weniger Freßlust, nach 6 Tagen Diarrhöe. Nach 18 Tagen erholte sich das Tier allmählich und wurde dem Anscheine nach wieder gesund. Es blieb am Leben und entwickelte sich weiter normal, indem auch sogar nach dem Fressen kranker Organe keine Krankheit auftrat.

1) Board of agriculture and fisheries. (Annual reports of proceedings under the diseases of animal acts etc. for the year 1905.)

2) Hutyra, Zur Aetiologie der Schweinepest und der Schweineseuche. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1906. No. 32.)

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

## Ueber die Uebertragung der Syphilis auf den Hoden des Kaninchens.

[Aus dem Institute für pathologische Anatomie der Universität Turin  
(Vorstand: Prof. Pio Foà).]

Von Dr. **Umberto Parodi**, Assistenten.

Die durch zahlreiche andere Forscher bestätigten Versuche von Bertarelli bewiesen die Möglichkeit der Uebertragung der Syphilis auf die Kaninchenhornhaut.

Die von mir ausgeführten Versuche beweisen, daß man mit vom Menschen entnommenen syphilitischen Material den Hoden des Kaninchens infizieren kann, resp. daß dort *Treponema pallidum* (Spirochäte Schaudinns) gedeihen kann.

Versuch. Kaninchen (Gewicht 1800 g). Am 11. Mai 1907 machte ich einen kleinen Schnitt in die Tunica albuginea und versuchte, unter dieselbe ein kleines Stückchen einer syphilitischen Papel zu stecken. Da es mir nicht gelang, das Material unter der T. albuginea zu fixieren, ließ ich es unter der T. vaginalis liegen.

Am 9. Juni 1907 tötete ich das Tier. Der makro- und mikroskopische Befund war im großen und ganzen genommen der folgende: Die T. albuginea zeigt eine 5 Pfennig große hyperämische Fläche, welche der Zone entspricht, wo ich die Infektionsversuche gemacht hatte. Der Hoden wurde an einer dieser hyperämischen Zone — welche an der Oberfläche des Organes sichtbar war — entsprechenden Stelle seinem länglichen Durchmesser nach senkrecht durchgeschnitten, und auf der Schnittfläche fand ich, der hyperämischen Zone entsprechend, das Hodenparenchym hyperämisch, derb und infiltriert. Auf der Schnittfläche zeigt diese veränderte Zone makroskopisch eine dreieckige Form, mit dem Scheitelpunkt nach dem Innern des Organs und der Basis nach der Peripherie desselben. Durch die üblichen Methoden der histologischen Technik findet man in der betreffenden Zone eine intensive kleinzellige Infiltration, welche hauptsächlich aus Elementen des lymphoiden Typus besteht und sowohl um die Gefäße der T. vasculosa unter der T. albuginea wie um die Gefäße, welche sich zwischen den Tubuli befinden, lokalisiert ist. Einige Gefäße zeigen auch eine Wucherung der Adventitia-Zellen. Die Zahl der polymorphen Leukocyten ist eine sehr geringe. Die Hodenkanälchen (Tubuli seminiferi) sind in der genannten Zone auch verändert. Durch den Prozeß von Volpino-Levaditi kann man sowohl im soeben beschriebenen Granulationsgewebe wie im Innern der veränderten Tubuli seminiferi die Anwesenheit von Spirochäten nachweisen, deren Zahl je nach den untersuchten Stellen eine verschiedene ist.

Näheres werde ich später mitteilen. Hier will ich nur betonen, daß der histologische Typus der Läsion und die Anwesenheit von Spirochäten an verschiedenen Stellen derselben für die Annahme sprechen, daß ich experimentell im Hoden des Kaninchens die Entstehung eines echten Syphiloms erzeugt habe.

Das Resultat meines Versuches wurde in der Sitzung vom 14. Juni 1907 der R. Accademia di Medicina in Turin mitgeteilt, wobei auch die Präparate von mir vorgelegt wurden.

*Nachdruck verboten.***Beobachtungen über die Malaria der Pferde (Piroplasmose).**[Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität zu Bologna  
(Direktor: Prof. G. Tizzoni).]Von Dr. **Pietro Perrucci.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Im Juli vergangenen Jahres zeigte sich eine umschriebene Epizootie unter den Pferden der 2. Trainkompagnie des 3. Artillerieregiments in Bologna; die Zahl der befallenen Tiere betrug nur 8. An diesen habe ich meine Untersuchungen angestellt, welche die wertvollen Studien von Baruchello und Mori<sup>1)</sup> über diesen Gegenstand bestätigen und zeigen, daß man bei der geographischen Verbreitung der Piroplasmose der Pferde, abgesehen von den schon in den verschiedenen Gegenden Italiens festgestellten Zonen [Baruchello und Pricolo<sup>2)</sup>] auch die Provinz Emilia (Bologna) mit hinzurechnen muß.

Bei meinen Beobachtungen über die Malaria des Pferdes habe ich ferner bemerkenswerte Tatsachen kennen gelernt, die von keinem der früheren Beobachter erwähnt worden sind. Gerade hinsichtlich dieser Tatsachen halte ich hier einige Bemerkungen für angebracht, und zwar werde ich der größeren Klarheit halber die vorliegende Arbeit in 3 verschiedene Abschnitte einteilen, nämlich a) Klinischer Teil; b) Hämatologische Untersuchungen; c) Experimentelle Untersuchungen zur Uebertragbarkeit der Krankheit mittels des Blutes.

**a) Klinischer Teil.**

Das klinische Bild, das die von mir untersuchten Tiere zeigten, weicht von dem allgemein bekannten etwas ab. Auch ich habe konstatieren können, daß die fundamentalen klinischen Symptome der Krankheit, kurz gesagt, Fieber, Ikterus, Petechien und Hämoglobinurie sind [Baruchello<sup>3)</sup>]; aber hinsichtlich ihres Verhaltens habe ich bei jedem von ihnen Verschiedenheiten und Eigentümlichkeiten bemerkt, die besonders hervorgehoben zu werden verdienen. So hat das Fieber bei den charakteristischen Anfällen vorwiegend den Typus des kontinuierlichen Fiebers angenommen, und wenn es auch manchmal eine Andeutung von Intermittenz zeigte, so ist diese doch niemals im Tertiantypus aufgetreten. Der Ikterus ist immer sehr deutlich auch in den leichten Formen gewesen, während die Petechien in einem Falle fehlten. Die Petechien wurden von mir, abgesehen von der Conjunctiva, auch in der Mund- und Nasenschleimhaut gefunden; hier nahmen sie, soweit ich gesehen habe, einige Besonderheiten an, denn sie zeigten sich zahlreich,

1) Baruchello e Mori, Su una infezione protozoaria nei cavalli della provincia di Roma. (La Clinica veterin. Luglio 1905. p. 157.) Sulla eziologia del così detto tifo o febbre peteechiale del cavallo (contributo allo studio della Piroplasmosi equina). (Rivista d'Artigl. e Genio. 1905. Vol. III. Annali d'Igiene speriment. 1906. Fasc. 1). Untersuchungen über die Piroplasmose des Pferdes. (Centralbl. f. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 6. p. 593—604.)

2) Baruchello e Pricolo, Sull' area geografica della piroplasmosi equina in Italia. (Clinica veter. Anno XXIX.)

3) Baruchello, I sintomi clinici fondamentali della malaria del cavallo. (La Clinica veterin. 1906. No. 31.)

in miliarer Größe und besonders disseminiert in demjenigen Teile der Schleimhaut, welcher das Septum bekleidet. Endlich habe ich bei der Hämoglobinurie in manchen Fällen die Eigenschaft des doppelten Anfalles konstatieren können.

Ich muß noch erwähnen, daß bei meinen Kranken die Darmfunktionen nicht alteriert erschienen, und daß man das Auftreten eines bläschenförmigen Herpes labialis beobachten konnte, der ungefähr 3—4 Tage nach dem Fieber begann, dann in das borkenförmige Stadium übergang und beim Beginne der Rekonvaleszens abheilte. Bemerkenswert ist auch die reichliche Polyurie, die mit dem Eintreten der Rekonvaleszens zusammenzufallen pflegte. Der entleerte Urin zeigt sich von ganz blaßgelber Farbe und von klarem Aussehen; seine Dichtigkeit kann manchmal bis auf 1004 steigen. Diese Erscheinung, die ein Gegenstück zu der Polyurie der Rekonvaleszenz der Malaria bilden würde, dauert 3 bis 4 Tage; hierauf kehrt die Nierenfunktion wieder zur Norm zurück.

Was die Behandlung anbetrifft, so muß ich sagen, daß die Chininsalze keine spezifische Wirkung auf das *Piroplasma equi* gezeigt haben, in welcher Weise man sie auch angewandt hat. In der Tat hat sich auch nach reichlichem Gebrauche dieses Heilmittels niemals irgend eine Veränderung in der Struktur der Parasiten (wie Schrumpfung und geringere Färbbarkeit des Kernes) vollzogen, noch ließ sich eine Verminderung, geschweige denn ein völliges Verschwinden derselben beobachten. Gleichzeitig zeigte auch das klinische Bild keine Besserung; das Fieber hielt sich immer auf derselben Höhe und auch die Schwere der anderen Symptome ließ keine Abnahme erkennen, so daß die Krankheit sich nach Verlauf und Dauer ebenso darstellte, wie in denjenigen Fällen, die man zur Kontrolle nur der Wirkung der Natur überlassen hatte.

#### b) Hämatologische Untersuchungen.

Zur Untersuchung des Blutes habe ich die übliche Technik angewandt, mit Hilfe deren es mir gelang, auch in einfachen, frischen Präparaten das Vorkommen des *Piroplasma* festzustellen; das Studium des Parasiten wurde jedoch erleichtert, wenn man die gewöhnlichen Färbemethoden anwandte. Ich habe die Marinosche Methode vorgezogen, weil sie vollkommen differenzierte Färbungen liefert und, da sie keine Fixierung des Materials erfordert, auch rascher und sicherer ist (ungefähr 15 Minuten).

Parasitologie. Meine Untersuchungen über die Pferdemiaurie berechtigen mich zu der Behauptung, daß die Parasiten im peripherischen Blute sich im Anfange des Fiebers immer, und zwar in großer Anzahl, nachweisen lassen; darauf sieht man, wie sie in kurzen Zwischenräumen abnehmen, ganz verschwinden und wieder auftreten, und zwar unabhängig von dem Verhalten der Fieberkurve. Deshalb ist der günstigste Zeitpunkt für die Beobachtung und das Studium des Parasiten sicherlich die Anfangsperiode der Krankheit. Hat man nicht die günstige Gelegenheit, diesen Augenblick zu treffen, so darf man sich bei dem negativen Ergebnisse einer ersten und einzigen Untersuchung nicht beruhigen, wenn man nicht einem Irrtum zum Opfer fallen will.

Was die Morphologie der Piroplasmen in den zahlreichen Blutpräparaten der 8 von mir untersuchten malariakranken Pferde anbetrifft, so schließe ich mich der von Baruchello und Mori angegebenen Klassifikation an. Ich habe nämlich rundliche, längliche, auf dem Wege der Spaltung begriffene und geißeltragende



Formen in den von den obigen Autoren angegebenen Mengenverhältnissen angetroffen. Außerdem muß ich hinzufügen, daß nur ein einziges Blutpräparat genügt, um alle erwähnten Formen festzustellen, welche zweifellos die Vertreter verschiedener Entwicklungsstadien des Piroplasmas sein müssen. Man kann deshalb behaupten, daß die Parasiten der Pferdemalaria sich im Blute nicht unter den verschiedenen einem geregelten Entwicklungskreise entsprechenden Formen zeigen.

Ich muß noch hinzufügen, daß das *Piroplasma equi* etwas von den oben beschriebenen Grundtypen durch seine Form und Anordnung abweicht. So habe ich unter den sonderbareren Formen solche in Gestalt einer großen 8 beobachten können, die zwei deutlich unterscheidbare Anhäufungen von Chromatin enthielten; ein anderes Mal dagegen habe ich wieder Formen gesehen, die aus der Vereinigung von drei oder nur zwei parasitären Körpern hervorgegangen zu sein schienen; in diesem letzten Falle sind die Parasiten seitlich einander genähert oder liegen auch einander gegenüber. Was die Anzahl und die Größenverhältnisse der Piroplasmen hinsichtlich des sie beherbergenden Blutkörperchens anbetrifft, so stimmen meine Beobachtungen mit den Angaben überein, die Baruchello und Mori in der zitierten Arbeit gemacht haben. Manchmal habe ich jedoch Blutkörperchen gesehen, in welche zahlreiche kleine birnförmige Formen (bis zu 6--7) eingedrungen waren, deren gegenseitige Lage durchaus unregelmäßig war und deren Chromatin sich in dem angeschwolleneren Teile befand.

Die Parasiten der Pferdemalaria kann man auch leicht getrennt von den Erythrocyten, d. h. frei im Plasma finden; in einem solchen Falle habe ich beobachten können, daß sie eine rundliche, birnförmige, rhombische oder spindelförmige Gestalt annehmen. Manches birnförmige Element kann außerdem an dem dickeren Teile einen Einschnitt haben, wodurch es eher die Gestalt eines Spielkartenherzens annimmt.

Was die Lage der freien Parasiten anbetrifft, so können sie sich vollkommen getrennt von den Blutkörperchen vorfinden, sie mit einer ihrer Seiten berühren oder auch mit einem Ende an das Blutkörperchen stoßen, indem sie sich manchmal etwas auf dasselbe legen.

Endlich verdienen unter den freien Parasiten einige seltenerer Formen eine besondere Erwähnung, welche eine ziemlich längliche Gestalt haben, durch ihre Größe auffallen und außerdem ein merkwürdiges Verhalten ihres Cytoplasmas zeigen. Dasselbe hat nicht eine homogene Färbung oder stufenweise ineinander übergehende Farbentöne, wie man es bei den anderen Formen beobachtet, sondern seine Affinität zu dem Blau scheint nicht in seiner ganzen Masse dieselbe zu sein; deshalb hat es an einigen Stellen intensiver himmelblau gefärbte Flecke. In diesen besonderen Formen ist das Chromatin wegen seiner Anordnung zu großen Haufen an einem Ende des Parasiten oder zu kleinen in seinem Körper unregelmäßig zerstreuten Klümpchen bemerkenswert. Ueber die Bedeutung dieser Formen wage ich Sicheres noch nicht zu behaupten. Zieht man unsere Befunde bei der menschlichen Malaria zum Vergleiche heran, so entsprechen diese Formen wahrscheinlich, wie bei dieser, erwachsenen Formen, die sich schon von dem Blutkörper frei gemacht haben.

Veränderungen der roten Blutkörperchen. Was die Veränderungen der roten Blutkörperchen anbetrifft, so muß ich hervorheben, daß sie, anstatt sich mosaikförmig anzuordnen, trotz aller auf diese An-

ordnungsweise hingerichteten Technik sich immer in jener charakteristischen Anordnung finden, die man gewöhnlich mit dem Namen Geldrollenform bezeichnet. Was die Erklärung dieser Tatsache anbetrifft, ob nämlich die Annahme derjenigen richtig ist, welche in dieser Anordnung den ersten Grad des Agglutinationsphänomens sehen, so könnte man denken, daß für die Pferd malaria dasselbe wie für die menschliche gilt; bei der menschlichen Malaria sind aber die Agglutinationserscheinungen, auf welche zuerst Lo Monaco und Panichi<sup>1)</sup> die Aufmerksamkeit gelenkt und welche andere behauptet haben, ein Index für die Schädigungen dieses Gewebes durch den Malariaparasiten. In jedem Falle kann uns die Anordnung des Pferdeblutes in Geldrollenform veranlassen, um die physikalisch-chemischen Wirkungen der Infektion auf das Blut selbst zu untersuchen und abzuschätzen.

Bezüglich des Vorkommens der sogenannten getüpfelten Riesenerythrocyten im Blute der malariakranken Pferde muß ich hinzufügen, daß ich diese besonderen Formen von Blutkörperchen nicht nur in der Periode der Apyrexie beobachtet habe, sondern auch in jener der absteigenden Temperaturschwankungen, welche der Apyrexie vorausgehen; mit der Rückkehr des Fiebers verschwinden sie, um sich beim Sinken desselben und in den ersten Tagen der Rekonvaleszenz wieder einzustellen.

c) Experimentelle Untersuchungen zur Uebertragbarkeit der Krankheit mittels des Blutes.

Bekanntlich zeigen die Resultate, welche die verschiedenen Forscher bei ihren Versuchen zur Uebertragung der Malaria von Pferd zu Pferd mittels Blutinjectionen erhalten haben, keine Uebereinstimmung. So konnten Bowill<sup>2)</sup> und Ziemann<sup>3)</sup> niemals die Krankheit hervorrufen, während Koch<sup>4)</sup> in manchen Fällen ein positives Resultat erhalten und Edington<sup>5)</sup> eine Uebertragung der Infektion sogar auf die einheimischen Pferde mit Erfolg vorgenommen haben soll. Theiler<sup>6)</sup> endlich behauptet in einer kürzlich erschienenen Arbeit, die Piroplasmose von Pferd zu Pferd übertragen zu haben, und zwar sowohl mittels der Inokulation von Blut kranker Tiere, als auch durch Inokulation von Blut, welches von schon von der Krankheit geheilten und daher immunen Tieren stammte.

In Italien schrieb Pricolo<sup>7)</sup>, daß die Malaria des Pferdes inokulierbar ist, wenn man mit empfänglichen Objekten operiert und gleichzeitig an Piroplasma reiches Blut verwendet. Soviel ich weiß, haben indessen nur Baruchello und Mori<sup>8)</sup> versucht, die Krankheit von Pferd zu Pferd zu übertragen. Die Mißerfolge, die sie dabei erhalten haben, schreiben sie selbst mit großer Wahrscheinlichkeit dem Umstande zu,

1) Lo Monaco e Panichi, Sul fenomeno dell'agglutinazione del sangue nei malarici. Nota 1, 2, 3. (Accad. dei Lincei. 1900—1902.)

2) Bowill, Equine piroplasmosis or biliary fever. (Journal of Hyg. Vol. IV. 1905.)

3) Ziemann, Deutsche med. Wochenschrift. 1902.

4) Koch, Rhodesian investigations. (Cape Agric. Journ. Vol. XXIV. 1904.)

5) Edington, Further remarks on the production of malarial form of horse sickness. (Journ. of Hyg. Vol. IV. No. 1.) — Biliary fever in the horse. (Journ. of comp. path. and ther. Vol. XVII. 1905. p. 33—40.)

6) Theiler, Maladies des troupeaux dans l'Afrique du Sud. (Bull. de l'Institut Pasteur. 30. Aug. 1905.)

7) Pricolo, La piroplasmosi equina. (Il Moderno Zoiatro. 1907. No. 2. p. 56.)

8) Baruchello e Mori, loc. cit.

daß sie zu ihren Versuchen Mutterfüllen verwandt haben, die vielleicht immun waren, da sie an Orten geboren waren, wo die Infektion herrschte.

Als Beitrag zu einer so wichtigen Frage, wie es die Uebertragungsmöglichkeit der Krankheit mittels des Blutes ist, habe ich eine Reihe von Experimenten ausgeführt und mich dabei des Laboratoriumsmaterials (Pferde) bedient, das mir von meinem Lehrer, Herrn Professor Tizzoni, in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt worden ist. Die Anzahl der zu diesem Zwecke verwandten Tiere beträgt 3, und ich werde sie mit den Buchstaben A, B und C bezeichnen. Sie waren im Augenblicke des Versuches im besten Wohlbefinden. Bei den Versuchen wurde das Blut immer unter natürlichen Bedingungen injiziert, d. h. sofort nach seiner Entnahme aus der Vene eines kranken Tieres.

Am Abend des 13. Juli injizierte ich in die Jugularis des Pferdes A 20 ccm Blut; dieses hatte ich mittels einer großen Tursinischen Spritze aus der Jugularis eines Pferdes entnommen, das schon genesen war und in dessen Blute sich keine gut erkennbaren Piroplasmaformen mehr nachweisen ließen. Dem Pferde B wurden in derselben Weise 20 ccm Blut injiziert, das reich an Parasiten war und einem Pferde angehörte, das gerade krank war. Nach Beendigung der Operation wurden die beiden Versuchstiere in den Stall des Laboratoriums gebracht und dort sorgfältig überwacht.

Während das Pferd A immer gesund blieb, seine Temperatur keinerlei Schwankungen unterlag und auch der Versuch, den Parasiten im Blute nachzuweisen, ergebnislos verlief, zeigte das Pferd B dagegen nach einem Zeitraume von 5 $\frac{1}{2}$  Tagen eine fieberhafte Temperatur und in der Folge alle anderen Symptome der Malariainfektion, welche 12 Tage andauerte. Bei der Untersuchung des Blutes fanden sich zahlreiche charakteristische Piroplasmaformen, besonders im Anfange des Fiebers, das einen kontinuierlichen Typus hatte und um 2 Tage dem Symptom der Hämoglobinurie vorausging.

Am Abend des 21. Juli wiederholte ich den Versuch der Uebertragung der Krankheit von dem Pferde B auf das dritte Pferd C unter den in den ersten beiden Experimenten angewandten Bedingungen. 6 Tage und 13 Stunden nach der Ausführung der Injektion zeigte das Pferd C hohes Fieber und in den folgenden Tagen vervollständigte sich das klinische Bild der Piroplasmose in allen seinen Details. In diesem zweiten Falle gelang auch der Nachweis des Parasiten in dem peripherischen Blute, das Fieber ging um 3 Tage dem Symptom der Hämoglobinurie voraus und zeigte eine Andeutung von Intermittenz am 8. Tage. Die Dauer der Krankheit betrug 9 Tage. Ich muß noch hinzufügen, daß die Pferde B und C keiner therapeutischen Behandlung unterzogen wurden, und zwar deshalb, um den Verlauf und die Dauer der experimentell erzeugten Krankheit besser studieren zu können.

Aus den obigen Versuchen glaube ich nun folgende Schlüsse ziehen zu können:

1) Es ist möglich, die Piroplasmose direkt von Pferd zu Pferd mittels der endovenösen Injektion von an Parasiten reichem Blute zu übertragen, wenn die Injektion unter den natürlichen Bedingungen vorgenommen wird, d. h. gleich nach der Entnahme des Blutes aus der Jugularis eines kranken Tieres.

2) Der Uebertragungsversuch gelingt dagegen nicht, wenn man das Blut eines Tieres anwendet, das schon von der Krankheit genesen und

bei dem es nicht mehr möglich ist, erkennbare Formen des Piroplasma aufzufinden.

3) Von dem Augenblicke der Injektion bis zu dem Auftreten der ersten Krankheitserscheinungen verlaufen  $5\frac{1}{2}$ — $6\frac{1}{2}$  Tage; die Inkubationszeit ist also ziemlich kurz.

4) Die Krankheit äußert sich mit allen ihren Eigenschaften, d. h. in der Weise, wie die natürliche Infektion beschrieben worden ist; dasselbe kann man auch von ihrem Verlaufe und ihrer Dauer sagen.

Bologna, April 1907.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die bakteriologische Bedeutung der Gallensalze.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Stadt Cöln.

Direktor: Dr. Czaplewski.]

Von Dr. **Wilhelm Meyerstein**, ehem. I. Assistenzarzte am Laboratorium.

Während die ältere Physiologie der Galle die Aufgabe eines Darmdesinficiens zuschrieb und ihr somit bakterientötende Eigenschaften beilegte, haben die verschiedensten neueren Untersuchungen gezeigt, daß im Gegenteil die Galle für sehr viele Bakterien einen guten Nährboden darstellt. Dies ist z. B. der Fall für *Bact. coli*, *Bact. typhi*, Cholera-vibrionen, *B. Finkler-Prior*, *B. proteus*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *B. pyocyaneus*, *B. butyricus*, Hefe, wie zum Teil von Leubuscher (1), zum Teil von Fränkel und Krause (2) nachgewiesen wurde.

Allerdings stimmen andere Untersucher, z. B. Corrado (3), Mosse (4) nicht vollständig mit diesen Ergebnissen überein und berichten vielmehr für manche der oben genannten Bakterien über indifferentes Verhalten oder sogar über schädigende Beeinflussung durch die Galle, so daß es nicht leicht möglich ist, die Bakterien je nach ihrem Verhalten zur Galle in verschiedene Gruppen zu teilen.

Indessen ist die Versuchsanordnung bei den verschiedenen Autoren oft so voneinander abweichend, daß sich schon daraus viele Widersprüche erklären könnten. Dann aber bleibt noch die Tatsache zu bedenken, daß die Gallenflüssigkeit nicht nur bei den einzelnen Tierarten, sondern auch bei derselben Art, ja selbst bei dem gleichen Individuum sehr vielen Schwankungen in ihrer Zusammensetzung unterworfen ist. Der Gehalt an Eiweißstoffen, Mucin, Cholesterin, Lecithin etc. ist dauernd variabel, und sicherlich wird dieser Gehalt nicht ohne Bedeutung für das Fortkommen der Bakterien sein.

Es erscheint daher um vieles vorteilhafter, beim Studium des spezifischen Einflusses der Galle auf Bakterien ihre charakteristischen Bestandteile, die Gallensalze, zur Grundlage der Untersuchungen zu machen. Abgesehen davon, daß man auf diese Weise die Wirkung der außerdem genannten, gewissermaßen sekundären Beimengungen ausschaltet, ist man auch in den Stand gesetzt, die spezifische Substanz in den Nährböden genau dosieren zu können. Bei der Verwendung der Gallenflüssigkeit oder der einfach getrockneten Galle, die Mosse (4) benutzte, ist das unmöglich. Denn nicht nur hinsichtlich der oben erwähnten Bestandteile

wechselt ihre Zusammensetzung, sondern auch ihr Gehalt an den charakteristischen Gallensalzen schwankt nach Quantität und Qualität in bedeutenden Grenzen.

In der Tat haben auch einige Forscher ihre Untersuchungen mit den reinen Substanzen angestellt, jedoch meist unter anderen Gesichtspunkten. So studierten Lindberger (5), Limbourg (6), Maly und Emich (7) die Beziehungen der Gallensalze zu den Fäulnisprozessen und schlossen aus der Menge der gebildeten Fäulnisprodukte auf die fördernde oder hemmende Einwirkung der Galle. Interessant sind die Versuche von Maly und Emich, besonders insofern, als sie ein differentes Verhalten der Taurocholsäure gegenüber der Glykocholsäure feststellen konnten: Ein bei weitem niederer Prozentgehalt an Taurocholsäure als an Glykocholsäure war im stande, in einem Fleischaufguß die Fäulnis hintanzuhalten. Für die Gärung des Zuckers durch Hefe ermittelten sie, daß diese durch die Taurocholsäure verhindert wurde, während der gleich große Zusatz von Glykocholsäure geradezu umgekehrt den Gärungsakt beschleunigte.

Indessen lassen sich diese Beobachtungen nicht ohne weiteres als bakteriologische Resultate verwerten, da die vorhandenen Mikroorganismen teils überhaupt nicht in Betracht gezogen, teils nur summarisch als oscillierende Stäbchen, Fäden, Kugeln aufgeführt werden. Dagegen hat Leubuscher (1), wenn auch nicht mit den Gallensalzen, so doch mit den Gallensäuren, die übrigens ein Teil der eben genannten Autoren auch nur benutzte, in der Tat bakteriologische Untersuchungen mit Reinkulturen angestellt. Da aber die Gallensäuren, zumal die Glykocholsäure, in Wasser nur sehr wenig löslich sind, so konnte er nur geringe Konzentrationen (0,3 Proz.) verwenden. Er fand, daß in diesen Lösungen alle untersuchten Bakterien zu Grunde gingen. Das braucht jedoch noch nicht, wie er annimmt, durch eine antiseptische Wirkung dieser Lösungen bedingt zu sein, da ja die geringe Konzentration, der Mangel jedes Nährstoffzusatzes, und auch die Reaktion der Lösungen eine Bedeutung haben könnte, und, wie ich zeigen werde, in der Tat auch besitzt.

Seitdem ich (8) schon früher die typhusanreichernde Wirkung der Galle, wie sie Conradi (9) zuerst beobachtet hat, auf die Gallensalze hatte zurückführen können, begann ich die Wirkung der Gallensalze auf Bakterien etwas eingehender zu studieren. Es blieb noch zu erwägen, ob solche Beziehungen im Körper überhaupt denkbar wären. Früher wurde allgemein angenommen, daß die Gallensalze als solche sich gar nicht im Darm finden könnten, da sie durch den sauren Speisebrei des Magens niedergeschlagen würden. Aber Krehl (10) weist darauf hin, daß sich an die durch die Magensalzsäure gespaltenen Cholate doch bald wieder das Alkali des Darmsaftes anlagern dürfte, wie auch Mosse (4), nachdem Matthes und Marquadsen (11) gezeigt hatten, daß im Dünndarm niemals eine saure Reaktion herrscht, die Meinung aussprach, daß dort nicht die Gallensäuren, sondern deren Salze wirksam sein müßten. Wenn ich daher die Untersuchungen mit den Gallensalzen anstellte, so glaubte ich in diesem Punkte wenigstens den tatsächlichen Verhältnissen nahezukommen, wenn auch natürlich im Reagenzglas für die Bakterien die Wachstumsverhältnisse nicht dieselben sind, wie sie der Darm mit seinem Speisebrei darbietet.

Ueber die Anordnung der Versuche sei folgendes bemerkt. Von allen Lösungen, die mit oder ohne Zusatz zur Verwendung gelangten, wurden je 5 ccm in sterile Reagenzgläser gegeben. Nachdem diese nach

der Füllung noch einmal im Dampftopf  $\frac{1}{2}$  Stunde sterilisiert worden waren, wurden sie mit einer Bakterienkultur, die auf Agar während 24 Stunden frisch gezüchtet war, infiziert. Um deutliche Resultate zu erhalten, mußte die Infektion mit einer möglichst kleinen Menge von Bakterien erfolgen. Daher wurde von der betreffenden Kultur zuerst eine Oese in 10 ccm sterile physiologische Kochsalzlösung gebracht, diese gut durchgeschüttelt und kurze Zeit stehen gelassen, damit sich gröbere Bestandteile zu Boden setzten, und schließlich 0,1 ccm von der Oberfläche in die zu prüfende Lösung gebracht. War auf diese Weise die Lösung infiziert, so wurde von ihr, nachdem sie gründlich durchgeschüttelt war, 0,1 ccm in 10 ccm Agar gebracht und zur Platte ausgegossen: Agarzählplatten mit dem Zeichen a. Aus diesen Platten war zu erkennen, wie viel Keime zu Beginn der Versuche sich in der zu prüfenden Lösung (d. h. in 0,1 ccm von ihr) befanden. Die infizierte Lösung wurde dann im Brütschrank bei 37° während 24 Stunden gehalten, und dann wiederum 0,1 ccm in je 10 ccm Agar gebracht und zur Platte ausgegossen: Agarzählplatten mit dem Zeichen b. Durch den Vergleich der Platten a mit den Platten b konnte somit die Wirkung der betreffenden Lösung auf die eingebrachten Keime festgestellt werden. Gezählt wurden die Agarplatten jeweils, nachdem sie selbst während 24 Stunden im Brütschrank gehalten worden waren.

Zur Verwendung gelangten Gallensalze, die nach dem bekannten Plattnerschen Verfahren oder auch durch Aussalzen, wie dies Grosse-Bohle und ich an anderer Stelle angeben werden, aus Ochsgalle gewonnen worden waren. Zur gründlichen Reinigung wurden diese Salze, die aus rund 40 Proz. Natr. glyk. und 60 Proz. Natr. taurochol. bestanden, mehrmals umkristallisiert. Ihre Lösungen in Aqua dest., die ich benutzte, stellten dann eine wasserklare, in höheren Konzentrationen bernsteingelbliche, helle Flüssigkeit dar, während das diesem Salzgemisch etwa entsprechende Natr. choleïnium von Merck einen eigentümlich tranigen Geruch besitzt und in der Lösung dunkelbraun und fast undurchsichtig ist. Auch die beiden einzelnen Komponenten, das Na. taurochol. und das Na. glykochol., wurde für die Untersuchungen eigens hergestellt und nur in selteneren Fällen die Merckschen Präparate benutzt.

Theoretisch konnte man bei diesen Untersuchungen verschiedene Möglichkeiten als Resultat erwarten: Die Gallensalze konnten an sich einen Nährboden für Bakterien darstellen, oder sie konnten, wenn dies nicht der Fall war, doch als Zusatz zu gewöhnlichen Nährböden begünstigend auf das Wachstum einwirken, oder sie konnten sich ganz indifferent verhalten bzw. sogar einen schädigenden Einfluß ausüben. Tatsächlich gelang es, für alle diese Wirkungsarten Beispiele zu finden.

Zwar war von vornherein die erste Möglichkeit, daß in diesem eiweißfreien Medium Bakterien gedeihen könnten, nicht sehr wahrscheinlich. Jedoch lieferten Versuche mit dem *Bact. pyocyaneum* den Beweis, daß in solchen Lösungen sogar üppiges Wachstum stattfinden kann.

Eine kurze Tabelle (p. 437) möge das deutlich machen.

Die weitere Untersuchung ergab, daß ebenso wie kristallisierte Galle sich das Natr. glykochol. bzw. Natr. taurochol. ohne Unterschied als Nährboden für *B. pyocyaneum* bewährte, wobei auch überall Farbstoff sehr schön produziert wurde.

Ein gleiches Verhalten, d. h. also Wachstum in reinen Gallensalzlösungen, zeigten, wenn auch in geringerem, Grade *Proteus vulgaris*.

Ein eigentümliches Ergebnis wurde beim *Bact. coli* und *typhi* beobachtet. Abgesehen von einer Differenz in ihren Beziehungen zum

**Bacterium pyocyaneum.**  
 Krist. Galle (gelöst in Aqua dest. ohne jeden Zusatz).

	1 Proz.	2 Proz.	5 Proz.	10 Proz.
Auf der Agarzählplatte a (sofort gegossen) in 1 qcm	22	24	18	22
Auf der Agarzählplatte b (nach 24 Std. Bebrütung gegossen) in 1 qcm	∞	∞	∞	∞

In einem Kontrollröhrchen, das physiologische Kochsalzlösung enthält und mit den gleichen Bakterienmengen infiziert war, fand kein Wachstum statt.

Natr. glykochol. bezw. Natr. taurochol., auf die wir später noch einmal zurückkommen, boten sie das Resultat, daß sie in niedrigen Konzentrationen (1—5-proz.) nicht gediehen, dagegen in 10-proz. Lösung gut zur Entwicklung kamen. Obwohl dies Verhalten nicht mit der wünschenswerten Regelmäßigkeit eintrat, daß es ganz eindeutig aufzufassen wäre, so glaubte ich dennoch, es nicht unerwähnt lassen zu dürfen.

In noch höheren Konzentrationen, z. B. bei 25 Proz. Gallensalzgehalt, hörte bei allen Bakterien, auch beim *Pyocyaneus*, das Wachstum auf, eine Erscheinung, die ja in der Biologie der Bakterien und niederen Pilzformen durchaus ihre Analogie findet.

Besonderes Interesse durften nunmehr die Untersuchungen beanspruchen, die entscheiden sollten, ob die Gallensalze bei Anwesenheit von Nährsubstanzen einen Einfluß auf die Entwicklung von Bakterien hätten. Zur Erzielung von klaren Ergebnissen mußte zuerst eine Nährlösung ermittelt werden, in der die betreffenden Bakterien gerade eben noch zu existieren vermochten. Wir benutzten dazu Lösungen von Pepton. sicc. (Witte) in Aqua dest., weil diese sehr leicht zu dosieren sind. Ich überzeugte mich zunächst, daß eine Lösung, die 0,1 Proz. Pepton enthielt, im allgemeinen für meine Zwecke noch nicht brauchbar war, da in dieser die Bakterien, die zur Untersuchung kamen, sich noch ganz gut vermehrten. Dagegen vermochten die Lösungen von 0,01 Proz. Pepton die Bakterien während 24 Stunden sich höchstens in ihrer Zahl zu erhalten (meistens war eine deutliche Abnahme zu konstatieren).

Setzte man nun zu diesen Minimallösungen Gallensalze hinzu, so war deren Wirkung ganz eklatant. Einige Tabellen (p. 438 oben) sollen diese zeigen.

Ebenso wie *Bact. coli* und *Bact. typhi* verhielten sich auch *Paratyphus A* und *B.*, aus Faeces gezüchtete Streptokokken, *Proteus*, *Pyocyaneus*, was ja für die letzteren nach den Ergebnissen der ersten Versuchsreihe als wahrscheinlich anzunehmen war. Es besteht auch kein Zweifel, daß die Zahl der hierher gehörigen Bakterien, die also durch die Gallensalze in ihrem Wachstum begünstigt werden, sich durch weitere Untersuchungen leicht vermehren ließe.

Es sei aber besonders hervorgehoben, daß die Reaktion der Nährlösungen wohl beachtet werden muß. Denn das Wachstum zumal von *Coli* und *Typhus* war nur dann sehr üppig, wenn die Lösungen gegen Lackmus neutral bis schwach sauer reagierten (d. h. also gegen Phenolphthalein deutlich sauer). Dieser Punkt wurde durch Hinzutropfen von sehr dünner Salzsäure bezw. Sodalösung erreicht. Irgendwelche Abweichungen nach der einen oder anderen Seite verschlechterten sofort das Resultat.

In der zuletzt besprochenen Versuchsreihe blieb noch zu untersuchen,

**Bacterium coli.**  
 Lösungen, die 0,01 Pepton enthielten, mit Zusatz von krist. Galle.

	0 Proz.	1 Proz.	2 Proz.	5 Proz.	10 Proz.
Auf Agarzählplatte a in 1 qcm	35	32	34	38	38
Auf Agarzählplatte b in 1 qcm	30	∞	∞	∞	∞

**Bacterium typhi.**  
 Lösungen, die 0,01 Pepton enthielten mit Zusatz von krist. Galle

	0 Proz.	1 Proz.	2 Proz.	5 Proz.	10 Proz.
Auf Agarzählplatte a in 1 qcm	17	15	18	20	16
Auf Agarzählplatte b in 1 qcm	10	200—300	200—300	∞	∞

Aus der großen Zahl von Tabellen seien nur diese beiden hier aufgeführt, weil sie ungefähr typisch das Resultat angeben. Hinsichtlich des Zeichens ∞ sei bemerkt, daß es natürlich recht subjektiv ist, ob in 1 qcm noch ausgezählt werden konnte, oder nicht mehr. Es soll damit auch nur angedeutet werden, daß eine sehr große Vermehrung stattgefunden hatte, nicht aber z. B. sollte durch die beiden erwähnten Tabellen gesagt werden, daß in 1 oder 2-proz. Lösung Bact. coli besser gewachsen sei als Bact. typhi. Wo ich solche Unterschiede als erwiesen annahm, wie dies später geschehen wird, kamen viel deutlichere Differenzen in Betracht.

ob hier ein Unterschied in der Wirksamkeit des Na. taurochol. und Na. glykochol. vorhanden war.

In der Tat besteht eine solche Differenz und zwar unter den genannten Bakterien, merkwürdigerweise nur bei den Angehörigen der Typhusgruppe. Während das Bact. coli ebenso wie die anderen Bakterien in den Lösungen, die 0,01 Pepton und Gallensalze enthielten, gut gediehen, gleichgültig ob Na. taurochol. oder Na. glykochol. zugesetzt war, entwickelten sich die Bakterien der Ty-Gruppe nur bei Anwesenheit von Na. taurochol. Der Kürze wegen seien hier tabellarisch nur die 5-proz. Lösungen verglichen.

	Bact. coli Lösung von 0,01 Pepton und Natr. glyk. 5 Proz.		Bact. typhi Lösung von 0,01 Pepton und Natr. glyk. 5 Proz.	
	Natr. taur. 5 Proz.	Natr. glyk. 5 Proz.	Natr. taur. 5 Proz.	Natr. glyk. 5 Proz.
Agarzählplatte a in 1 qcm	12	14	8—10	8—10
Agarzählplatte b in 1 qcm	∞	∞	2	∞

Es entstand nun die Frage, wachsen die Ty-Bacillen bei der Anwesenheit von Na. glykochol. deshalb nicht, weil dieses schädigend einwirkte oder nur deshalb nicht, weil kein fördernder Einfluß ausgeübt wurde. Um dies zu entscheiden, wurden Lösungen von 0,1 Pepton, von denen wir, wie oben erwähnt, uns überzeugt hatten, daß Ty-Bacillen darin gut gediehen, mit Natr. glykochol. versetzt. Das Resultat zeigt folgende Tabelle.

**Bacterium typhi**  
 Lösungen, die enthielten 0,1 Pepton mit Zusatz von Natr. glykochol.

	0 Proz.	1 Proz.	5 Proz.	10 Proz.
Agarzählplatte a in 1 qcm	42	45	42	48
Agarzählplatte b in 1 qcm	∞	∞	∞	∞



Daraus ergab sich also, daß zuerst das Wachstum der Bakterien ausgeblieben war, weil ein fördernder Einfluß fehlte, aber nicht, weil eine schädigende Wirkung vom Natr. glykochol. für das *Bact. typhi* vorhanden ist.

Auf diese Weise erklärt er sich auch, daß ich (4) bei den Typhusanreicherungsversuchen im Blute keinen Unterschied zwischen den beiden Gallensalzen hatte feststellen können. Das durch die Gallensalze verflüssigte Blut bietet eben einen so guten Nährboden für die Bakterien dar, daß in dieser Beziehung die Anwesenheit der Gallensalze nicht von Bedeutung sein dürfte. Vielmehr gewinnt die Annahme an Wahrscheinlichkeit, die Anreicherung im Blute käme dadurch zu stande, daß die Gallensalze die Gerinnung verhindern resp. wieder aufheben, auf diese Weise die Bakterien in Freiheit setzen und zur Entwicklung gelangen lassen.

Konnte in dem zuletzt mitgeteilten Versuche das Ausbleiben von Bakterienwachstum bei Anwesenheit von Gallensalzen darauf zurückgeführt werden, daß sie in diesem Falle nicht fördernd einwirkten, so wurden tatsächlich auch einige Mikroorganismen ermittelt, bei denen eine wirkliche Schädigung durch die Gallensalze eintrat.

Als Typus mag hier der *Staphylococcus pyogenes aureus* gelten. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie bei dem letzten Typhus-Natr. glykochol.-Versuch. Nachdem wiederum vorher festgestellt worden war, einmal, daß Staphylokokken in gleicher Lösung von 0,1 Proz. Pepton sehr gut wuchsen, ferner daß in Lösungen, die 0,01 Pepton und Gallensalze enthielten, kein Wachstum eintrat, wurden Lösungen von 0,1 Proz. Pepton mit Gallensalzen versetzt und mit Staphylokokken infiziert. Das Ergebnis war dieses:

*Staphylococcus pyogenes aureus.*  
Lösungen, die enthielten 0,1 Proz. Pepton mit Zusatz von kristall. Galle.

	0 Proz.	1 Proz.	5 Proz.	10 Proz.
Agarzählplatte a in 1 qcm	32	35	38	35
Agarzählplatte b in 1 qcm	∞	30	10	2

Hier war somit eine direkte Schädigung durch die Anwesenheit der Gallensalze eingetreten, und weitere Untersuchungen zeigten, daß beide Gallensalze in dieser Hinsicht ungefähr gleich (das Natr. glykochol. vielleicht etwas stärker) wirksam sind. Dieselben Resultate lieferten Versuche mit *Micrococcus tetragenus*, *Diplococcus pneumoniae* (in letzterem Fall war die Wirkung des Natr. taurochol. größer) und Diphtheriebacillen, und auch für diese Gruppe dürften sich gewiß noch mehr Beispiele auffinden lassen. Offenbar gehört auch hierher die Wirkung, die Levy (12) jüngst vom Natr. taurochol. auf Pneumokokken mitgeteilt hat. Er fand nämlich, auf Beobachtungen von Neufeld (13) fußend, daß Pneumokokken, und zwar nur diese, in ihrer Bouillonkultur, wenn man sie mit Natr. taurochol. versetzte, aufgelöst wurden, was man also als eine besonders starke Schädigung von Bakterien durch Gallensalze ansehen muß.

#### Ergebnisse.

Die Gallensalze haben auf verschiedene Gruppen von Bakterien, von denen hier immer nur ein Repräsentant genannt werden soll, einen differenten Einfluß. Und zwar sind sie

- 1) rein, ohne Zusatz, ein Nährboden: für *Bact. pyocyaneus*;
- 2) mit ganz geringen Zusätzen von Nährsubstanzen, wachstumsfördernd: für *Bact. coli*;
- 3) trotz größerer Zusätze von Nährsubstanzen, wachstumhemmend: für *Staphyloc. pyog. aur.*

#### Literatur.

- 1) Leubuscher, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XVII.
- 2) Fränkel u. Krause, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXII. 1899.
- 3) Corrado, Ref. Centralbl. f. Bakt. 1892.
- 4) Mosse, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXVI.
- 5) Lindberger, Ref. Jahresber. d. Tierchemie. Bd. XIV.
- 6) Limbourg, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XIII.
- 7) Maly u. Emich, Ref. Jahresber. d. Tierchemie Bd. XIII.
- 8) Meyerstein, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 38 u. 44.
- 9) Conradi, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 2.
- 10) Krehl, Pathol. Physiologie. 1906. IV. Aufl. S. 327.
- 11) Matthes u. Marquadsen, Verhandl. d. Kongr. f. Innere Med. 1898.
- 12) Levy, Virchows Arch. Bd. CLXXXVII. Heft 2.
- 13) Neufeld, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.-Krankh. Bd. XXXIV. 1900.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Spaltung der Nukleoproteide.

[Hygienisches Institut der kgl. Universität zu Palermo (Direktor:  
Prof. L. Manfredi).]

Von Dr. E. Carapelle, Assistenten.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

In einer früheren Arbeit im Jahre 1904<sup>1)</sup> habe ich die Beobachtung mitgeteilt, daß bei den Mikroproteinen der in Alkalien lösliche Anteil sehr wahrscheinlich als ein Glykonukleoproteid zu betrachten ist. In der Tat zeigt dieser Anteil, nachdem man ihn in gehöriger Weise isoliert hat, reduzierende Eigenschaften und liefert ein gut kristallisiertes Phenyl-osazon.

Um die Natur des vermeintlichen Nukleoglykosids besser aufzuklären, habe ich versucht, dasselbe zu isolieren.

Bekanntlich hat Hammarsten<sup>2)</sup> als Erster das Vorkommen von Glykosegruppen in dem Nukleoproteidmolekül nachgewiesen; nach ihm hat Kossel in der Bierhefe das Vorkommen einer reduzierenden Substanz bestätigt, welche aus einem Gemisch von Glykose und Pentose hervorzugehen scheint<sup>3)</sup>.

Zum Ausgangsmaterial habe ich das Protein des *Bacillus prodigiosus* gewählt. Zu seiner Kultur habe ich große Petrische Doppelschalen von 18 cm Durchmesser verwandt und dann das Protein mit größter Vorsicht zu gewinnen versucht (ich vermied hierbei, selbst die kleinsten Partikel des Nährbodens mit fortzunehmen). Nach vollkommener Trocknung (im Vakuum bei 37° C) habe ich das genannte Protein pulverisiert und mit einer stark verdünnten Lösung von Natrium-

1) Giornale di scienze naturali ed economiche. Vol. XXV. 1904.  
2) Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. XIX. p. 27.  
3) Verhandl. d. phys. Ges. 1892. No. 1.

karbonat (0,50 Proz.) digerieren lassen. Nach einem Kontakt von einigen Wochen habe ich endlich das Nukleoproteid mittels Essigsäure gefällt.

Der so gewonnene Niederschlag wird nach reichlichem Waschen mit Wasser noch in feuchtem Zustande einer Behandlung unterworfen, welche bis zu einem gewissen Punkte der von Hammarsten bei dem Pankreasnukleoproteid angewandten entspricht.

Man läßt ihn ungefähr 2 Stunden lang mit verdünnter Schwefelsäure kochen (30 g des Proteids auf 1 l destillierten Wassers mit Schwefelsäure zu 3 Proz.); die so gewonnene gelbbraune Flüssigkeit wird von der Schwefelsäure durch vorsichtiges Hinzufügen von Baryumhydrat getrennt und auf einem Wasserbade verdampft. Man extrahiert dann wiederholtlich mit Alkohol und verdampft die verschiedenen Extrakte unter gelinder Erwärmung; der sirupöse Rückstand, den man so erhält, wird schließlich wieder mit Wasser aufgenommen.

Die so entstehende wässrige Lösung zeigt dann folgendes Verhalten:

1) Bei der polarimetrischen Untersuchung zeigte sich, daß die Ebene des polarisierten Lichtes deutlich nach rechts abweicht.

2) Die Fehlingsche Lösung und die ammoniakalische Silbernitratlösung werden reduziert.

3) Kocht man sie wenige Minuten mit einem Ueberschusse von Phenylhydrazin in Essiglösung, so setzt sich nach einiger Zeit eine gelbe stickstoffhaltige Substanz ab, die bei 170–173° schmilzt. Diese mehrmals aus Xylol kristallisierte Substanz schmilzt bei 185°, indem sie sich dabei zerlegt, und zeigt im allgemeinen die Eigenschaften eines Osazons<sup>1)</sup>. Die erheblichen Schwierigkeiten, auf die ich bei der Isolierung der reduzierenden Substanz gestoßen bin, haben mich für den Augenblick von ihrem genaueren Studium abstehen lassen. Ich kann jedoch behaupten, daß sie sehr wahrscheinlich eine rechts drehende Aldose darstellt.

Palermo, April 1907.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Nachweis spezifischer Stoffe in den Aggressinen durch die Komplementablenkungsmethode.

[Institut für Infektionskrankheiten (Direktor: E. Maragliano, Abteilung geleitet von Prof. Bruschettni).]

Von Prof. Dr. A. Bruschettni, Genua.

Wir wissen durch die Forschungen Bails und seiner Mitarbeiter, daß die bakteriischen Aggressine die Eigentümlichkeit besitzen, den Gang einer Infektion zu beschleunigen, wenn sie im Laufe der Infektion oder gleichzeitig mit dem spezifischen Keim eingepflegt werden. Durch dieselben Untersuchungen steht ferner fest, daß die bakteriischen Aggressine die Fähigkeit besitzen, eine Immunität von langer Dauer zu schaffen, wenn sie allein eingepflegt werden, eine Immunität, die auch Dosen widersteht, welche viel größer sind, als die minima letalis. Diese

1) Das aus 60 g Mikroprotein gewonnene Osazon beträgt ungefähr 0,60 g.

Beobachtungen, welche im allgemeinen von sehr vielen anderen Beobachtern bestätigt sind, gaben zu Erörterungen besonders über die Natur der Aggressine Anlaß. Nach den Arbeiten Wassermanns und Citrons namentlich behaupteten einige, daß die Aggressine nichts anderes als Bakterienextrakte seien, welche in ihren Wirkungen mit den Extrakten verglichen werden können, die man mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit normalem Blutserum erhält. Betrachtet man aber leidenschaftslos die von den verschiedenen Autoren erhaltenen Ergebnisse, so kann man nach meiner Meinung, auch ohne die Ansichten Bails blindlings anzunehmen, unmöglich behaupten, die Aggressine seien einfach bakterische Extrakte, die wir auf künstlichem Wege erhalten können. Auch ohne die Tatsache zu berücksichtigen, daß die Wirkung des Organismus in keiner Weise mit jener verglichen werden kann, die man in vitro mit verschiedenen Lösungsmitteln auch organischer Natur erhält, steht fest, daß wir mit künstlichen bakterischen Extrakten nur einige der Wirkungen der Aggressine erhalten und auch diese in viel geringeren Graden. Sucht man diese Erscheinung zu deuten, so gewinnt man den Eindruck, als ob den künstlichen bakterischen Extrakten etwas fehle, was den Aggressinen eigen ist, denen wir notwendigerweise die komplizierte Wirkung dieser Substanzen zuschreiben müssen.

Da ich mich längere Zeit mit den Fragen beschäftigte, die mit dem Problem der Immunität eng verbunden sind, hatte ich natürlich gute Gelegenheit, verschiedene Aggressine zu studieren; auf eins derselben lenkte ich besonders meine Aufmerksamkeit, um so zu der viel erörterten Frage ihrer Natur einen Beitrag zu liefern. Vor allen Dingen wollte ich untersuchen, ob sich vielleicht in den bakterischen Aggressinen spezifische Antikörper finden sollten. Dabei bediente ich mich der bekannten Komplementablenkungsmethode von Bordet und Gengou.

Wie schon erwähnt, beschränke ich mich darauf, das Ergebnis meiner Studien über ein einziges Aggressin mitzuteilen, und zwar über jenes des Pneumococcus, welches ich aus Impfungen in die Pleura des Kaninchens mit den bekannten Methoden, die ich nicht weiter anführen will, erhielt.

Der von mir verwendete Diplococcus war ein Diplococcus, den ich in seiner Virulenz mit Durchgängen im Kaninchen so gesteigert hatte, daß er ein Kilogramm-Kaninchen in 24 Stunden bei einer Dose von 0,0000001 ccm tötete.

Selbstredend versicherte ich mich vor der Anwendung der Sterilität der Aggressine, und zwar mit Kulturen und Einimpfungen in das Kaninchen. Die Aggressine wurden genau so angewendet, wie ich sie nach der Zentrifugation etc. erhielt, und nachdem ich dieselben für  $\frac{1}{2}$  Stunde den Temperaturen von 56°, 70°, 90° ausgesetzt hatte. Das tat ich aus dem Grunde, weil aus den Untersuchungen meines ausgezeichneten Mitarbeiters, des Dr. A. Barlocco, hervorging, daß bei diesen Temperaturen die Wirkung der Aggressine modifiziert wurde (s. Gazzetta degli Ospedali. 1907). Die Alexine waren vom frischen Serum eines normalen Meerschweinchens geliefert; der Ambozeptor war vom Serum eines bei 56° inaktivierten Meerschweinchens genommen, das mit gewaschenen Kaninchenerythrocyten behandelt war. Das so erhaltene Serum wurde mit frischen, roten, gewaschenen und zentrifugierten Kaninchenerythrocyten in Kontakt gebracht.

Der Kontakt der Aggressine und Alexine wurde hergestellt entweder mit einer Emulsion in Kochsalz, bei 0,8-proz. 24-stündigen Agarkulturen

oder mit einem bakterischen Extrakt, das man dadurch erhielt, daß man diese Emulsionen 1 Stunde bis zu 60° erwärmte und sie dann durch die Berkefeldsche Kerze filtrierte, um so zu vermeiden, daß die lebenden Pneumokokken die roten Blutkörperchen angriffen und die Ergebnisse des Experiments verdeckten.

Aus der beifolgenden Tabelle ergeben sich die von mir erhaltenen Resultate:

Tabelle.

Aggressine	Emulsion von Diplokokken in 0,75-proz. Kochsalzlösung	Bakterischer Extrakt in 0,75-proz. Kochsalzlösung	Alexine Serum von Meer-schwein-chen	Ambozeptor Serum von Kaninchen, be-handelt mit roten Blut-körperchen von Meerschwein-chen, inaktiviert bei 56°	Rote Blut-körper-chen von Kanin-chen	Hämolyse
Aggr. 1 ccm	0,4	—	0,2	0,2	0,1	0
" 1,4 "	0,2	—	0,2	0,2	0,1	0
" 56° 1,4 "	0,2	—	0,2	0,2	0,1	Spuren
" 70° 1,4 "	0,2	—	0,2	0,2	0,1	fast vollständig
" 90° 1,4 "	0,2	—	0,2	0,2	0,1	vollständig
" 1 "	—	0,4	0,2	0,2	0,1	0
" 56° 1,4 "	—	0,2	0,2	0,2	0,1	0
" 70° 1,4 "	—	0,2	0,2	0,2	0,1	fast vollständig
" 90° 1,4 "	—	0,2	0,2	0,2	0,1	vollständig
" 1 "	—	Extrakt von Strepto-coccus 0,2	0,2	0,2	0,1	"
" 1 "	Emulsion von Strepto-coccus 0,2	—	0,2	0,2	0,1	"
—	—	—	0,2	0,2	0,1	"

Aus meinen Experimenten geht also hervor, daß in dem Pneumo- kokkenaggressin spezifische Stoffe für den Fraenkelschen Diplo- coccus enthalten sind; daß diese durch Temperaturen von 70° und 90° in 1/2 Stunde vernichtet werden, während sie der Temperatur von 56° widerstehen. Die Spuren von Hämolyse, welche man bei Anwendung von Aggressinen bei 56° und Emulsion des Diplococcus anstatt bei Verwendung des Extrakts in physiologischer Kochsalzlösung wahrnahm, sind erklärlich, wenn man bedenkt, daß der Diplococcus schon an und für sich das rote Blutkörperchen angreift und daß ein Teil des Hämoglobins sich in die obenstehende Flüssigkeit ergießt.

Die von mir gewonnenen Resultate haben nach meiner Meinung eine nicht zu unterschätzende Wichtigkeit; zum ersten Male steht dadurch fest, daß spezifische Stoffe in den Aggressinen nachweisbar sind; dann kommt ein wenig Licht in die so viel umstrittene Frage über die Natur der Aggressine, d. h. die Ansicht Bails, man könne in keiner Weise die Aggressine in ihren Wirkungen mit den einfachen in vitro erhaltenen bakterischen Extrakten vergleichen, wie Wassermann und Citron annehmen, findet gebührende Bekräftigung.

Nachtrag. Während das Manuskript sich schon im Druck befand, habe ich meine Untersuchungen fortgesetzt, und kann nun mitteilen, daß auch bei Schweineseuche und Schweinepest Aggressine spezifischer Stoffe durch Komplementablenkungsmethode nachweisbar sind.

*Nachdruck verboten.***Beiträge zur Biologie normaler Tiersera.**

[Aus der Universitäts-Augenklinik zu Würzburg.]

Von **Paul Bissling**, Tierarzt, Cöln.

(Fortsetzung.)

**Milzbrandbacillus.**

Normales Pferdeserum soll, wie Kraus und Löw (69) bekannt gaben, Milzbrandbacillen agglutinieren; ihrer Meinung schließen sich auch Gengou (49) und Sawtschenko (95) an, und zwar fand letzterer, der zu seinen Agglutinationsversuchen eine zweitägige Kultur des Vaccin I verwandte, beim Pferdeserum noch bei 1:30, beim Rinderserum bis 1:20 eine positive Reaktion. Wie Sobernheim (100) weiter angibt, hat er sich wiederholt davon überzeugt, daß normales Schaf-, Rinder- und besonders Pferdeserum Milzbrandkulturen zu agglutinieren vermag, und zwar zeigte sich, wie Sobernheim besonders betont, diese Fähigkeit in völlig gleicher Weise und Intensität gelegentlich sowohl beim Normalserum, wie beim hochwertigen Immuns serum ausgeprägt. In dieser Hinsicht kann genannter Autor voll und ganz den Angaben Sawtschenkos beistimmen, welcher ebenfalls den Immunitätszustand des Serum liefernden Tieres für die Agglutinationswirkung durchaus belanglos fand und welcher z. B. mit Pferdeserum in jedem Falle Agglutination erzielte, gleichgültig, ob es normalen oder immunisierten Individuen entstammte. Lambotte und Maréchal (71), die bei gesunden Menschen hohe Agglutinationswerte für den Milzbrandbacillus fanden, erwähnen gelegentlich, daß im Gegensatz zum Menschen das normale Serum von Pferd, Rind und Schaf nur mäßig, und zwar bis 1:50, Milzbrandbacillen agglutiniere.

**Proteus-Bacterium.**

In dem Blutserum normaler Pferde sind, wie Dieudonné (42) zeigte, auch Agglutinine für Proteus-Bakterien vorhanden, und zwar trat ihre Wirksamkeit noch bei Serumverdünnungen von 1:10 zu Tage. Eine weitere Bestätigung dieses Agglutiningehaltes geht aus Müllers (79) Untersuchungsergebnissen hervor. Nach ihnen war unter 5 Pferden je 1mal bei 1:32 und 1:64, 3mal bei 1:128 eine positive Reaktion nachweisbar.

Derselbe Autor hat auch andere Tiere auf die Reaktionsfähigkeit ihres Serums geprüft; unter je 5 Tieren fand er Agglutination, und zwar:

beim Rind (3 erwachsene, 2 Kälber) je 1mal bei 1:8, 1:16 und

1:32, 2mal bei 1:128;

beim Schaf 3mal bei 1:32, je 1mal bei 1:64 und 1:128 und endlich

beim Schwein 1mal bei 1:64 und 3mal bei 1:128.

**Bacterium coli.**

Die Agglutination des Bacterium coli durch das Serum normaler Tiere wurde gar nicht selten beobachtet. Ja, es soll nach der Ansicht von Kraus und Löw (69) die Fähigkeit Coli-Bakterien zu agglutinieren sogar allen Serumarten (Mensch und Säugetiere) gemeinsam und als eine physiologische Eigenschaft des normalen Blutes anzusehen sein,

die sich zumeist erst im Laufe der extrauterinen Entwicklung der Tiere einstellt. Andere Untersucher konnten jedoch diese „homologe“ Agglutination von Coli-Stämmen auch bei erwachsenen Tieren gar nicht oder sehr viel seltener finden, indem sich ihre Angaben auf verdünntes Serum beziehen, während Kraus und Löw zumeist vom unverdünnten Serum ausgingen. Analog den Angaben von Kraus und Löw fanden auch Majewsky (77), Radziewski (89) und Dieudonné (42) stets eine positive Reaktion, und zwar geben die beiden letzteren als Agglutinationstiter 1:10 an; Majewsky bezeichnet die Reaktion als sehr stark. Durchweg höhere Werte erhielt Müller (79); 1mal fand er bei einer Verdünnung von 1:64 und 4mal bei 1:128 noch eine deutliche Agglutination, die Gasiorowski (48) einmal sogar noch bei 1:350 nachweisen konnte. Entgegen diesen positiven Resultaten sah Grabert (50) bei einem Coli-Stamm, der aus einem Ferkel und bei 3 Coli-Stämmen, die aus der Gans gezüchtet waren, weder in Bouillonkulturen noch in Aufschwemmungen durch normales Pferdeserum bei 1:10 eine Agglutination.

Mit 2 Rinderseris erhielt weiter Grabert (50) mit den eben erwähnten Coli-Stämmen auch keine Agglutination. Auch Lüdke (76) fand bei einem Rinde bei 1:20 keine positive Reaktion, wohl konnte er dieselbe bei 2 anderen Rindern noch bei 1:20 und 1:40 nachweisen. Löwit (74) hat dieselbe im Rinderserum bei 1:1 und 1:10 meist nicht vermißt, und auch Müller (79) konnte bei 13 Rindern 1mal bei 1:32, 5mal bei 1:64, 7mal bei 1:128 sogar, also stets noch in starken Verdünnungen, eine agglutinierende Wirkung im Serum wahrnehmen.

Auch bei der Agglutination von Coli-Bakterien konnte Müller wie beim Typhusbacillus einen weiteren Beweis dafür bringen, daß einzelne Bakterienagglutinine im Blute der jungen Tiere gar nicht oder nur in geringer Menge gegenüber dem Gehalt im Serum erwachsener Tiere vorhanden sind. Während die erwachsenen Rinder hohe Agglutinationswerte für Coli-Bakterien aufwiesen, agglutinierten von 12 Kälberseris (2—4 Wochen alt) 8 gar nicht und je 2 nur bei 1:2 und 1:4.

Für das normale Schafserum finden sich ebenfalls abweichende Angaben in Bezug auf Agglutinationsfähigkeit. Es vermißt Rodet (92) stets eine agglutinierende Wirkung auf Coli-Stämme; auch Grabert (50) beobachtete bei der Prüfung eines Schafserums mit 4 verschiedenen Coli-Stämmen bei 1:10 keine Agglutination; ferner sah auch Müller (79) 1mal bei 1:1 keine, dagegen bei anderen Tieren je 1mal bei 1:2 und 1:4, ferner 2mal bei 1:16 eine positive Reaktion. Weitere Angaben über Agglutination von Coli-Bakterien durch normales Schafserum besonders in beträchtlichen Verdünnungen macht Jatta (57), der seine Versuche mit 2 Schafseris anstellte, von denen er die Agglutinationskraft des einen auf 29, die des anderen auf 28 Coli-Stämme prüfte. Von diesen 57 Coli-Stämmen wurden von beiden Seris 41 Stämme bei 1:10 gar nicht, 13 bei 1:10 und 3 bei 1:30 agglutiniert.

Das normale Serum eines Schweines äußerte, wie Grabert (50) angibt, auf 4 Coli-Stämme weder in Bouillonkultur noch in Kochsalzaufschwemmungen einen Einfluß. Andererseits konnte aber Müller (79) berichten, daß er bei 5 Schweinen je 1mal bei 1:4, 1:8 und 1:32 und 2mal bei 1:64 ein positives Ergebnis hatte.

### Schweinepestbakterien.

Die Schweinepestbakterien wurden, wie Müller (79) und Grabert (50) zeigen konnten, durch die normalen Sera von Pferd, Rind, Schaf und Schwein zur Verklumpung gebracht. Nach den Angaben Müllers agglutinierten von 5 Pferdeseris je 1 bei 1:4, 1:16 und 1:32, 2 bei 1:8. Von 2 Kälbern zeigte das eine keine, das andere bei 1:2 eine positive Reaktion; von 3 erwachsenen Rindern agglutinierten 1 bei 1:4, die beiden anderen bei 1:16. Von 5 Schafen agglutinierten je 2 bei 1:2 und 1:32, 1 bei 1:2; dieselbe Reaktion zeigte sich bei einem Schwein bei 1:8, bei je 2 anderen bei einer Verdünnung von 1:16 und 1:32.

Grabert (50) benutzte als Testflüssigkeiten Bouillonkulturen und Kochsalzaufschwemmungen. In der ersteren Flüssigkeit wurden die Schweinepestbakterien von einem Pferde und einem Schafe bei 1:10, von 2 Rindern bei 1:20 agglutiniert, während ein Schweineserum keinen Einfluß ausübte. Dieselben Sera agglutinierten die Bakterien in Bouillonkulturen, und zwar das Pferdeserum bei 1:20, 2 Rindersera bei 1:10 und 1:20, das Schaf- und Schweineserum bei 1:10. Eine bemerkenswert hohe Agglutinationsfähigkeit will Mc Clintock (39) beobachtet haben: es soll normales Schweineserum Schweinepestbakterien bisweilen in Verdünnungen von 1 bis auf 250 agglutinieren, weshalb Mc Clintock auch eine Reaktion von weniger als 300 diagnostisch für wertlos hält.

### Schweineseuchebakterien.

Aus den Tabellen Graberts (50) geht hervor, daß 5 Schweineseuchestämme in Bouillonkulturen und in Kochsalzaufschwemmungen durch die Sera vom Pferd, Rind (2), Schaf, Schwein und Kalb (3) bei einer Verdünnung von 1:10 nicht beeinflußt wurden. Uebereinstimmend hiermit berichtet Ercolani (45), daß normales Serum von Schweinen jeden Alters die Bakterien der Schweineseuche nur bis zu einer Verdünnung von 1:5 und frühestens nach einer Stunde agglutinieren könne. Die Sera von Kalb und Schaf fand auch Ercolani wirkungslos gegenüber den genannten Bakterien.

### Rotlaufbacillus.

Nach den Untersuchungen von Deutsch (41) werden Rotlaufbacillen vom normalen Pferdeserum nur in schwachem Grade agglutiniert. Es wirkte das Serum in geringen Verdünnungen wie 1:3 und 1:5 zwar beträchtlich, jedoch zeigte sich diese Wirkung bei 1:10 nicht mehr.

### Rotzbacillus.

Im allgemeinen wurden bemerkenswert hohe Werte im normalen Pferdeserum gegenüber Rotzbacillen gefunden, doch finden sich auch hier verschiedene Angaben.

Jensen (58) prüfte die Methode an 29 rotzfreien Pferden, und zwar im Vergleich mit der Malleinprobe. Er fand die Agglutinationsprobe weit zuverlässiger als die Malleinprobe. Nach seinen Angaben agglutinierten die Sera der rotzfreien Pferde bei der von ihm angewandten Methode die Rotzbacillen nicht.

Geringe Agglutinationswerte gibt weiter Nikolsky (80) an, der bei einer Verdünnung von 1:6 bis 1:25 nach 40 Stunden nur schwache Agglutination fand und sie bei 1:50—100 überhaupt vermißte.



Nach Bonomes (33) Angaben schwankten bei 6 Pferden die Agglutinationswerte für abgetötete Rotzbacillen zwischen 1:50—150 (makroskopisch); lebende Rotzbacillen wurden bei 1:60—115—170 oder auch 230 agglutiniert (mikroskopisch). Aehnliche Werte fand Reinecke (90): das Serum von gesunden und kranken Pferden, die jedoch nicht an Rotz litten, agglutinierte makroskopisch nie höher wie 1:100, mikroskopisch nie höher wie 1:300, während der höchste Wert, den Rabieaux (88) erhielt, 1:200—250 betrug. Andererseits teilte Wladimiroff (109), der schon 1896 seine Arbeiten über Rotzagglutination begonnen hatte, auf dem internationalen Kongreß zu Moskau mit, daß das Serum normaler Pferde den Rotzbacillus bis 1:300 (makroskopisch) agglutinieren könne. Denselben Höchstwert hatte auch Pokschischewsky (87) bei seinen Untersuchungen an 16 gesunden Pferden ermittelt, während Arpad (28) 1:350 als Grenze angibt. Fedorowsky (46), der unter der Leitung Wladimiroffs umfangreiche Untersuchungen über Rotzagglutination bei verschiedenen normalen Tieren angestellt hat, fand die Agglutinationskraft um so größer, je geringer die Empfänglichkeit bzw. je größer die natürliche Immunität der betreffenden Tierarten gegen Rotz ist. Er ist weiter zu dem Resultat gekommen, daß auch das Pferdeserum eine ziemlich bedeutende Agglutinationskraft zeigte, die zwischen 1:165—330 bei makroskopischer und zwischen 1:330—500 bei mikroskopischer Betrachtung schwanken kann. (Den höchsten Wert zeigte Geflügels Serum, makroskopisch bis 1:1000, mikroskopisch bis 1:1250). Weiter beobachtete Fedorowsky, daß abgetötete Bacillen schneller und deutlicher agglutiniert werden als lebende. In einem ausführlichen Berichte teilte R. Koch (65) die im Institut für Infektionskrankheiten angestellten Versuche bezüglich der Verwertung der Agglutination zur frühzeitigen Diagnose der Rotzkrankheit mit. Nach seinen Angaben agglutinierten die Sera von 49 Pferden — teils Schlachttieren, teils Pferden des Instituts — alle mindestens in einer Verdünnung von 1:100, die meisten 1:200—300; bei 3 Tieren zeigte sich sogar noch Agglutination bei 1:400. Es wurden noch viele andere Pferde untersucht. Den Bericht über diese hat Schütz übernommen. Von Afanassjeff (22) und Schnürer (97) wurde ebenfalls 1:400 (makrosk.) als Grenzwert ermittelt; desgleichen fand Langer (70) bei seinen an 100, teils gesunden, teils kranken (nicht rotzig kranken) Pferden angestellten Untersuchungen nie makroskopisch einen höheren Wert als 1:400 und mikroskopisch 1:500. Höhere Werte ermittelte dagegen Riemer (91): von 8 gesunden Pferden agglutinierten bei makroskopischer Untersuchung je 1 bei 1:250 und 1:350, 4 bei 1:500 und je 1 bei 1:800 und 1:1000. Die Werte waren, mikroskopisch festgestellt, entsprechend höher, und zwar agglutinierten je 1 Pferd bei 1:400 und 1:500, 4 bei 1:800, je 1 bei 1:2000 und 1:4000. Ein äußerst umfangreiches Untersuchungsmaterial von gesunden und rotzigen Pferden hat den Beobachtungen von Schütz und Miessner (98) zu Grunde gelegen. Unter 1911 rotzfreien Pferden fanden sie:

1239,	deren Serum den Agglut.-Titer aufwies von 1:100—300	= 64,8	Proz.
363,	„ „ „ „ „ „ „	1:400	= 19,0 „
135,	„ „ „ „ „ „ „	1:200	= 7,1 „
123,	„ „ „ „ „ „ „	1:600	= 6,4 „
41,	„ „ „ „ „ „ „	1:800	= 2,2 „
10,	„ „ „ „ „ „ „	1:1000	= 0,5 „

Ueber diesen letzten Wert von 1:1000 agglutinierte kein normales Pferdeserum den Rotzbacillus.

Beim normalen Rinderserum war nach Fedorowskys (46) Angaben die Reaktion noch positiv makroskopisch bei 1:330—500, mikroskopisch bei 1:830—1000. Nach Schütz und Miessner (98) agglutinierten von gesunden Kälbern 3 bei 1:50, 12 bei 1:100, 4 bei 1:200, 3 bei 1:300 und 1 Kalb sogar noch bei 1:500.

Weiter fand Fedorowsky (46) für das normale Schafserum bei 1:250—330 eine makroskopisch und bei 1:330—1000 eine mikroskopisch sichtbare Agglutination; für das normale Schweineserum schwankte erstere von 1:330—500, letztere von 1:500—1000.

Aus dieser Zusammenstellung, besonders beim Pferd, geht hervor, daß sich mit der wachsenden Zahl der Untersuchungen und der Verfeinerung der Arbeitsmethoden zugleich die Notwendigkeit ergab, den Grenzwert der Agglutinationsfähigkeit für Rotzbacillen immer höher hinauszuschieben. Es ist dies eine gleiche Erscheinung, wie sie in der Humanmedizin bei der Serodiagnose des Typhus zutage getreten ist.

Die Durchsicht der eben berichteten Literatur über das Vorhandensein von Agglutininen im normalen Serum der großen Schlachttiere ergibt, daß noch vielfach widersprechende Angaben vorliegen, welche zu weiteren Untersuchungen auffordern müssen. Die bisherigen Resultate sind vor allem deshalb oft nicht ohne weiteres miteinander vergleichbar, weil keine einheitliche Technik bei der Agglutinationsprüfung innegehalten ist. Es ist dieselbe, abgesehen von kleineren Feinheiten und Unterschieden, in der Hauptsache nach folgenden Prinzipien ausgeführt worden: Der eine Teil der Autoren benutzte als Testflüssigkeit sterile Kochsalzlösung oder Bouillon, in welche Bakterien von festen Nährböden abgeschwemmt waren, andere gaben Bouillonkulturen den Vorzug. Weiter verwendet der eine lebende, der andere abgetötete Kulturen. Bei der Prüfung der Grenze der Agglutination begnügen sich viele mit der makroskopischen Betrachtung, andere dagegen untersuchen aber auch mikroskopisch, indem sie entweder gleich im hängenden Tropfen die Agglutination verfolgen oder den Versuch in Röhren resp. Schalen anstellen.

#### Technik.

Da die Ausführung einer einheitlichen Technik auf die Resultate nicht ohne Bedeutung ist, habe ich sämtliche Versuche über Agglutination nach einer einheitlichen Methode ausgeführt.

Das zu meinen Versuchen nötige Serum wurde von Schlachtieren gewonnen und möglichst frisch verarbeitet. Die Kulturen waren mir in liebenswürdiger Weise vom hiesigen hygienischen Institut zur Verfügung gestellt mit Ausnahme von Geflügelcholera-, Rotlauf-, Schweinepest-, Schweineseuchekulturen, sowie von Tuberkelbacillen, die mir durch das Entgegenkommen der Höchster Farbwerke zugänglich waren.

Bei meinen Versuchen verwendete ich als Testflüssigkeit junge, meist 18—24-stündige Bouillonkulturen von lebenden Bacillen. Meines Erachtens ist es mit der Entnahme der Bakterien mittels Oese von festen Nährböden nur schwer möglich, in jedem Röhren die gleiche Bakterienmenge zu verreiben, wie es auch nicht immer gelingt, alle Bakterienarten so fein zu verreiben, daß man eine gleichmäßig getrübe Flüssigkeit erhält. Dazu kommt noch, daß dieses Verfahren, besonders wenn große Versuchsreihen angesetzt werden sollen, sehr zeitraubend ist. Ich habe

junge, höchstens 24 Stunden alte Bouillonkulturen, die ich während dieser Zeit noch oft geschüttelt habe, verwandt, da sich in älteren Kulturen die Bakterien fast stets zu kleinen Häufchen zusammengeballt finden. Allerdings wuchsen auch einige dieser jungen Bouillonkulturen nicht immer gleichmäßig getrübt, sondern sie blieben unter Bildung eines feinen Bodensatzes klar oder zeigten auch schon geringe Haufenbildung. Durch öfteres Umzüchten und eventuelles Filtrieren erhielt ich jedoch auch bei diesen Bakterien eine brauchbare, gleichmäßig getrühte Flüssigkeit, in denen sich wenigstens innerhalb 24 Stunden keine Häufchen bildeten. Nachdem mir es also gelungen war, gleichmäßige Kulturen herzustellen, konnte ich zu den eigentlichen Agglutinationsversuchen schreiten.

Es wurden in verschiedenen Röhrrchen von ca.  $\frac{1}{2}$  cm Durchmesser je 1,8 ccm der frischen Bouillonkultur gefüllt und mit einer feinen Pipette in jedes Röhrrchen 0,2 ccm Serum resp. Serumverdünnung zugesetzt. Diese Verdünnungen habe ich mir, wie aus den ersten beiden Spalten der folgenden Tabelle ersichtlich ist, mit 0,85-proz. steriler Kochsalzlösung im Verhältnis von 1:1, 1:2, 1:3 u. s. w. hergestellt. Setzte ich nun von diesen Serumverdünnungen je 0,2 ccm zu je 1,8 ccm. Suspensionsflüssigkeit, so erhielt ich, wie die 3. Spalte der Tabelle zeigt, die Verdünnungen 1:10, 1:20, 1:30 u. s. w.

1	2	3	1	2	3
Serum + NaCl-Lösung ccm	Serumverdünnung	Agglutinationstiter (bei 0,2 Ser.-Verdünnung + 1,8 Suspension)	Serum + NaCl-Lösung ccm	Serumverdünnung	Agglutinationstiter (bei 0,2 Ser.-Verdünnung + 1,8 Suspension)
0,2 —	1:1	1:10	0,1 + 0,8	1:9	1:90
0,1 + 0,1	1:2	1:20	0,1 + 0,9	1:10	1:100
0,1 + 0,2	1:3	1:30	0,1 + 1,9	1:20	1:200
0,1 + 0,3	1:4	1:40	0,1 + 2,9	1:30	1:300
0,1 + 0,4	1:5	1:50	0,1 + 3,9	1:40	1:400
0,1 + 0,5	1:6	1:60	0,1 + 4,9	1:50	1:500
0,1 + 0,6	1:7	1:70	0,1 + 5,9	1:60	1:600
0,1 + 0,7	1:8	1:80	0,1 + 6,9	1:70	1:700

Alle Röhrrchen enthielten so eine gleiche Menge Flüssigkeit und gleiche Mengen der Bakterienkultur mit sinkendem Serumgehalt. Die Röhrrchen kamen nun, nachdem ihr Inhalt sorgfältig gemischt war, ca. 3 Stunden in den Brutschrank. Dann erfolgte die Ablesung des Resultates, d. h. es wurde untersucht, bis zu welchem Verdünnungsgrade des Serums eine Agglutination stattgefunden hatte.

Ich betone gerade dies letztere, denn in der Literatur findet man oft gar keine Angaben über die verwendete Serumverdünnung, oder aber das Serum wurde nur in starken Konzentrationen verwendet. Aber es ist besonders mit Rücksicht auf eine Vergleichung des Agglutinationstiter vom normalen und spezifischen Serum nicht allein der Umstand von Wichtigkeit, daß durch Beimengung von Serum zu einer Bakterienkultur überhaupt Agglutination zu stande kommt, sondern es ist in jedem Falle die Frage zu beantworten, bis zu welchem Verdünnungsgrade des Serums das Phänomen der Agglutination noch in Erscheinung tritt.

Die Beurteilung der einzelnen Versuche geschah stets makroskopisch mit Hilfe einer Lupe, indem bei Schräghaltung der Röhrrchen in dünner Schicht geprüft wurde unter gleichzeitiger Beobachtung einer Kontrollprobe der Bouillonkultur allein.

In Uebereinstimmung mit zahlreichen Autoren habe ich von der mikroskopischen Untersuchung Abstand genommen und dieselbe nur insofern angewandt, als sie zur Kontrolle des makroskopisch eruierten Befundes von Interesse war; denn mikroskopisch, besonders mit Oelimmersion betrachtet, finden sich leicht in Bouillonkulturen diagnostisch unsichere Veränderungen, die aber nichts mit wirklicher Agglutination zu tun haben. Bei der makroskopischen Betrachtung kommt aber immer nur echte Haufenbildung, also nur eine völlig positive Reaktion zur Beobachtung, wodurch bei dieser Art der Untersuchung zweifellos die Sicherheit des Urteils größer ist. Außerdem darf nicht übersehen werden, daß das Agglutinationsphänomen auch praktischen Zwecken dienen soll, und daß daher die Untersuchung auch möglichst einfach auszuführen sein muß. Es verdient nach allem also zweifellos die makroskopische Betrachtung, eventuell mit Hilfe einer kleinen Lupe, den Vorzug.

Die Beurteilung der Befunde erfolgte nun nach folgenden Gesichtspunkten:

Bei dem Stadium der vollständigen Agglutination fanden sich anstatt der ursprünglichen, gleichmäßig trüben Flüssigkeit auf dem Boden der Röhrchen verschieden große, unregelmäßige, feste Klumpen, während die darüber befindliche Flüssigkeit vollständig geklärt war. Diese großen Haufen zerteilten sich beim Aufwirbeln wohl in kleine Teile, edoch war es selbst durch kräftiges Schütteln nicht mehr möglich, eine homogene Flüssigkeit, wie es die Kontrolle war, wiederherzustellen, vielmehr senkten sich die Häufchen bald wieder zu Boden. Dieses Stadium habe ich in meinen Tabellen mit ++ bezeichnet und habe noch ein Ausrufungszeichen ++! hinzugefügt, wenn die Agglutination eine besonders starke war.

Bei dem zweiten Stadium, das ich durch + kenntlich gemacht habe, war auch deutliche Agglutination zu erkennen; es hatten sich ebenfalls verhältnismäßig große Klümpchen gebildet, jedoch war die Flüssigkeit noch nicht völlig geklärt. Waren bei genauem Vergleich mit der Kontrollprobe nur Spuren von Agglutination zu konstatieren, so habe ich dies mit + vermerkt; 0 bedeutet, daß keine Agglutination erfolgt war.

In dieser Weise habe ich nun, wie oben bereits erwähnt, die Agglutinationsfähigkeit der normalen Sera von Pferd, Rind, Schaf und Schwein auf verschiedene Bakterien geprüft und meine Resultate in den folgenden Tabellen zusammengefaßt:

#### Untersuchungsergebnisse.

++! starke, deutliche Agglutination. Flüssigkeit klar.

++ " " " trüb.  
+ " " "  
+ Spur "  
0 keine "

#### 1. *Bacillus typhi*.

Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	++	++	++	±
1:20	++	++	+	0
1:30	++	+	0	0
1:40	++	±	0	0
1:50	++	0	0	0
1:60	++	0	0	0
1:70	0	0	0	0

#### 2. *Vibrio cholerae asiatica*.

Agglut.-Titer	Serumarten				
	Pferd		Rind	Schaf	Schwein
	I.	II.			
1:10	++	0	++	+	0
1:20	++	0	++	0	0
1:30	+	0	+	0	0
1:40	+	0	0	0	0
1:50	0	0	0	0	0

3. *Staphylococcus*.

Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	0	++	0	0
1:20	0	++	0	0
1:30	0	+	0	0
1:40	0	0	0	0
1:50	0	0	0	0

5. *Bacillus anthracis*.

Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	++	+-	0	0
1:20	++	++	0	0
1:30	++	++	0	0
1:40	++	+	0	0
1:50	+	0	0	0
1:60	0	0	0	0

7. *Bacterium coli*.

Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	+++!	++	++	++
1:20	++	++	++	++
1:30	++	++	+	++
1:40	++	+	+	++
1:50	++	0	+	++
1:60	+	0	+	+
1:70	0	0	+	+
1:80	0	0	0	0

9. *Bacillus avisepticus*.

Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	0	+	0	0
1:20	0	+	0	0
1:30	0	+	0	0
1:40	0	+	0	0
1:50	0	0	0	0

4. *Streptococcus*.

Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	++	++	0	0
1:20	++	++	0	0
1:30	++	++	0	0
1:40	++	+	0	0
1:50	+	0	0	0
1:60	0	0	0	0

6. *Proteus vulgaris*.

Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	+	+++!	++	0
1:20	0	+++!	++	0
1:30	0	+++!	0	0
1:40	0	+++!	0	0
1:50	0	+++!	0	0
1:60	0	+++!	0	0
1:70	0	++	0	0
1:80	0	++	0	0
1:90	0	++	0	0
1:100	0	++	0	0
1:200	0	0	0	0

8. *Bacillus suispestifer*.

Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	+	+++!	+	+
1:20	+	+++!	+	+
1:30	+	+++!	+	+
1:40	+	++	+	+
1:50	+	++	+	+
1:60	+	+	0	0
1:70	+	+	0	0
1:80	+	+	0	0
1:90	+	+	0	0
1:100	+	+	0	0
1:200	+	0	0	0
1:300	0	0	0	0

10. *Bacillus suisepiticus*.

Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	++	+++!	++	++
1:20	+	++	++	+
1:30	+	++	+	+
1:40	+	++	+	+
1:50	+	++	+	+
1:60	+	+	+	+
1:70	+	+	0	0
1:80	+	+	0	0
1:90	+	+	0	0
1:100	+	+	0	0
1:200	0	0	0	0

29\*

11. Rotlaufbacillus.					12. Bacillus mallei.				
Agglut.-Titer	Serumarten				Agglut.-Titer	Serumarten			
	Pferd	Rind	Schaf	Schwein		Pferd	Rind	Schaf	Schwein
1:10	++	++	+	++	1:10	++	+	+	+
1:20	++	++	+	++	1:20	++	+	0	+
1:30	+	+	0	+	1:30	++	+	0	+
1:40	+	0	0	0	1:40	++	+	0	0
1:50	+	0	0	0	1:50	++	0	0	0
1:60	+	0	0	0	1:60	++	0	0	0
1:70	0	0	0	0	1:70	+	0	0	0
					1:80	+	0	0	0
					1:90	+	0	0	0
					1:100	0	0	0	0

Aus diesen Tabellen geht hervor, daß die Sera der untersuchten 4 Tierespecies schon normaliter oft eine große Menge von Agglutininen auf verschiedene Bakterienarten enthalten, und daß das Agglutinationsvermögen gegen eine Bakterienart unabhängig von dem gegenüber einer anderen Bakterienart ist. Ein Vorherrschen einer Bakterienart im Agglutinationscharakter der normalen Sera konnte ich nicht erkennen, ebenso wenig wie bestimmte Sera einen ausgesprochenen Einfluß auf gewisse Bakterien ausübten; es ergab sich vielmehr eine — vielleicht scheinbar nur — wahllose Einstellung auf verschiedene Bakterienarten.

Im folgenden habe ich, der besseren Uebersicht und schnelleren Orientierung wegen, die Agglutinationsgrenzwerte der einzelnen Bakterienarten für die 4 Sera zusammengestellt. Es agglutinierte:

a) Normales Pferdeserum: B. Proteus 1:10, Milzbrandbacillen 1:40, Cholera vibrionen 1:40 (in einem anderen Falle = 0), Staphylokokken 1:50, B. coli 1:50, Typhusbacillen 1:60, Rotlaufbacillen 1:60, Rotzbacillen 1:90, Schweineseuchebakterien 1:100, Schweinepestbakterien 1:200.

b) Normales Rinderserum: Staphylococcus 1:30, Rotlaufbacillen 1:30, Cholera vibrionen 1:30, Streptokokken 1:40, Milzbrandbacillen 1:40, B. coli 1:40, Typhusbacillen 1:40, Geflügelcholera bakterien 1:40, Rotzbacillen 1:40, B. Proteus 1:100.

c) Normales Schafserum: Rotzbacillen 1:10, Cholera vibrionen 1:10, B. Proteus 1:20, Typhusbacillen 1:20, Rotlaufbacillen 1:20, Schweinepestbakterien 1:50, Schweineseuchebakterien 1:60, B. coli 1:70.

d) Normales Schweineserum: Typhusbacillen 1:10, Rotlaufbacillen 1:30, Schweinepestbakterien 1:50, Schweineseuchebakterien 1:60, B. coli 1:70.

Nicht agglutiniert wurden in Verdünnung von 1:10 und höher:

a) vom normalen Pferdeserum: Staphylokokken, Geflügelcholera bakterien und einmal Cholera vibrionen;

b) vom normalen Rinderserum: Rinderserum agglutinierte alle Bakterien;

c) vom normalen Schafserum: Staphylokokken, Streptokokken, Milzbrandbacillen, Geflügelcholera bakterien;

d) vom normalen Schweineserum; Staphylokokken, Streptokokken, B. Proteus, Geflügelcholera bakterien und Cholera vibrionen.

### Ueber Agglutination des Tuberkelbacillus durch normales Tiereserum.

Das Verfahren, die Agglutination als serodiagnostisches Hilfsmittel verwerten zu können, wurde, wie ich bereits oben (p. 366) erwähnt habe, auch bei der Tuberkulose geprüft.

Ein wesentliches technisches Hindernis bei der Verwendung dieser Methode bildete jedoch die schwere Suspendierbarkeit der Tuberkelbacillen in flüssigen Medien und ihre Neigung, sich in Form zusammenhängender Häufchen und Klümpchen zu ballen. Eine große Bedeutung und überaus reiche Bearbeitung erfuhr daher die Serodiagnose in dieser Richtung, als Arloing (23) über ein Verfahren berichten konnte, das er bald darauf zusammen mit Courmont (25) näher bekannt gab, wonach es ihnen gelungen sei, Kulturen von Tuberkelbacillen zu erhalten, die längere Zeit auf festen Nährböden gewachsen sich leicht in Bouillon oder Kochsalzlösung verteilen ließen, und die in 6-proz. Glycerinbouillon gezüchtet und einige Male täglich geschüttelt eine homogene Kultur lieferten. Es wurde von den genannten Forschern ihrer Methode eine praktische Bedeutung gegeben, die für den Kliniker um so wertvoller schien, als die Reaktion gerade in den ersten, schwer erkennbaren Stadien der Krankheit fast ausnahmslos positive Resultate lieferte, während sie allerdings in den späteren Stadien des Leidens, wo jedoch die Diagnose meist keine großen Schwierigkeiten bot, oft im Stich ließ. Ja, Arloing und Courmont glaubten deshalb sogar von einer seroprognostischen Bedeutung sprechen zu können, da sie zwischen Ernst der Krankheit und Intensität der Serumreaktion ein umgekehrtes Verhältnis fanden.

In der Veterinärmedizin sollte nach Arloing (24) diese Serumprobe die Tuberkulinprobe ersetzen; da sie nach einer vorangegangenen Tuberkulinimpfung noch intensiver war, sollte sie zuverlässiger sein als die Tuberkulinprobe, mit welcher so vielfach beim Ankauf von Tieren Mißbrauch getrieben würde.

Obwohl die Resultate dieser französischen Forscher in der Folgezeit teilweise Bestätigung fanden, so hat die Methode besonders in Deutschland einer praktischen Prüfung sowohl in der Human- wie in der Veterinärmedizin nicht völlig standgehalten. Es waren die Resultate der einzelnen Untersucher sehr ungleich, auch trugen sie keinen einheitlichen Charakter, so daß auch Eber (44) in seiner zusammenfassenden Arbeit „Tuberkulose der Tiere“ sagen konnte: „Eine kurze Zeit schien es, als ob dem Tuberkulin in der Arloing-Courmontschen Serumagglutinationsprobe ein ebenbürtiger Rivale entstehen sollte.“

Vielfach glaubten besonders die Anhänger der Arloing-Courmontschen Methode einen Grund für diese Widersprüche neben eventuellen Fehlern bei der praktischen Ausführung der Reaktion auch am ehesten in der Verschiedenheit und in der Beschaffenheit der als Reagens benutzten Kulturen suchen zu müssen, die ja nach der Erfinder eigenem Zugeständnis trotz genauester Beachtung aller Vorschriften nicht immer gleichmäßig ausfällt.

Dieser Uebelstand beim Wachstum der Tuberkelbacillen, der ja einerseits die Untersuchungen erschwerte, andererseits aber auch manche Resultate unwahrscheinlich erscheinen lassen konnte, gab die Veranlassung, Testflüssigkeiten von abgetöteten Tuberkelbacillen herzustellen, da ja von verschiedenen Autoren, wie Widal und Sicard (108), Bordet (35) u. A. die Agglutinabilität abgetöteter Kulturen erkannt war.

Es stellten v. Behring (31), Koch (64), Koeppe (66) u. A. derartige Kulturen her; v. Behring verwandte abgetötete Tuberkelbacillen, welche zerkleinert in alkalischem Wasser emulsiert wurden. In ähnlicher Weise ging Koch vor, der die zu Staub gemahlten Bacillen in Karbolkoehsalzlösung aufschwemmte. Das Verfahren von Koeppe bestand darin, abgetötete Bacillen mit  $33\frac{1}{3}$ -proz. wässriger Kalilauge zu verseifen.

Durch diese Kulturen war infolge der feinen Verteilung der Tuberkelbacillen für eine gleichmäßig getrübe, auf bestimmte Zeit auch haltbare Testflüssigkeit Gewähr geleistet.

Jedoch auch mit Hilfe dieser Emulsionsflüssigkeiten ließ sich im allgemeinen der Agglutination der Tuberkelbacillen im Sinne Arloing-Courmonts keinerlei Bedeutung, weder diagnostisch, noch prognostisch, beimessen.

Allerdings erblickt ja auch Koch (64), entsprechend dem Wandel der Ansichten in der Immunitätslehre, in dem Vorhandensein der Agglutinine kein diagnostisches Merkmal für das Vorhandensein von Tuberkulose, sondern im Gegenteil, die Agglutinine sind beweisend für die Anwesenheit von Schutz- und Immunstoffen gegen die Tuberkelbacillen. Es bildet deshalb der Agglutinationstiter eines Kranken keine Wertbestimmung für die Höhe des Krankheitsgrades, sondern im Gegenteil für die Menge der im Blute des Betreffenden vorhandenen Schutzstoffe, d. h. für den Immunitätsgrad.

Welches waren nun die Resultate, welche die verschiedenen Forscher bei ihren Untersuchungen betreffend Agglutination der Tuberkelbacillen durch normales Tiereserum erhalten hatten?

Caffarena (38) machte die Beobachtung, daß normales Pferdeserum keine Agglutinationskraft für Tuberkelbacillen besitzt. Auch Knopf (63) erwähnte in einem Vortrage, den er in New York hielt, daß normales Pferdeserum in einer Tuberkelbacillenemulsion, die er sich nach der Arloing-Courmontschen Vorschrift mit Tuberkelbacillen aus einer pleuritischen Exsudatflüssigkeit hergestellt hatte, bei einer Verdünnung von 1:10 keine Agglutination der Tuberkelbacillen hervorrufen können.

In anderem Sinne hatte sich jedoch schon im Jahre 1898 auf dem 4. Kongreß zum Studium der Tuberkulose Dubar (43) ausgesprochen. Er hatte nach einer von ihm selbst gefundenen Methode gleichmäßige Tuberkulosekulturen herstellen, und bei seinen diesbezüglichen Versuchen feststellen können, daß gesunde Pferde ein Serum besitzen, das, wenn auch in unregelmäßiger Weise, so doch mit der Fähigkeit der Agglutination begabt ist, die de Grazia (51) andererseits als sehr intensiv bezeichnen konnte.

Auch Koch (64) hatte bei seinen Untersuchungen mit einer von ihm selbst hergestellten gleichmäßigen Tuberkelbacillenaufschwemmung die auffallende Tatsache konstatieren können, daß beim Pferde, das doch so selten an Tuberkulose erkrankt, unter 10 gesunden Pferden 8 bei 1:25 und 2 sogar bei 1:50 deutliche Agglutination der Tuberkelbacillen hervorgerufen hatten. Karwacki und Benni (61) fanden mit Kochscher Testflüssigkeit bei einigen normalen Pferden noch höhere Werte wie 1:50. Auch nach Sobernheims Angaben (100) wirkte normales Pferdeserum auf Tuberkelbacillenemulsionen, die er sich nach Kochs Vorschrift mit je 3 Stämmen von Menschen- und Rindertuber-



kulose hergestellt hatte, in jedem Falle agglutinierend, und zwar sogar in hohen Verdünnungen, wie 1:50—100.

Zahlreichere Versuche sind mit dem normalen Rinderserum angestellt worden. Als Beweis für den praktischen Wert ihrer Methode führten Arloing und Courmont (26) die Resultate an, die sie bei ihren Untersuchungen über das Blutserum von Rindern erzielt hatten, wo die Autopsie immer die Reaktion kontrolliert hatte. Es war bei 30 Kälbern im Alter von 5—8 Wochen die Reaktion immer negativ; von 50 älteren, aus gesunder Rasse stammenden Tieren, die auch nach der Schlachtung für gesund erklärt wurden, war bei 10 Tieren die Reaktion gleichfalls negativ, während sie bei 25 Tieren noch bei 1:5 schwach und bei den übrigen 15 Tieren bei 1:5 stark eingetreten war. Die Untersuchungen anderer Forscher, besonders in Deutschland, ergeben jedoch andere Resultate. Die ersten, die die Angaben Arloings für das Rind, und zwar mit zugesandten Kulturen Arloings selbst nachprüften, waren Beck und Rabinowitsch (30).

Ihre Versuche an 78 Rindern stehen an Wert denen Arloings insofern nicht nach, als alle Tiere nach der Agglutinationsprüfung getötet wurden, und so das Ergebnis der letzteren mit dem Obduktionsbefunde verglichen werden konnte. Unter 19 gesunden Rindern fiel die Serumreaktion nur in einem einzigen Falle negativ aus; bei den übrigen 18 Tieren war in 2 Proben die Agglutination bei 1:5 eine fragliche, dagegen in je 4 Proben bei 1:5 und 1:10, weiter 3mal bei 1:20, 4mal bei 1:30 und 1mal sogar bei 1:40 deutlich zu erkennen. Bei 4 anderen Rindern, die von Tuberkulose frei waren, jedoch an Leberabscessen, Echinokokken und Kachexie litten, war die Reaktion 1mal bei 1:10 und 3mal bei 1:20 positiv. Ueber ähnlich hohe Agglutinationswerte des normalen Rinderserums schreibt Ruitinga (94). Es agglutinierte nach seinen Angaben das Serum von 3 geschlachteten Rindern, die nach genauer Untersuchung keine tuberkulösen Veränderungen aufwiesen und die bis auf eins, das an einem chronischen Darmkatarrh litt, auch sonst für völlig gesund erklärt waren, die Arloing-Courmontsche Kultur 2mal bei 1:30 und einmal bei 1:40. Panisset (84) sah bei allen untersuchten normalen Rinderseris stets positive Resultate. Weiter stellte nach der Arloing-Courmontschen Methode de Grazia (51) umfangreiche Untersuchungen bei verschiedenen Tieren an, die auch nach der Sektion genau untersucht wurden. Er fand bei gesunden Tieren und zwar beim Rind, beim Kalb und beim Schaf bei Verdünnungen von 1:5 Agglutination, jedoch war dieselbe nicht vollständig, da eine völlige Klärung selbst nach 24 Stunden noch nicht eingetreten war; dagegen zeigte sich beim Lammserum bei 1:20 eine vollständige und intensive Reaktion.

Auch die Untersuchungen über Agglutination von Tuberkelbacillen mit der Kochschen Emulsion ergaben beim Rinde widersprechende Resultate. Koch (64) sah bei 3 gesunden Rindern bei 1:25 keine Reaktion eintreten; dasselbe fand er auch bei 3 weiteren Rindern, die auf Tuberkulin reagiert hatten. Auch Thellung (102) vermißte bei einem Rinde und weiter bei einem Schweine selbst bei 1:5 und 1:10 eine Agglutination. Dagegen berichten Karwacki und Benni (61), daß sie mit der Kochschen Emulsion bei einigen normalen Kälbern in noch höheren Verdünnungen wie 1:50 eine Agglutination der Tuberkelbacillen haben eintreten sehen.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## The opsonic index in certain acute infectious diseases.

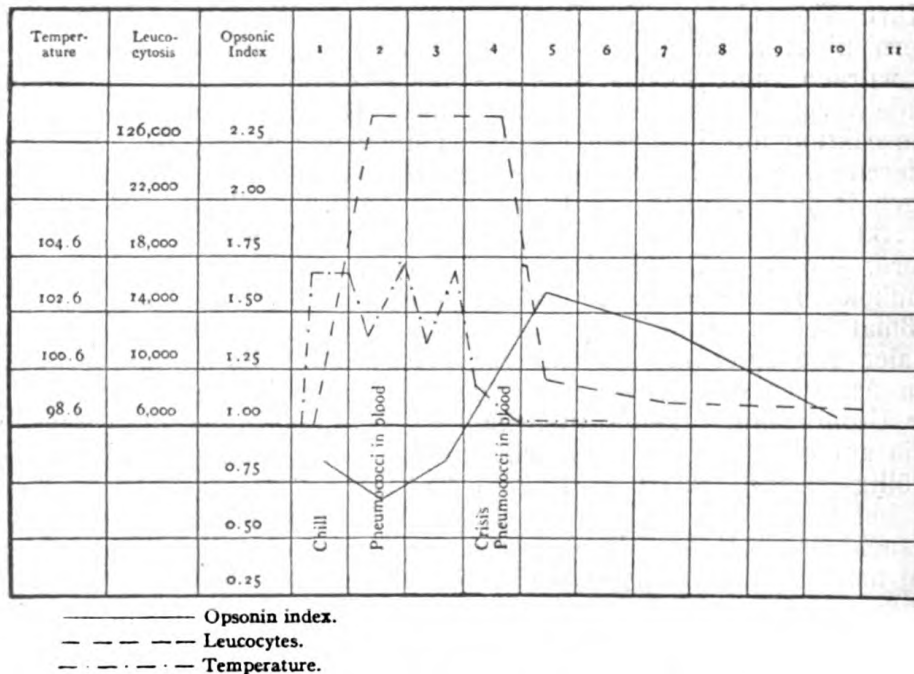
[Memorial Institute for Infectious Diseases, Chicago.]

By **Ludvig Hektoen.**

With 7 diagrams.

From what we know of antibodies in general and of the results of experimental and therapeutic inoculations we naturally would expect more or less fluctuation in the specific opsonic index<sup>1)</sup> in various acute infectious diseases. To determine the range of eventual fluctuations and their relations to the clinical course certain observations have been made the chief results of which I wish to present.

Chart I. Pneumococco-Opsonic Index in Typical Pneumonia Ending in Crisis.



In pneumonia Dr. Wolf<sup>2)</sup> (whose work has been published) found the pneumococco-opsonic index at first below normal, but in favorable cases to rise above normal, the height being reached soon after crisis; while in cases fatal early it remained persistently low (Charts I and II).

On account of the close and constant association of streptococci with scarlet fever it was believed that it would be of interest to study the streptococco-opsonic power of the blood in the course of this disease. This study has been carried on by Dr. Tunnickliff.

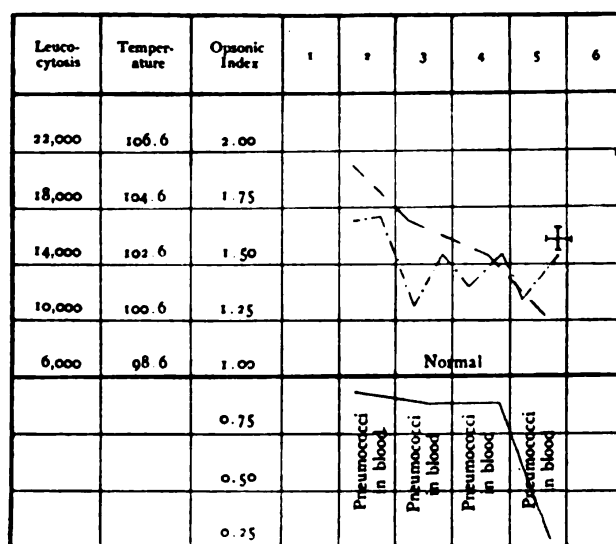
In this work 24 hour growths of streptococci on plain or horse serum agar, the fluid of condensation being disregarded, were used in thin

1) In German medical literature comparatively little attention has been given to the opsonic index of Wright. It is discussed fully, however, by Weinstein, Berl. kl. Wochenschr. 1906. XLIII. 1007.

2) Journ. Infect. Dis. 1906. III. 731.

suspensions in  $\frac{m}{8}$  NaCl solution. The most serviceable suspension was one that gave an average count of about 5 cocci per leucocyte in the normal pooled serum after an incubation of 15 minutes. In the preliminary tests, and to a large extent subsequently as well, a typical *Streptococcus pyogenes* from acute otitis in scarlet fever, and which ferments mannit, has been employed not only on account of its source but also because of its relatively uniform suspensions. Frequent comparative tests have shown that the index with this strain corresponds well with the index obtained with similar strains recently isolated. Under the conditions of the tests the streptococco-opsonic index of normal adults shows only small individual variations being practically always between 0,9 and 1,1.

Chart II. Pneumococco-Opsonic Index in Fatal Pneumonia.



————— Opsonin.  
 - - - - - Leucocytes.  
 . . . . . Temperature.

In the beginning of scarlet fever the streptococco-opsonic index in the majority of the cases has been found below normal. As the acute symptoms subside the index rises above normal to which it soon returns, sometimes quite abruptly, and in the uncomplicated cases it commonly remains practically normal during convalescence (Chart III). Definite local streptococcal complications are inaugurated by depression in the streptococco-opsonic index which rises again as improvement takes place (Chart IV). These results indicate that practically from the first the scarlet fever patient is subject to a definite streptococcus infection which consequently must be held responsible for at least some of the phenomena of the disease<sup>1</sup>).

The condition in the severe "septic" cases of scarlet fever merit further study and the therapeutic influence of streptococcal substances in scarlet fever and its complications is under investigation.

1) Elsewhere (Journ. Am. Med. Assoc. Vol. XLVIII. 1907. p. 1158). I have discussed the question whether scarlet fever is a streptococcus disease.

During the progress of this study Dr. Tunnicliff repeatedly determined the opsonic indices of scarlet fever patients for staphylococci, pneumo-

Chart III. Streptococco-Opsonic Index in Uncomplicated Scarlet Fever.

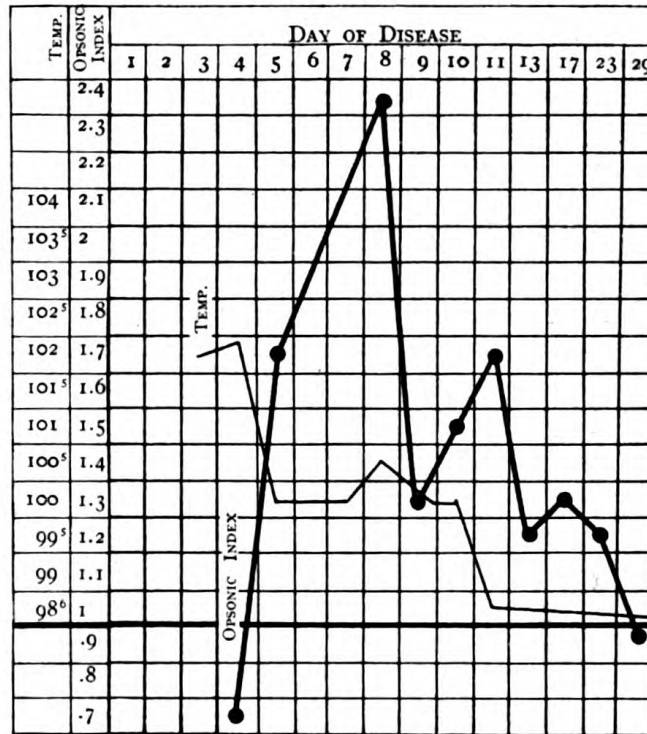
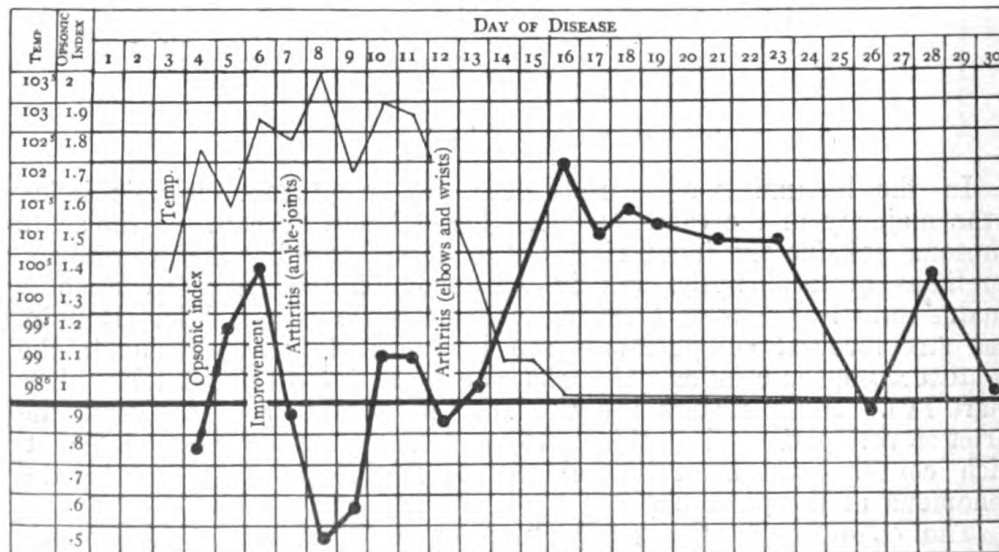


Chart IV. Streptococco-Opsonic Index in Scarlet Fever Complicated with Arthritis.

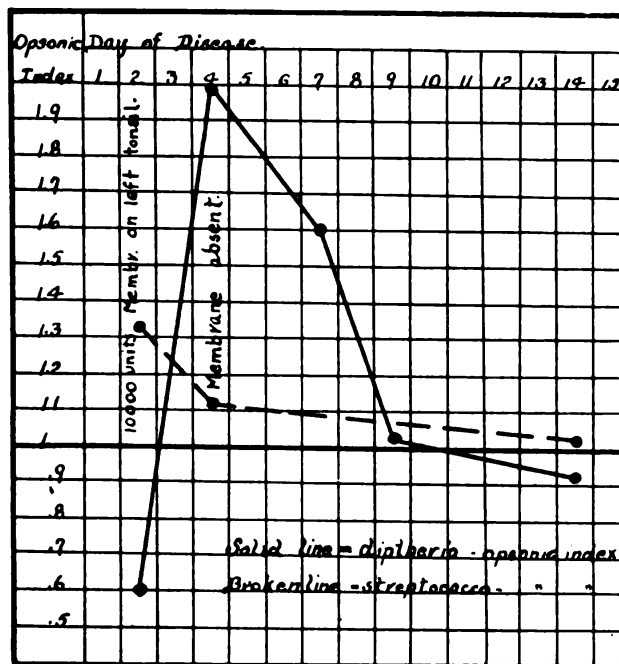


cocci, and pseudodiphtheria bacilli. The staphylococco- and pneumococco-opsonic indices were always normal while the streptococco-opsonic index varied from 0,5 to 2,6; and in two cases there was no correspondence

between the indices for streptococci and for the pseudodiphtheria bacilli isolated from the suppurating ears in these instances. The streptococco-opsonic index of uncomplicated cases of measles and of typical pneumonia was found within normal limits. In erysipelas, however, a sharp rise seems to occur at about the time the temperature begins to fall. These facts would seem to mean that the streptococco-opsonin in scarlet fever is a specific opsonin.

Dr. Tunnicliff also finds that in diphtheria subsidence of the acute symptoms and disappearance of membrane are associated with a rapid rise above normal of the opsonic index for diphtheria bacilli which at first may be subnormal. In cases that proceed to prompt recovery the index quickly falls to normal (Chart V). Complications such as acute nephritis may be associated with a marked fall below normal of the index,

Chart V. Opsonic Indices in Diphtheria (man, 30 years, no fever).



but the observations are as yet too few to allow generalization. Antidiphtheric serum by itself has no influence upon the diphtheric-opsonic index in normal persons judging from the result obtained in the case of a healthy man who received 12000 units without any subsequent disturbance of the index. The suggestion may be permitted that in case opsonification and phagocytosis play a part in ridding the throat of bacilli suitable doses of dead bacilli might be a means of hastening the disappearance of the organisms. The fact that in most of the cases examined the streptococco-opsonic index also presents distinct variations from the normal indicates that in diphtheria there is commonly a mild form of streptococcus infection most likely, it would seem, of the tonsils. The indices for diphtheria bacilli and for streptococci do not correspond in diphtheria hence it most likely concerns distinct opsonins.

I wish now to present briefly results obtained by Dr. Hamilton in acute otitis, especially the scarlatinal. In 72% of the cases examined

Chart VI. Opsonic Index for Pseudodiphtheria Bacillus in Otitis media.

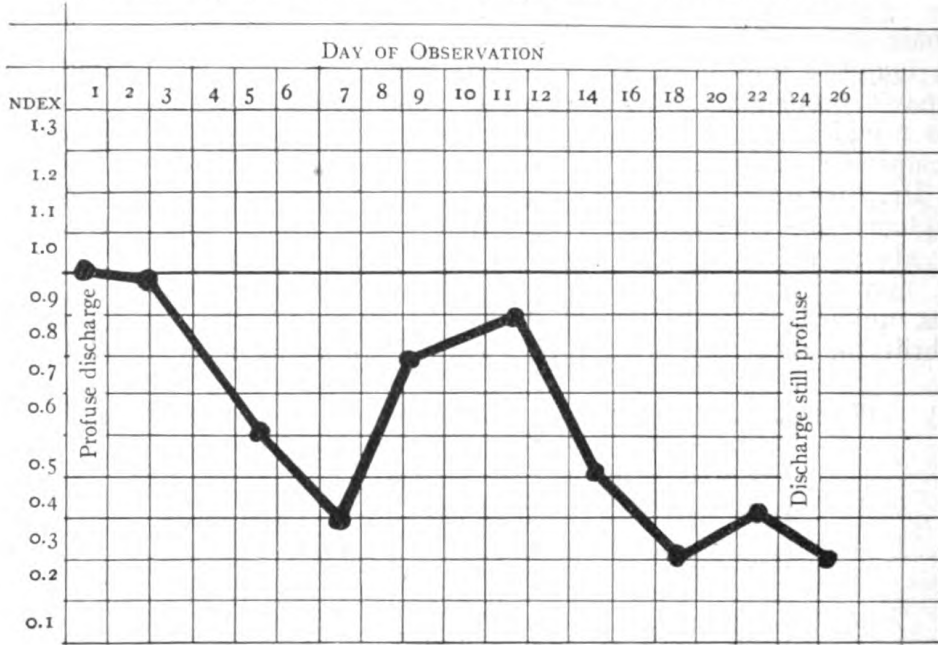
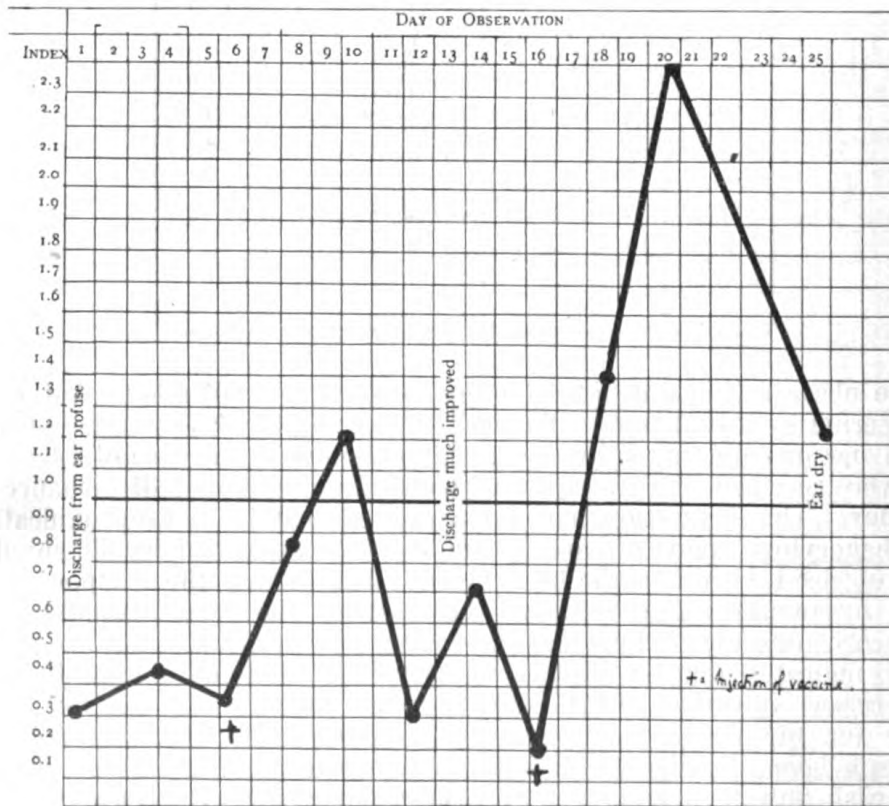


Chart VII. Opsonic Index for Pseudodiphtheria Bacilli in Otitis media Injected with Heated Bacilli.



pseudodiphtheria bacilli were found the predominating organism in the pus. In such cases the opsonic index for the strain in question may be persistently low or subject to abnormally wide variations, commonly rising as the discharge diminishes and falling as it increases (Chart VI). The opsonins concerned here are unquestionably strictly specific even for special groups of pseudodiphtheria bacilli. Knowing that immunisation of certain animals with pseudodiphtheria bacilli increased the opsonin specifically, killed homologous cultures were injected in patients with low indices. The injections have not caused any ill effects whatsoever; the index for the strain used commonly rises after each injection; and in several cases apparent benefit has resulted (Chart VII). Inasmuch as acute otitis is subject to rapid spontaneous cure it is difficult to form conclusions as to the effect upon its course of any therapeutic agent, and it is hoped that in the chronic otitis the results will prove more decisive. It is needless to point out that the spontaneous variations in the opsonic index for the particular pseudodiphtheria bacilli present in acute suppuration of the ear constitute strong evidence that such bacilli are pathogenic.

According to the observations of Dr. Clark typhoid and paratyphoid fevers present several interesting features from the point of view of the opsonic index. The statements I am about to make are merely preliminary because the investigations are still in progress. A word in regard to the technique is necessary. On account of the varying amounts of lysins in normal and typhoid as well as paratyphoid sera for the bacilli in question, the sera must be heated to destroy the complement before the opsonic index is determined. Otherwise the results may be made unreliable because of unequal destruction of bacilli in the mixtures. For this purpose heating to 56° C would seem to be sufficient<sup>1)</sup>. In other respects the technique is the usual one employed in opsonic determinations. Twenty-four hour broth cultures furnish excellent bacillary suspensions, the broth, so far as observed, in no way interfering with phagocytosis. Now it seems that both typhoid and paratyphoid fevers commonly give rise to marked variations in the opsonins for the typhoid-paratyphoid bacilli, but it must be emphasized that not all strains of these organisms respond in the same degree to the opsonic action of the same serum. The more recently a bacillus has been isolated from the blood of a patient the more resistant does it seem to be to the opsonic action. This is certainly true of typhoid bacilli, and repeated passages through guinea-pigs increase very decidedly the resistance of typhoid strains to phagocytosis.

From the fact that strains of typhoid bacilli may be sensitized in heated typhoid serum so that they after being freed from serum by repeated washing are readily taken up by washed leucocytes, and from the further fact that the power of typhoid serum to promote phagocytosis of typhoid bacilli may be removed by digestion of the serum with bacilli the conclusion is justified that we are here dealing with a true opsonic action and not with direct stimulation of the leucocytes as has been claimed by Leishman<sup>2)</sup>, Harrison<sup>2)</sup>, and others. Washed leucocytes alone,

1) Immune typho-opsonin resists to heat. Considerable destruction is accomplished by heating at 60° C for half an hour, but a distinct trace persists even after heating for that length of time at 75°.

2) Leishman, *Trans. of Path. Soc. of London*. 1904—5. 56. p. 344; Leishman, Harrison, Smallman and Tulloch, *Journ. of Hyg.* 1905. 5. p. 380; Harrison, *Journ. Roy. Army Med. Corps*. 1906. 7. p. 322.

whether from normal persons or from cases of typhoid fever, have no marked phagocytic power over typhoid bacilli and so-called spontaneous phagocytosis which is more pronounced the thicker the suspension used, occurs in equal degree whatever the source of the leucocytes. In the presence of suitable serum, however, such leucocytes take up bacilli to the same extent. This appears to be true also when bacilli previously treated with heated serum and then washed are used.

The increased opsonic power often possessed by the sera of typhoid and paratyphoid patients appears to be specific and there is good reason to believe that the opsonins for typhoid and paratyphoid bacilli are distinct bodies particularly because Dr. Simonds has shown that in artificially immunized rabbits the opsonic index may vary widely at the same time for the two bacilli. Furthermore, absorption experiments indicate that each bacillus absorbs only the opsonin peculiar to itself. In some of the cases which there was every reason to regard as cases of pure typhoid fever the index for paratyphoid bacilli was often much higher than that for typhoid bacilli. Whether the high paratyphoid index is due solely to special opsonin or to other and complex factors has not been determined definitely. The typhoid and paratyphoid opsonins are certainly distinct from agglutinins because sera may be highly opsonic and not agglutinative while an agglutinating serum may give low opsonic index. Again, the index obtained by determining the relation between the number of phagocytic leucocytes in the normal pooled serum and in agglutinating typhoid serum corresponds very well with the opsonic index as usually determined, a result that does not harmonize with the supposition that agglutinins have opsonic power.

The number of cases of typhoid and paratyphoid fevers is as yet too small and also for other reasons inadequate to permit of final statements as to the typical course of the indices. It seems, however, that the high opsonic mark is reached as the active symptoms begin to subside and in the instances studied relapses have been preceded by a marked fall in the opsonic indices. The available cases have all come under study too late to determine the index in the initial stages.

#### Summary.

In essential features the course of the specific opsonic index in many acute infectious diseases corresponds to the course taken by the opsonic index in response to experimental and therapeutic inoculations of bacterial substances: Immediately upon the invasion of the infecting microbe the index falls below normal, i. e., enters upon the negative phase; as the acute infectious phenomena begin to subside the content of the blood in opsonin for the bacterium in question commonly rises above the normal, i. e., the index passes into the positive phase whence it returns to the normal standard if recovery promptly ensues. Recidivations, reinfections, and secondary localizations are associated with fluctuations in the index, the negative and positive phases of which, however, appear to correspond fairly well with increase and diminution in the general clinical symptoms. Under all circumstances the post-infectious opsonic increase seems to be of relatively brief duration. So far as the observations now go the opsonic phenomena harmonize best with the view that opsonins like agglutinins and other antibodies possess in high degree the property of specificity and abnormal fluctuations in the opsonic index for a given bacterium associated with an infectious



process furnish evidence that the bacterium is exercising infectious properties. A good illustration of the value of the estimation of the opsonic index from this point of view is supplied by Dr. Hamilton's study of the opsonic index for pseudodiphtheria bacilli in otitis and by Dr. Tunncliff's study of the opsonins in scarlet fever and diphtheria. It is self-evident that abnormal variations in specific opsonins if properly estimated may have diagnostic as well as prognostic significance.

The complete reports of Dr. Tunncliff's, Dr. Hamilton's, Dr. Clark's, and Dr. Simonds' studies will appear in the Journal of infectious diseases.

*Nachdruck verboten.*

## Wie verhalten sich die nach dem v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfungsverfahren immunisierten Rinder gegenüber einer wiederholten verstärkten natürlichen Infektion, und wie bewährt sich das Schutzimpfungsverfahren bei der praktischen Bekämpfung der Rindertuberkulose?

[Aus dem Veterinärinstitute der Universität Leipzig.]

Von Prof. Dr. A. Eber, Institutsdirektor <sup>1)</sup>.

Im Frühjahr 1905 habe ich in einer größeren Abhandlung <sup>2)</sup> über Versuche berichtet, welche im Veterinärinstitute der Universität Leipzig zur Nachprüfung des v. Behringschen Tuberkuloseimmunisierungsverfahrens ausgeführt worden sind.

Bekanntlich hatte v. Behring erstmalig im Dezember 1901 bei Gelegenheit der von ihm in Stockholm gehaltenen Nobelvorlesung Mitteilung von seinen erfolgreichen Versuchen, Rinder gegen künstliche Tuberkuloseinfektionen zu schützen, gemacht. Durch die Liebesswürdigkeit des Herrn Geheimrats v. Behring gelangte das Veterinärinstitut bereits Ende 1902 in den Besitz zweier entsprechend vorbehandelter Rinder, deren Widerstandsfähigkeit gegenüber künstlichen Tuberkuloseinfektionen im Veterinärinstitute einer Nachprüfung unterzogen werden sollte. Diese beiden im hygienischen Institute der Universität Marburg mit Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft vorbehandelten Jungrinder wurden nach und nach mit insgesamt 6 frisch gekauften tuberkulosefreien Jungrindern in geeigneten Zwischenräumen mit vom Rinde stammendem tuberkulösen Virus künstlich (subkutan und intravenös) infiziert. Zwei weitere frisch gekaufte tuberkulosefreie Jungrinder dienten nacheinander zur Kontrolle der Fütterung und der allgemeinen hygienischen Verhältnisse. Insgesamt gelangten 4 verschiedene Versuchsreihen zur Durchführung.

1) Ueber das Ergebnis der nachstehend mitgeteilten Versuche habe ich erstmalig am 9. Juni d. J. auf der 61. Generalversammlung des tierärztlichen Zentralvereins für die Provinz Sachsen, die anhaltischen und thüringischen Staaten in Dessau und am 11. Juni d. J. in einer Sitzung der medizinischen Gesellschaft in Leipzig Bericht erstattet.

2) Eber, A., Ueber die Widerstandsfähigkeit zweier in Marburg mit Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft vorbehandelter Rinder gegen subkutane und intravenöse Infektionen mit tuberkulösem vom Rinde stammendem Virus. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. IX. Heft 2 u. 3.)

Die Versuche ergaben nun, daß sich die beiden in Marburg vorbehandelten Rinder widerstandsfähiger gegen künstliche (subkutane und intravenöse) Infektionen mit tuberkulösem Virus vom Rinde zeigten als die nicht vorbehandelten.

Die wesentlichsten Momente, welche für die Annahme einer erhöhten Widerstandsfähigkeit der vorbehandelten Rinder sprechen, waren

bei subkutaner Einverleibung infektiösen Materials vom Rinde Das Fehlen jeder örtlichen Veränderung an der Impfstelle bei Verwendung schwach virulenten Materials, welches beim Kontrollrind eine tuberkulöse Infiltration an der Impfstelle nebst tuberkulöser Hyperplasie und Verkäsung der zugehörigen Lymphdrüsen erzeugte; die erheblich geringgradigeren lokalen Veränderungen an der Impfstelle und das Fehlen irgend welcher tuberkulöser Veränderungen an den zugehörigen Lymphdrüsen bei Verwendung stärker virulenten Materials, welches beim Kontrollrind eine ausgedehnte, von Geschwürsbildung begleitete tuberkulöse Infiltration an der Impfstelle nebst umfangreicher tuberkulöser Hyperplasie und Verkäsung der zugehörigen Lymphdrüsen und embolischer Tuberkulose der Lunge, Leber und Milz verursachte; das Fehlen irgend welcher tuberkulöser Veränderungen an den zugehörigen Lymphdrüsen selbst in dem Falle, in welchem ein tuberkulöser käsiger Absceß an der Impfstelle und ein einzelner embolischer Tuberkel in der Niere bei Verwendung stärker virulenten Materials entstanden war, welches beim Kontrollrind außer einer umfangreichen tuberkulösen Infiltration an der Impfstelle eine ausgedehnte tuberkulöse Hyperplasie und Verkäsung der zugehörigen Lymphdrüsen nebst embolischer Tuberkulose der Lunge und Milz bewirkt hatte;

bei intravenöser Einverleibung virulenter Tuberkelbacillen: Der geringe Grad der auf die Injektion folgenden Allgemeinerkrankung und die nach kurzer Zeit eintretende wesentliche Besserung in dem Befinden des vorbehandelten Rindes, welches dann erst  $5\frac{3}{4}$  Monate später im Anschluß an eine akute, wahrscheinlich auf tuberkulöser Basis beruhende Gehirnerkrankung geschlachtet wurde, während beide Kontrollrinder nach Injektion der gleichen Menge virulenter Tuberkelbacillen in 28 bzw. 38 Tagen an akuter Miliartuberkulose zu Grunde gingen.

Die Widerstandsfähigkeit der vorbehandelten Rinder war jedoch keine absolute, da bei genügend starker Dosierung beide Rinder an den Folgen der tuberkulösen Infektion erkrankten. Immerhin aber bestätigten die Versuche, daß es möglich ist, Rindern durch Vorbehandlung mit abgeschwächten Rinder- oder Menschentuberkelbacillen einen gewissen Grad von Widerstandskraft gegen künstliche Tuberkuloseinfektionen zu verleihen.

Nachdem inzwischen noch von zahlreichen anderen Autoren (Hutyrá, Vallée, R. Koch und Schütz, v. Baumgarten u. a.) diese Frage experimentell geprüft worden ist, muß es als feststehende Tatsache anerkannt werden, daß die Widerstandskraft junger Rinder gegen eine künstliche (subkutane oder intravenöse) Infektion mit virulentem tuberkulösen Material durch Vorbehandlung mit Tuberkelbacillen der verschiedensten Herkunft nicht unwesentlich erhöht werden kann. Fraglich ist es nur, ob der so erlangte Impfschutz von genügender Stärke und hinreichender Dauer ist, um auch bei der zwar langsamen, aber darum nicht minder gefährlichen natürlichen Infektion wirksam zu bleiben.

v. Behring hat als Erster diese Frage rückhaltslos bejaht und bereits Ende 1903 einen Impfstoff (menschliche Tuberkelbacillen von bestimmter Herkunft in Pulverform, später *Bovovaccin* genannt) nebst genauer Gebrauchsanweisung für die Schutzimpfung der Kälber in der Praxis zur Verfügung gestellt. Obwohl nun inzwischen bereits viele Tausende von Kälbern diesem Schutzimpfungsverfahren unterworfen worden sind, dürfte es doch im gegenwärtigen Augenblicke kaum möglich sein, bei der Kürze der zur Beobachtung der Impflinge bisher zur Verfügung stehenden Zeit (im günstigsten Falle 3—3 $\frac{1}{2}$  Jahre) ein ab-

schließendes Urteil über den Wert dieses Schutzimpfungsverfahrens in der Praxis abzugeben. Das gilt in erster Linie für die Verwertung vermeintlicher günstiger Impfergebnisse bei solchen Tieren, die noch nicht die Feuerprobe mehrjähriger Stallhaltung bei entsprechend intensiver wirtschaftlicher Ausnutzung bestanden haben. Anders liegen die Verhältnisse dort, wo innerhalb der wenn auch noch verhältnismäßig kurzen Beobachtungszeit bereits auffallende Mißerfolge hervorgetreten sind, welche mit den zuversichtlichen Hoffnungen des Erfinders nicht im Einklang stehen. Hier ist es Pflicht des Beobachters, rechtzeitig auf die zu befürchtenden Fehlschläge hinzuweisen, um zu verhindern, daß auf die allzu hoch gespannten Erwartungen unvermittelt eine allgemeine Enttäuschung folgt, die leicht dazu führen kann, ein Verfahren völlig zu mißkreditieren, welches unter gewissen Voraussetzungen doch noch Gutes zu leisten vermag. Diese Erwägungen haben uns bestimmt, im nachfolgenden, lediglich gestützt auf unser eigenes Beobachtungsmaterial, eine Beantwortung der Frage zu versuchen, ob bezüglich des v. Behring'schen Tuberkuloseschutzimpfungsverfahrens Mißerfolge im obigen Sinne heute bereits vorliegen.

Es standen uns zwei Wege offen, um ein Urteil über die Wirksamkeit der v. Behring'schen Tuberkuloseschutzimpfung gegenüber der natürlichen Infektion zu gewinnen:

1) der durch die Praxis selbst gewiesene Weg der Kontrolle möglichst zahlreicher, sorgfältig ausgewählter und unter den verschiedenartigsten Verhältnissen in der Praxis aufgezogener Impflinge vermittelt der Tuberkulinprobe sowie durch Sektion bzw. Schlachtung;

2) der an sich zwar kürzere, aber kostspieligere Weg des verstärkten natürlichen Infektionsversuches durch Verbringung einer Anzahl vorschriftsmäßig immunisierter und nicht immunisierter Rinder in Verhältnisse, unter denen sie wiederholt und jedesmal eine hinreichend lange Zeit hindurch in verstärktem Maße der natürlichen Tuberkuloseansteckung ausgesetzt werden, und Abschachtung des gesamten Bestandes nach einer nicht zu kurz bemessenen Beobachtungszeit.

Der letztgenannte Prüfungsmodus schien von vornherein die meisten Aussichten auf schnelle Erlangung eines einigermaßen einwandfreien Ergebnisses zu bieten. Wir haben daher alsbald nach Ausführung der ersten Schutzimpfungen in der Praxis im Jahre 1904 Vorkehrungen für die Durchführung eines verstärkten natürlichen Infektionsversuches getroffen. Der Versuch selbst wurde im Frühjahr 1905 im Veterinärinstitut der Universität Leipzig begonnen und im Frühjahr 1907 beendet. Da dieser jetzt abgeschlossene Versuch ein hinreichend klares und eindeutiges Ergebnis gehabt hat, so will ich die Mitteilung dieses Versuches als ersten Teil meines Berichtes bringen und die Ergebnisse der seit 3 Jahren durchgeführten Kontrolle der Impflinge in der Praxis als zweiten Teil folgen lassen.

Bevor ich meinen Bericht beginne, sei noch eine kurze Bemerkung über Taurumanimpfungen eingeschaltet.

Bekanntlich wird seit Herbst 1905 von den Höchster Farbwerken ein ebenfalls aus virulenten Menschentuberkelbacillen bestehender, nach den Angaben von R. Koch, Schütz, Neufeld und Mießner hergestellter Impfstoff, Tauruman, abgegeben, welcher sich von dem

Bovovaccin v. Behrings dadurch unterscheidet, daß er gleich in gebrauchsfertigem Zustande zur Versendung kommt und bei einmaliger intravenöser Einspritzung die gleiche Wirkung entfalten soll wie der Impfstoff v. Behrings bei zweimaliger Anwendung. Wir haben alsbald nach Ausgabe des neuen Impfstoffes begonnen, Rinder mit demselben zu immunisieren. Wesentliche Unterschiede in dem Verhalten der mit Bovovaccin und mit Tauruman geschutzgeimpften Rinder haben wir, soweit ein Vergleich bei der nur kleinen Zahl von Taurumanimpfungen zur Zeit überhaupt möglich ist, nicht feststellen können. Auch in der Fachliteratur liegen erst spärliche Veröffentlichungen über Taurumanimpfungen vor, die meines Erachtens keine Tatsachen enthalten, welche die Annahme rechtfertigen könnten, daß die Schutzimpfung mit Tauruman bei der praktischen Tuberkulosebekämpfung der Rinder unter sonst gleichen Voraussetzungen der Tuberkuloseschutzimpfung v. Behrings überlegen sei. Bei der außerordentlich nahen inneren Verwandtschaft beider Methoden glaube ich daher bis zum Beweise des Gegenteils annehmen zu dürfen, daß die aus meinen Versuchen sich ergebenden allgemeinen Leitsätze über den Wert der Tuberkuloseschutzimpfung für die praktische Bekämpfung der Rindertuberkulose auch für die Schutzimpfung mit Tauruman zutreffend sind.

Nach dieser kleinen Abschweifung wende ich mich dem ersten Teile meines Berichtes zu.

#### I.

### Wie verhalten sich die nach dem v. Behringschen Tuberkulose-schutzimpfungsverfahren immunisierten Rinder gegenüber einer wiederholten verstärkten natürlichen Infektion?

Wie schon erwähnt, sollte die verstärkte natürliche Infektion dadurch bewirkt werden, daß immunisierte und nicht immunisierte Rinder wiederholt und längere Zeit hindurch mit solchen Rindern in möglichst nahe Berührung gebracht würden, die entweder von vornherein mit offenen Tuberkuloseformen behaftet oder bei denen durch Einimpfung tuberkulösen Materials unter die Haut künstlich tuberkulöse Abscesse erzeugt worden waren. Wie sich der durch 2 Jahre fortgeführte Versuch im einzelnen gestaltet hat, ist aus nachfolgenden Daten zu ersehen.

Zu dem verstärkten natürlichen Infektionsversuche standen 4 immunisierte Rinder und 3 nicht immunisierte Kontrollrinder zur Verfügung.

Die 4 immunisierten Rinder führten die Bezeichnung: Rd. 17, Rd. 18, Rd. 20 u. Rd. 23.

Rd. 17: Gelbrot, männlich, ohne Abzeichen, von Angler Kuh im Rassestall des Landwirtschaftlichen Institutes Ende Dezember 1903 geboren, mit roher Molkereimilch aufgezogen; reagiert bei der am 3. März 1904 vorgenommenen Tuberkulinprobe positiv, wird am 26. März 1904 im Alter von 12 Wochen zum ersten Male geschutzgeimpft<sup>1)</sup>

1) Die Schutzimpfung dieses und der folgenden Versuchstiere ist, sofern nicht Abweichungen ausdrücklich angegeben sind, genau nach der auch heute noch gültigen, vom Behringwerk-Marburg herausgegebenen Gebrauchsanweisung mit stets frisch bezogenem Impfstoff ausgeführt. Auch die Bezeichnung der Reaktionsgrade entspricht genau den in der Anweisung enthaltenen Angaben:

0 = Ausbleiben jeder Reaktion,

I = Kurzdauernde und mäßig hohe Fieberreaktion,

II = 2—4 Tage anhaltende Fieberreaktion,

III = 5—8 Tage anhaltende Reaktion, verbunden mit anderweitigen Krankheitserscheinungen.

(Reaktionsgrad II) und Anfang April 1904 zur weiteren Aufzucht nach Rittergut Mühlbach (Jungviehweide) übergeführt; zweite Schutzimpfung in Mühlbach am 16. Juli 1904 (Reaktionsgrad I). Das Tier ist dauernd gesund und entwickelt sich durchaus normal. Es wird am 1. Sept. 1904 kastriert. Anfangs Mai 1905 wird das Rind für den verstärkten natürlichen Infektionsversuch wieder nach Leipzig zurückgebracht. Es ist zu Beginn des Versuches 1 Jahr 4 Monate alt und wiegt 280 kg. Tuberkulinprobe am 12. Mai 1905 negativ.

Rd. 18: Rotbunt, männlich, von Voigtländer Kuh im Veterinärinstitute am 13. Febr. 1904 geboren, saugt an der Mutter, reagiert bei der am 3. März 1904 vorgenommenen Tuberkulinprobe nicht; wird am 26. März 1904 im Alter von 6 Wochen zum ersten Male schutzgeimpft (Reaktionsgrad 0) und Anfang April 1904 zur weiteren Aufzucht nach Rittergut Mühlbach (Jungviehweide) übergeführt; zweite Schutzimpfung in Mühlbach am 16. Juli 1904 (Reaktionsgrad I). Das Tier ist dauernd gesund und entwickelt sich durchaus normal. Es wird am 1. Sept. 1904 kastriert. Anfang Mai 1905 wird das Rind für den verstärkten Versuch wieder nach Leipzig zurückgebracht. Es ist 1 Jahr 3 Monate alt und wiegt 210 kg. Tuberkulinprobe am 12. Mai 1905 negativ.

Rd. 20: Rotbunt, weiblich, von ostfriesischer Kuh auf Rittergut Mühlbach Mitte Dezember 1903 geboren, saugt an der Mutter; wird am 14. Juni 1904 im Alter von 5 $\frac{1}{2}$  Monaten zum ersten Male und am 7. Dez. 1904 im Alter von 11 $\frac{1}{2}$  Monaten zum zweiten Male schutzgeimpft (Reaktionsgrad II). Das Tier ist dauernd gesund und entwickelt sich durchaus normal. Anfang Mai 1905 wird das Rind für den verstärkten Infektionsversuch nach Leipzig übergeführt. Es ist 1 Jahr 4 Monate alt und wiegt 240 kg. Tuberkulinprobe am 12. Mai 1905 negativ.

Rd. 23: Schwarzbunt, weiblich, von ostfriesischer Kuh Anfang Dezember 1903 auf dem Versuchsgute I geboren, mit roher Vollmilch bzw. abgekochter Magermilch aufgezogen; wird am 4. Jan. 1904 im Alter von 4 Wochen zum ersten Male (Reaktionsgrad I), am 7. Mai 1904 zum zweiten Male (Reaktionsgrad 0) schutzgeimpft; am 1. Juni 1904 vom Veterinärinstitute angekauft und zur weiteren Aufzucht direkt nach Rittergut Mühlbach (Jungviehweide) übergeführt. Das Tier ist dauernd gesund und entwickelt sich völlig normal. Anfang Mai 1905 wird das Rind für den verstärkten Infektionsversuch nach Leipzig übergeführt. Es ist 1 Jahr 5 Monate alt und wiegt 285 kg. Tuberkulinprobe am 12. Mai 1905 negativ.

Aus Vorstehendem geht hervor, daß außer den für die gegenwärtige Untersuchung belanglosen Rasseunterschieden noch insofern Unterschiede bei den einzelnen immunisierten Versuchsrindern bestanden, als die erste Schutzimpfung bei zweien (Rd. 18 und Rd. 23) in dem jugendlichen Alter von 4 bzw. 6 Wochen, bei einem (Rd. 17) im Alter von 3 Monaten und bei einem (Rd. 20) in dem, wie wir jetzt wissen, schon etwas reichlich späten Alter von 5 $\frac{1}{2}$  Monaten zur Ausführung gelangte. Bei einem Versuchstiere (Rd. 18) war eine vor der Schutzimpfung vorgenommene Tuberkulinprobe negativ, bei einem anderen (Rd. 17) positiv ausgefallen. Die beiden übrigen (Rd. 20 und Rd. 23) waren nach dem in der Praxis allgemein üblichen Verfahren ohne vorherige Tuberkulinprobe immunisiert. Nach dem bei der Schutzimpfung festgestellten Reaktionsgrade besteht bei dem erst mit 5 $\frac{1}{2}$  Monaten erstmalig schutzgeimpften Rd. 20 der Verdacht, daß sich bei ihm zur Zeit der Schutzimpfung bereits eine wenn auch vielleicht geringgradige Herderkrankung etabliert hatte, während bei Rd. 23 dieser Verdacht nicht besteht.

Nach den bis jetzt vorliegenden Erfahrungen dürfte von den gewählten Versuchsanordnungen nur die bei Rd. 20 zur Anwendung gelangte (Erstimpfung mit 5 $\frac{1}{2}$ , Zweitimpfung mit 11 $\frac{1}{2}$  Monaten) zu beanstanden sein. Es kam uns aber seinerzeit darauf an, festzustellen, ob derartige nach den ersten Mitteilungen v. Behrings nicht absolut zu verwerfende Abweichungen von dem Normalverfahren erhebliche Unterschiede in der Stärke des Impfschutzes zur Folge hätten.

Die 3 nicht immunisierten Rinder trugen die Bezeichnung: Rd. 31, Rd. 32 und Rd. 33.

Rd. 31: Rotbunt, männlich (kastriert), Voigtländer-Simmentaler Kreuzung; von Bezirkstierarzt Röbert-Annaberg für das Veterinärinstitut gekauft und Anfang Mai

1905 nach Leipzig übergeführt; 1 Jahr 3 Monate alt, 285 kg schwer; Tuberkulinprobe am 5. Mai 1905 negativ.

Rd. 32: Rotbunt, weiblich, Voigtländer-Simmentaler Kreuzung; von Bezirkstierarzt Robert-Annaberg für das Veterinärinstitut gekauft und Anfang Mai 1905 nach Leipzig übergeführt; 1 Jahr 3 Monate alt, 260 kg schwer; Tuberkulinprobe am 5. Mai 1905 negativ.

Rd. 33: Rotbunt, weiblich, Voigtländer-Simmentaler Kreuzung; von Bezirkstierarzt Robert-Annaberg für das Veterinärinstitut gekauft und Anfang Mai 1905 nach Leipzig übergeführt; 1 Jahr 2 Monate alt, 200 kg schwer; Tuberkulinprobe am 5. Mai 1905 negativ.

Der verstärkte Infektionsversuch gelangte nun in der Weise zur Durchführung, daß aus den 4 immunisierten Rindern und den 3 nicht immunisierten Kontrollrindern zunächst zwei Gruppen gebildet wurden, nämlich

Gruppe I: Bestehend aus den beiden immunisierten Rindern 18 und 23 und dem Kontrollrinde 32;

Gruppe II: Bestehend aus den beiden immunisierten Rindern 17 und 20 und den Kontrollrindern 31 und 33.

Jede Gruppe wurde in einem besonderen Stalle untergebracht, da ein ausreichend großer gemeinsamer Stall nicht zur Verfügung stand.

Es gelangten insgesamt drei Infektionsversuche zur Durchführung. Der erste dauerte von Anfang Mai bis Ende November 1905, der zweite von Ende März bis Mitte Dezember 1906, der dritte von Mitte Dezember 1906 bis Ende Februar 1907. In der Zeit zwischen dem ersten und zweiten Infektionsversuche waren die Versuchstiere der Kostenersparnis wegen in einem für diesen Zweck besonders vorgerichteten Stalle des Rittergutes Mühlbach untergebracht.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Hämolyse und Baktercidie des embryonalen Hühnerblutes.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.  
Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer.]

Von **Marie Bywosch.**

Neben den vielen Fragen, die die hämolytischen und bakteriziden Eigenschaften des Serums angeregt haben, bleibt die Frage von der allmählichen Entstehung dieser Eigenschaften im Organismus, die Entwicklungsgeschichte derselben so ziemlich im Hintergrunde, und doch dürften Untersuchungen auf diesem Gebiete wohl Interesse beanspruchen. In der sonst so reichen Literatur über die bakteriziden und hämolytischen Sera finden wir nur wenige Arbeiten, die sich mit dieser Frage befassen. Wir lassen sie hier in kurzer Zusammenfassung folgen.

Resinelli<sup>1)</sup> fand, daß das menschliche fötale Serum fremde Blutkörperchen in merklich geringerem Grade löst als das Serum der Mutter.

Sachs<sup>2)</sup> zitiert eine nicht publizierte Untersuchung von Dr. Marschall, aus der sich herausstellt, daß die im Serum erwachsener Menschen stets vorhandenen Hämolsine für Meerschweinchenblut im fötalen Leben

1) zit. nach Sachs.

2) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV, 1903.

fehlen. Halban und Landsteiner<sup>1)</sup> ſtellten feſt, daß das Serum der Mutter in ſtärkerem Grade löſt als das kindliche; ebenſo verhält es ſich Choleravibrionen gegenüber: das mütterliche Serum zeigte eine deutlich ſtärkere bakterizide Wirkung. Sachs<sup>2)</sup>, der ſeine Unterſuchungen hauptſächlich an Föten von Rindern und Schweinen, ſowie neugeborenen Meerschweinchen angeſtellt hat, faßt ſeine Ergebnisse im folgenden Satze zuſammen: ich ſelbſt fand in den unterſuchten Fällen ein vollſtändiges oder faſt vollſtändiges Fehlen der normalen Hämolyſine im Serum von Föten oder Neugeborenen.

Wie intereſſant dieſe Unterſuchungen auch ſeien, ſo ſind ſie doch nicht genügend, um die Frage von der allmählichen Ausbildung der Schutzſtoffe im Organismus zu beantworten. Es fehlt ihnen vor allen Dingen eine kontinuierliche Reihe von Daten; außerdem wurden ſie alle an Föten oder Neugeborenen von Säugetieren vorgenommen, wo doch durch den phyſiologiſchen Zuſammenhang von Mutter und Kind durch den Placentarkreislauf das eventuelle Uebertreten der mütterlichen Schutzſtoffe in den kindlichen Organismus nicht ausgeſchloſſen iſt. Die Arbeiten von Bertino<sup>3)</sup>, Schütz<sup>4)</sup>, Prettnner<sup>5)</sup>, Ehrlich<sup>6)</sup> gehen darauf aus, daß ſowohl die künstliche wie auch die natürliche Immunität durch den placentaren Kreislauf übertragen werden können. Auch mit der Muttermilch iſt eine Uebertragung von Schutzſtoffen (Agglutininen) auf das Kind nicht ausgeſchloſſen<sup>7)</sup>.

In Anbetracht dieſer Verhältnisse ſchien es uns ratsamer, um die Entſtehung der natürlichen Antikörper im Organismus zu verfolgen, die Verſuche an Hühnerembryonen auszuführen, da hier eine phyſiologiſche Beeinflußung ſeitens des mütterlichen Organismus wie in embryonalen ſo auch in ſpäteren Stadien, etwa durch Ernährung, ausgeſchloſſen iſt; andererseits iſt es ja hier viel leichter, eine kontinuierliche Unterſuchungsreihe anzustellen, als bei Säugetieren.

Die Eier, die wir zu unſeren Unterſuchungen verwendet haben, wurden bei 39°—40½° C im Brutſchrank gehalten, und gemäß den Vorſchriften der künstlichen Bebrütung zweimal täglich gekühlt, gewendet, und vor dem Hineinſtellen in den Brutſchrank mit lauwarmem Waſſer beſpritzt<sup>8)</sup>.

Bei der Blutentnahme ſtießen wir auf große Schwierigkeiten, beſonders in der erſten Hälfte der Entwicklungsperiode. Da das Blut aus den Arterien des Dotterkreislaufes entnommen werden mußte und die Gefäße vor 14—16 Tagen ſehr fein ſind, auch hier bald das Herz verſagt, ſo waren wir genötigt, große Mengen von Eiern zu verbrauchen, um knapp das zu unſeren Verſuchen nötige Serum zu bekommen. Das Ei wurde auf ein warmes Schälchen, das auf einem warmen Tiſche ſtand, gebracht, mit der Spitze einer Pinzette die Schale recht vorſichtig angeſchlagen, ein Stück derſelben, ſowie der darunter liegenden Haut entfernt und die pulſierende, dunkle Blut führende Arterie an einer

1) Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 12.

2) loc. cit.

3) Arch. ital. di Ginec. Vol. XII. No. 3.

4) Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 40.

5) Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1905. Bd. I.

6) Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. XII. 1892.

7) Schuhmacher, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 37.

8) Es ſei mir hier geſtattet, Herrn Inſpektor Weſemann (Waldgarten b. Königsberg) ſowohl für die Ueberlaſſung des Brutſchranks wie auch für die Verſchaffung des nötigen Materials meinen Dank auszusprechen.

Stelle unterbunden. Das eine Ende wurde abgeschnitten, das Gefäß mit einer feinen Scheere vom Dotter freigelegt, dann ein Uhrglasschälchen unter das Gefäß geschoben und das letztere angeschnitten. Das Blut wurde vermittelst Kapillaren aufgefangen und, nachdem auf diese Weise Material aus vielen Eiern entnommen war, zentrifugiert. Das erhaltene Serum wurde dann zu Versuchen über Hämolyse verwendet. Die Blutart, auf die wir das embryonale Hühnerserum haben einwirken lassen, war Kaninchenblut, auf das bekanntlich Serum erwachsener Hühner hämolytisch wirkt. Wir stellten fest, daß die geringste Serummenge eines erwachsenen Huhnes, die nötig ist, um Hämolyse in 1 ccm 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung hervorzurufen, 0,08 ccm ist. Auch bei unseren Versuchen verwendeten wir eine 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung. Die Blutkörperchen wurden zuerst zweimal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen. Da, wie schon oben angedeutet wurde, wir sehr sparsam mit dem erhaltenen Material umgehen mußten, so hielten wir es für geeignet, anstatt mit der Menge des Serums, mit der Menge der seiner Wirkung unterworfenen Blutkörperchen zu variieren. Die Reagenzgläschen wurden mit physiologischer NaCl-Lösung je auf 1 ccm gefüllt, in den Brutschrank bei 37° gebracht und nach 2 Stunden untersucht. Die Untersuchungen ergaben folgende Resultate:

Tabelle I.

Tag der Bebrütung	Menge des 5-proz. Kaninchenblutes ccm	Menge des zugefügten Embryonen-Serums ccm	Lösung
12	1	0,1	0
12	0,5	0,1	0
12	0,1	0,1	0
14	0,5	0,1	0
14	0,2	0,1	0
17	0,5	0,1	0
17	0,2	0,1	0
17	1 Tropfen	0,05	0
19	0,5	0,1	0
19	0,2	0,1	0
21	0,5	0,1	0
21	0,2	0,1	0
Nach dem Ausschlüpfen		Hühnerserum	
5. Tag	0,2	0,1	komplett
5. „	0,5	0,1	fast komplett

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß das Serum des Hühnerembryo bei dem Verhältnis des Serums zu Kaninchenblutkörperchen, bei welchem Hämolyse beim erwachsenen Huhne stattfindet, die letzteren nicht löst.

Es könnte aber doch vielleicht Hämolyse eintreten, wenn wir das Verhältnis des Embryonenserums zu den Blutkörperchen steigern würden. Da wir aber nur über geringe Mengen des betreffenden Serums verfügen konnten, so mußten wir diese Reihe von Versuchen im hängenden Tropfen ausführen: zu je 1 Tropfen 5-proz. Kaninchenblutlösung wurden 1—8 Tropfen embryonales Serum zugesetzt; die Präparate auf  $\frac{1}{2}$ —2 Stunden in den Brutschrank gebracht und dann mikroskopisch untersucht. Es stellte sich heraus, daß vom 14. bis 21. Bebrütungstage selbst unter diesen Umständen keine Spur von Hämolyse nachzuweisen war. Bei Kontrollversuchen mit dem Serum erwachsener Hühner trat die Hämolyse bereits nach  $\frac{1}{2}$  Stunde Aufenthalt im Brutschrank ein: die Blut-



körperchen erschienen größer, aufgequollen, dann blaß und durchsichtig wie Schatten.

Da uns die angeführten Versuche bewiesen haben, daß Serum der embryonalen Hühnchen keine hämolytische Eigenschaft für Kaninchenblutkörperchen besitzt, mußte die Frage erörtert werden, welcher der beiden, die Hämolyse bewirkenden Komponenten, Ambozeptor resp. Komplement, hier fehlt. Halban und Landsteiner suchten die Frage dadurch zu entscheiden, daß sie zum kindlichen Serum inaktiviertes mütterliches hinzugaben. Aus der nun eintretenden Verstärkung der hämolytischen Wirkungen schlossen sie auf den Mangel an Ambozeptor im kindlichen Serum. Auch Sachs, welcher im fötalen Schweine- und Rinderserum ein Fehlen von Hämolsin gefunden hatte, konnte durch Zugabe von inaktiviertem Serum erwachsener Tiere Hämolyse hervorrufen.

Die von uns in dieser Richtung angestellten Versuche ergaben ein negatives Resultat. Wir lassen dieselben hier folgen:

Tabelle II.

Tag der Bebrütung	Menge der zugefügten Blutkörperchen ccm	Inakt. Serum erwachs. Hühner ccm	Embryon-Serum ccm	Lösung
14	0,05	0,05	0,2	0 (spektroskopisch Hämolyse nicht nachweisbar)
17	1,0	0,1	0,1	0
17	0,5	0,1	0,1	0
17	1 Tropfen	1 Tropfen	0,1	0
19	0,5	0,1	0,1	0
19	0,05	0,05	0,3	0
21	0,5	0,1	0,1	0
21	0,5	0,1	0,2	0
Nach dem Ausschlüpfen 5. Tag	0,5	0,1	0,1	0 komplett, stärker als bei dem Versuche 0,5 Kaninchenblut mit 0,1 embryon. Serum

Auch hier untersuchten wir die hämolytische Kraft des embryonalen Serums mit dem zugefügten inaktivierten Serum im hängenden Tropfen, indem wir zu 1 Tropfen Blut und 1 Tropfen inaktiviertem Serum erwachsener Hühner je 2, 4, 5 Tropfen frischen embryonalen Serums hinzufügten. Hämolyse blieb aus, die Blutkörperchen waren stets intakt. Diese Versuche zeigen, daß die entsprechenden hämolytischen Komplemente dem Serum des embryonalen Hühnchens mangeln.

In einem Versuche suchten wir das mögliche Vorhandensein von Ambozeptor im embryonalen Hühnerserum dadurch festzustellen, daß wir dem Gemisch von Kaninchenblutkörperchen und embryonalem Serum die minimale Menge des an sich nicht lösenden Serums erwachsener Hühner hinzufügten. Nach Sachs kann man „inaktiviertes Hundeserum durch eine minimale Menge aktiven Hundeserums so aktivieren, daß eine vollständige Hämolyse durch das Zusammenwirken beider an sich unwirksamen Komponenten resultiert“. Es gelingt in der Tat, inaktiviertes Hühnerserum durch 0,06 aktives, das an und für sich noch keine Hämolyse hervorruft, zu aktivieren.

Wir nahmen also: 1 ccm Kaninchenblutkörper + 0,1 embryonalem Serum + 0,06 Hühnerserum, Lösung 0. Wir müssen daraus folgern, daß dem embryonalen Hühnerserum auch der für Kaninchenblut wirksame hämolytische Ambozeptor fehlt.

Vergleichen wir unsere Ergebnisse mit denjenigen der oben erwähnten Autoren, so finden wir in Bezug auf die Hämolyse einige Differenzen. Wir haben nicht nur einen Mangel an Ambozeptor für Kaninchenblut während des embryonalen Lebens gefunden, sondern auch ein Fehlen der entsprechenden Komplemente, während Resinelli im fötalen Menschenblut, wenn auch in geringer Menge, beide Lysinfaktoren vorgefunden, und Sachs, neben dem Fehlen von Ambozeptoren, eine, wenn auch geringe Menge des entsprechenden Komplements bei Föten von Rindern für Meerschweinchenblut nachgewiesen hat.

Da uns, dank der Liebeshwürdigkeit von Herrn Tierarzt Dr. W. Pitt, die Gelegenheit geboten wurde, Versuche mit fötalem Rinder- und Schweineserum anzustellen, so hielten wir es für angemessen, dieselben, wenn auch in beschränkter Zahl, in den Kreis unserer Untersuchung zu ziehen.

Die Ergebnisse stimmen mit denen von Sachs überein; nebenbei zeigte es sich, daß die hämolytische Fähigkeit des fötalen Serums entsprechend dem zunehmenden Alter bedeutend steigt.

Tabelle III.

Alter des Embryo (Rind)	Menge der 5-proz. Kaninch.-blutaufschw. ccm	Menge des embryon. Serums ccm	Menge des zugefügten inakt. Serums erw. Rinder resp. Schweine ccm	Lösung
5—6 Monate	1	0,5	—	0
	1	0,25	—	0
	1	0,1	—	0
	1	0,5	0,3	fast komplett
	1	0,25	0,3	stark
	1	0,1	0,3	Spur
	1	0,05	0,3	0
6 Monate	1	0,5	—	0
	1	0,25	—	0
	1	0,1	—	0
	1	0,5	0,3	komplett
	1	0,25	0,3	fast komplett
	1	0,1	0,3	Spur
8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Monate	1	0,5	—	fast komplett
	1	0,25	—	mit starkem Bodensatz
2 Mon. (Schwein)	1	0,5	—	0
	1	0,25	—	0
	1	0,5	0,3	Spur
	1	0,25	0,3	Spürchen
	1	0,1	0,3	0
	1	0,025	0,3	0
2—3 Monate	1	0,5	—	0
	1	0,25	—	0
	1	0,1	—	0
	1	0,025	—	0

Tabelle IV.

	Menge der 5-proz. Kaninchen- blutaufsch.	Menge des zugefügten Serums	Lösung
	ccm	ccm	
Erwachsenes Rind	1	0,5	komplett
	1	0,25	komplett
	1	0,1	stark
	1	0,025	Spur
Erwachsenes Schwein	1	0,5	Lösung mit Bodensatz
	1	0,25	Lösung mit Bodensatz
	1	0,1	0
	1	0,025	0

Parallel mit den Versuchen über Hämolyse wurde das embryonale Serum des Hühnchens auf seine bakterizide sowie bakteriolytische Fähigkeit untersucht. Wir wendeten zur Prüfung der Bakterizidie das Plattenverfahren an. Von *Bact. coli* wurde eine 18-stündige Kultur auf Agar genommen, eine entsprechende Verdünnung hergestellt (eine Oese in 2 ccm physiologischer NaCl-Lösung, davon eine Oese in 1 ccm Serum). Die erste Platte wurde sofort gegossen, die andern nach 1/2, 1, 3, 5, 7, 24 Stunden Aufenthalt des Serums im Brutschrank. Gleichzeitig beobachteten wir die Bakteriolyse im hängenden Tropfen und in gefärbten Präparaten.

Tabelle V.

Tag der Bebrütung	Aussaat	1/2	1	2	3	4	5	6	7	24
12	1370	—	872	—	3886	—	∞	—	∞	∞
12	1124	—	875	—	4820	—	Tausende	—	∞	∞
12	1224	—	839	—	4763	—	∞	—	∞	∞
14	1122	—	1080	—	36	984	4760	∞	∞	∞
14	4284	68	—	92	2	—	272	772	—	∞
17	420	—	185	—	44	—	108	—	3910	∞
18	748	384	—	524	136	—	380	3060	∞	∞
19	1054	—	476	—	1836	—	∞	∞	∞	∞
19	1384	—	1020	—	2742	—	∞	—	∞	∞
Bakterizidie des erwachsenen Huhnes										
	306	96	—	0	—	—	0	0	—	7
	1466	—	4	—	0	—	0	—	0	0

Bakteriolyse wurde am 14., 17. und 18. Tage beobachtet. Unter intakten befanden sich zu Granula umgewandelte Bakterien, die Bakteriolyse war also, wenn auch schwach, ausgesprochen.

Betrachten wir die Ergebnisse der bakteriziden Versuche, so sehen wir, daß die Bakterizidie des embryonalen Serums im Vergleich zu dem Serum erwachsener Hühner sehr gering ist. In der Literatur haben wir außer der kurzen Notiz bei Halban und Landsteiner<sup>1)</sup> keine diese Frage betreffenden Angaben gefunden, so daß wir keine Vergleiche anstellen konnten. In unseren Versuchen sehen wir zwar eine Abnahme der Kolonienzahl in der 1.—3. Stunde nach der Aussaat, eine Abnahme, die am 14. Tage sogar ziemlich deutlich hervortritt, die aber in den späteren Bebrütungstagen schwächer zu werden scheint. Würde nun

1) loc. cit.

die bakterizide Fähigkeit des Serums in diesem Falle wirklich von der Bildung der entsprechenden Stoffe im Organismus selbst bedingt sein, so wäre die Abnahme der Bakterizidie in den späteren Tagen schwer zu erklären. Es wäre daran zu denken, ob nicht die geringe von uns nachgewiesene Quantität bakteriolytischer Substanzen aus dem Eiweiß resp. Dotter der Eier stammt. (Horowitz<sup>1</sup>) will tatsächlich bakterizide Stoffe im Hühnereiweiß gefunden haben.) Zur Aufklärung dieser Erscheinung müssen entschieden weitere Versuche angestellt werden.

Wenn wir jetzt die Frage aufwerfen, wodurch das Fehlen der hämolytischen und bakteriziden (?) Stoffe im Serum des Hühnerembryo bedingt ist, so wäre zunächst der Gedanke berechtigt, daß es wahrscheinlich im Zusammenhang mit dem Entwicklungszustand derjenigen Organe, welche nach R. Pfeiffer im allgemeinen die Antikörper bilden, wie Milz, Knochenmark und die anderen lymphatischen Apparate im Organismus stehe. Diese Frage könnte vielleicht mit Hilfe histologischer Untersuchungen beantwortet werden.

Allerdings scheint das Auftreten dieser Organe allein noch nicht die Bildung der Antikörper hervorzurufen, es bedarf wahrscheinlich noch eines Reizes. Kreidl und Mandl<sup>2</sup>) konnten bei Ziegenföten durch Einspritzung von Rinderblut in die Placentargefäße hämolytische Sera für die Blutkörperchen des Rindes erzeugen, ohne daß immer das mütterliche Serum ebenfalls diese Eigenschaft besaß. Das weist also darauf hin, daß der Apparat zur Bildung der Antikörper bereits beim Embryo, wenigstens in der letzten fötalen Periode, wie aus den oben erwähnten Versuchen zu ersehen ist, vorhanden sei und in Tätigkeit durch Hinzutreten eines Reizes versetzt werden kann.

Außerdem könnte vielleicht auch der Chemismus der lymphatischen Organe erst allmählich zur vollen Ausbildung gelangen, wie es Halban und Landsteiner anzunehmen scheinen: „daß auch in Bezug auf den chemischen Aufbau der Organismus der Neugeborenen gegenüber dem der Erwachsenen als nicht völlig entwickelt zu betrachten ist.“ Es wäre also zu verfolgen, wann die jungen Tiere die voll ausgebildeten Eigenschaften ihrer Art erhalten und mit welchen anatomisch-physiologischen Veränderungen im Organismus Hand in Hand geht.

Zum Schlusse sei es uns gestattet, Herrn Prof. Dr. Pfeiffer für die lebenswürdige Erlaubnis, in seinem Institute zu arbeiten, wie auch für die mannigfache Anregung und Belehrung den verbindlichsten Dank auszusprechen. Auch den Herrn Dr. Friedberger und Dr. Scheller sind wir zum Danke verpflichtet.

1) Baumgartens. Jahresb. 1903. p. 984—985.  
2) Wien. Klin. Wochenschr. 1904. No. 22.

*Nachdruck verboten.*

## Normale Hirnschubstanz und antirabischer Impfstoff gegen Lyssa.

[Hygienisches Institut der kgl. Universität Sassari.]

Vorläufige Mitteilung.

Von **Claudio Fermi**.

Verschiedene Tatsachen ließen in mir den Verdacht aufkommen, daß ein großer Teil der immunisierenden Kraft des antirabischen Impfstoffes der normalen nervösen Substanz zuzuschreiben sei.

Diese Tatsachen sind folgende:

1) Daß die verschiedenen, bisher beim Menschen angewandten Impfstoffe gegen die Tollwut, obwohl dieselben bisweilen verschiedentlich zubereitet waren, fast dieselben Erfolge hatten. Ich erwähne hier den Pasteurschen, mit durch Austrocknung abgeschwächtem fixen Virus hergestellten Impfstoff; denjenigen von Puscariu, hergestellt durch auf 80—30° erwärmtes fixes Virus; den Högyesschen, der aus stark verdünntem fixen Virus besteht, sowie den von Ferrán, welcher aus der gewöhnlichen Emulsion des frischen fixen Virus besteht.

Auch ich habe bei den Tieren keinen wesentlichen Unterschied in der Impfkraft des fixen Virus gefunden, obwohl ich dasselbe mit Quecksilberverbindungen (Sublimat, Ermophenyl), mit Silberverbindungen (Actol, Kollargol), mit Thymol oder mit Karbolsäure, ja sogar mit Anilinfarben (Methylenblau, Larycith) behandelte.

2) Daß kein wirkliches Wuttoxine existiert. In der Tat ist die leicht toxische Eigenschaft der nervösen Wutsubstanz derjenigen der normalen nervösen Substanz fast gleich. Der Mangel eines Toxins würde übrigens mit der Natur des Virus selbst übereinstimmen.

3) Daß man denselben Grad von Hyperleukocytose, den man im Blute mit nervöser Wutsubstanz behandelten Tieren wahrgenommen hat, auch in den mit normaler Nervensubstanz behandelten beobachtet. Jedoch wäre nach dem heutigen Standpunkte der Wissenschaft die normale Nervensubstanz jeder immunisierenden Kraft gegen die Tollwut beraubt. In der Tat sind die beiden von Babes an zwei durch fixes Virus subkutan infizierten Hunden erzielten positiven Resultate durch die bedeutend zahlreicheren Forschungen von Aujesky, Calabrese, Galavielle und Rimbaud vollständig umgestoßen worden. Aber sowohl die Versuche von Babes wie jene seiner Gegner waren trotz ihrer guten Ausführung nicht geeignet, unsere Frage zu lösen, weil die Verff. aus Mangel an Tieren, welche der subkutanen Infektion gegenüber empfänglich sind, gezwungen waren, ihre Versuche an Tieren vorzunehmen, die auf subduralem und endokularem Wege infiziert waren, in welchem Falle bekanntlich stets selbst der Pasteursche Impfstoff kraftlos ist. Um sich hiervon zu überzeugen, genügt es in der Tat, einen Blick auf die mit diesem Impfstoffe angestellten Immunisierungsversuche zu werfen.

Von 28 Kaninchen und 3 Hunden, die subdural mit Straßenvirus infiziert worden wären, konnte Frisch tatsächlich kein einziges mittels der Pasteurschen Behandlung retten.

Auch Högyes erzielte an 16 Kaninchen und 19 Hunden negative Resultate.

Gleiches Resultat hatten Celli, De Blasi, De Renzi, Kraus, Keller und Clairmont zu verzeichnen. Auch mir gelang es nicht, von 14 Hunden, die mit fixem und mit Straßenvirus subdural infiziert worden waren, einen einzigen zu retten, selbst bei Verlängerung der Pasteurschen Behandlung auf 20—30 Tage.

Mittels der von Babes, Aujesky u. A. befolgten Methode war es folglich unmöglich, die Frage zu lösen. Hingegen war es notwendig, Versuche an einer großen Anzahl von Tieren anzustellen, über deren Empfänglichkeit dem fixen sowie dem Straßenvirus gegenüber auf subkutanem Wege man sicher war. Man mußte die Wirkung der immunisierenden Minimaldosen beider Substanzen vergleichen, die Wirksamkeit der Sera beweisen, die man von Tieren erhalten hatte, welche mit jenen Substanzen geimpft worden waren u. s. w., was ich gerade in meiner Arbeit, die 430 Tiere verlangte, zu tun bestrebt war. Die erhaltenen Resultate sind:

1) Die immunisierende Kraft der Emulsion von frischer, normaler nervöser Substanz war jener der nervösen Wutsubstanz gleich. In der Tat starb von 21 subkutan mit Straßenvirus infizierten, dann mit normaler Nervensubstanz zu 10 Proz. (30 ccm in 15 Tagen) geimpften Ratten keine einzige; es starb vielmehr eine der 4 mit nervöser Wutsubstanz geimpften Ratten. Von den Kontrolltieren hingegen, 18 an der Zahl, gingen alle zu Grunde.

2) Beim Vergleich der immunisierenden Minimaldosis (1 : 10—40 000) findet man keinen nennenswerten Unterschied zwischen den beiden Substanzen. Von 24 Muriden, die mit normaler Nervensubstanz in einer Verdünnung von 1 : 10—20—40 behandelt worden waren, wurden in der Tat 17 gerettet, d. i. 71 Proz., und von anderen 26, die mit wutkranker Nervensubstanz behandelt worden waren, und mit derselben Verdünnung wurden 20 = 77 Proz. gerettet.

3) Sowohl die Hundswut- als auch die normale Nervensubstanz verloren durch das Austrocknen (nur 3 Tage lang nach der Pasteurschen Methode) an ihrer immunisierenden Wirkung gegen die subkutane Infektion mit Straßenvirus.

Da obengenannte Abschwächung stärker für die normale Nervensubstanz war, so hat sich durch das Austrocknen ein merklicher Unterschied zwischen beiden Substanzen erwiesen.

4) Die bei 100°—98° 30 Minuten lang, sowie bei 75° 15 Minuten lang ausgesetzte normale Nervensubstanz wie auch die Wutnervensubstanz verlieren vollständig ihre immunisierende Wirkung der Wutinfektion gegenüber. In der Tat starben 28 mit Straßenvirus infizierte und dann wie gewöhnlich mit demselben behandelte Muriden gleichzeitig mit den Kontrolltieren, ohne auch nur eine Verspätung in der Inkubationsperiode zu zeigen.

5) Die normale Nervensubstanz ebenso wie die Wutsubstanz sind fähig, die Muriden auch durch Ingestion gegen eine nachfolgende subkutane Infektion durch Straßenvirus wie auch durch fixes Virus zu immunisieren. 24 weiße Mäuse wurden mit normaler Nervensubstanz (60 g in 30 Tagen) genährt und dann mit Straßenvirus infiziert. Sie blieben alle am Leben, wie dies der Fall war mit den anderen 9 mit Wutsubstanz genährten Mäusen.

Die Tiere überlebten auch später subkutane Infektionen durch fixes Virus.

6) Die normale Nervensubstanz wie auch die Wutschubstanz behielten nach Behandlung mit Chlorwasserstoff zu 3 Prom. und nach Neutralisierung mit kohlen-saurem Natron noch die Fähigkeit, die Mäuse gegen eine nachfolgende subkutane Infektion durch Straßenvirus durch Ingestion zu immunisieren, aber sie verloren zum Teil diese Fähigkeit gegenüber der Infektion durch fixes Virus.

Während von 10 30 Tage hindurch mit genannter Substanz genährten und dann mit fixem Virus behandelten Mäusen nur 3 = 30 Proz. gerettet wurden, starb von anderen 10, in derselben Weise genährten, aber mit Straßenvirus infizierten Mäusen keine einzige.

7) Die beiden den Muriden auf endorektalem Wege verabreichten Nervensubstanzen verhielten sich in derselben Weise. In der Tat wurde von zwei im ersten Versuche subkutan mit Straßenvirus infizierten, dann auf endorektalem Wege mit 110 ccm einer 10-proz. Emulsion von normaler Nervensubstanz injizierten Ratten keine einzige gerettet, hingegen konnte man eine der beiden auf gleiche Weise mit Wutschubstanz behandelten Ratten retten. Im zweiten Versuche, in welchem an 6 weißen Ratten in 30 Tagen 60 endorektale Einspritzungen zu je 10 ccm, im ganzen 200-300 ccm 10-proz. Emulsion, vorgenommen worden waren, und die dann subkutan mit Straßenvirus infiziert wurden, konnten nur 3 von 6 = 50 Proz. gerettet werden, und zwar sowohl von denen, die mit normaler Nervensubstanz als auch von denen, die mit Wutschubstanz behandelt worden waren.

8) Das Serum von Hunden, die mit Emulsionen von normaler und wutkranker Nervensubstanz immunisiert waren, zeigte dieselbe immunisierende Kraft. Es blieben die subkutan mit fixem Virus infizierten und dann mit den oben erwähnten Seren im Verhältnis von 0,75—2,5 ccm 3 Tage behandelten Mäuse alle am Leben.

Dasselbe Resultat ohne irgend einen Unterschied erzielte man bei Behandlung der Mäuse mit einer Mischung zu gleichen Teilen von Serum und Impfstoff (fixes Virus 10 Proz. + Karbolsäure 1 Proz.).

9) Das 2mal täglich 5 oder 4 Tage hindurch im Verhältnis von  $\frac{1}{4}$  ccm eingespritzte Serum von Hunden, die mit normaler oder wutkranker 10-proz. Nervensubstanz immunisiert worden waren, rettete 1 von 2 Tieren, die mit fixem Virus infiziert waren, nachdem die Behandlung 24—48 Stunden nach der Infektion begonnen worden war.

Die Behandlung blieb jedoch ohne Erfolg, wenn sie 3 Tage nach der Infektion, d. h. 2 Tage vor dem Auftreten der ersten Symptome, vorgenommen wurde.

Dieselben Sera retteten hingegen die Muriden selbst nach 3—6, ja sogar 8 Tagen nach der stattgehabten Infizierung mit Straßenvirus.

10) Die Mischung zu gleichen Teilen von Serum immunisierter Hunde, normaler oder wutkranker Nervensubstanz und mit Karbolsäure versetztem fixen Virus, die 5 Tage lang 2mal täglich im Verhältnis von  $\frac{1}{4}$  ccm eingespritzt wurde, rettete die Tiere, selbst wenn die Behandlung 24 Stunden nach der Infektion begonnen wurde. Begann man hingegen die Behandlung 48 Stunden nach der Infektion, d. h. ungefähr 3 Tage vor dem Auftreten der ersten Symptome, so rettete man 1 von 2 Tieren.

Die Behandlung war hingegen erfolglos, wenn sie 3 Tage nach der Infektion, d. h. 2 Tage vor dem Erscheinen der ersten Symptome, begonnen wurde.

11) Das mit gleichen Teilen von mit Karbolsäure versetzter fixer 10-proz. Virusemulsion vermischte Serum von Kaninchen, die mit nor-

maler und wutkranker Nervensubstanz immunisiert worden waren, rettete einige Tiere, selbst wenn die Behandlung 72 Stunden nach der erfolgten Infektion begonnen wurde.

12) Das Serum von Hunden, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert worden waren, war fähig gerade so wie jenes von Hunden, die mit Wutsubstanz immunisiert worden waren, das fixe Virus *in vitro* zu neutralisieren.

13) Der zum Vergleich angewandte Testikelsaft, der wie die Nervensubstanz reich an Lecithin ist, besitzt nicht die geringste Impfwirkung gegenüber der Tollwut. Es wurden 20 mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten 15 Tage hindurch mit karbolsäurehaltiger 10-proz. Emulsion aus den Testikeln eines gesunden Schafes behandelt. Sämtliche Tiere, auch die Kontrolltiere, gingen ein.

14) Das Serum besitzt in weit geringeren Dosen als der Impfstoff eine schnellere und wirksamere Aktion als letzterer. In der Tat, während es ungefähr 8 ccm Impfstoff bedarf, um die mit Straßenvirus infizierte Maus zu retten, genügen 0,75 ccm Serum hierzu.

Mit dem Serum kann man zum Unterschiede vom Impfstoff sicher die Muriden retten, selbst nach der Infektion mit fixem Virus. Das Serum ist selbst 2—3 Tage nach der stattgefundenen Infektion mit fixem Virus und 6—8 Tage nach der mit Straßenvirus noch wirksam, was man mit der Impfung nicht erzielt.

Das Blutserum normaler Tiere zeigte keine der oben genannten Eigenschaften.

#### Schl u ß f o l g e r u n g.

Die immunisierende Kraft der frischen normalen Nervensubstanz hat sich nicht schwächer erwiesen als jene der Wutsubstanz. Ich habe in der Tat bisher noch keinen merklichen Unterschied zwischen den beiden Nervensubstanzen finden können, sei es daß dieselben subkutan in der gewöhnlichen Konzentration eingeführt wurden, oder daß man die Minimaldosis vergleicht, sei es daß sie vorher höheren Temperaturen unterzogen wurden, oder daß sie, wie sie sind, *per ingestionem* verabreicht oder vorher mit 3-prom. Salzsäure behandelt wurden, sei es daß sie auf endorektalem Wege injiziert wurden, oder daß man endlich die immunisierende Wirkung des Serums von Tieren, die mit demselben behandelt wurden, oder die neutralisierende Kraft des Serums selbst gegenüber dem Wutvirus *in vitro* vergleicht.

Ein merklicher Unterschied dagegen hat sich durch das Austrocknen in der Weise herausgestellt, daß die ausgetrocknete normale Nervensubstanz stärker als die Wutnervensubstanz abgeschwächt bleibt.

Die Wirksamkeit der frischen normalen Nervensubstanz dagegen hat sich bis jetzt wie die des Pasteurschen Impfstoffes gezeigt. Das Austrocknen wäre alsdann bei der Zubereitung des antirabischen Impfstoffes gänzlich zu unterlassen.

Damit will ich absolut nicht den Schluß ziehen, daß die Impfkraft der normalen Nervensubstanz identisch ist mit jener des antirabischen Impfstoffes; dagegen bin ich der Meinung, daß irgend welcher Unterschied bestehen muß.



*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage der Typhusanreicherung mittels der Gallenkultur.

[Aus dem städtischen Obuchow-Krankenhaus für Frauen in St. Petersburg.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. G. Zeidler.

Nachdem zuerst von Conradi, dann von Brion und Kayser, insbesondere von Kayser, nachher mit Modifikationen von Fornet, Meyerstein, Conradi so außerordentlich günstige Resultate der Typhusbacillenreicherung in der Gallenröhre aus dem Blute Typhuskranker veröffentlicht worden sind, möchte ich kurz über die Resultate der Nachprüfung dieser Methode berichten, die ich im Obuchow-Krankenhaus für Frauen zu St. Petersburg vorgenommen habe. Im ganzen habe ich das Blut von 41 Typhuskranken untersucht, außerdem bei 6 Kranken 2mal und bei 2 3mal; im ganzen also 51 Blutproben. Benutzt wurden Röhrchen mit 5 ccm einfacher sterilisierter Rindergalle, zu der 30 Tropfen = ungefähr 2 ccm Blut aus der Fingerbeere hinzugefügt wurden. Dann wurden die Röhrchen 12—24 Stunden bei 37° C gehalten und aus ihnen sowohl auf einfachem schräg erstarrten Agar als auch auf Schalen mit Loefflerschem Grünagar Kulturen angelegt. In 8 Fällen habe ich nach Conradi Galle mit 10 Proz. Pepton und 10 Proz. Glycerin benutzt, konnte aber nicht die geringsten Vorteile bemerken, da Saprophyten sich auch in dieser Mischung entwickelten; auf dem Loefflerschen Grünagar dagegen habe ich immer Reinkulturen erhalten. Der früheste Zeitpunkt, an dem das Blut untersucht worden ist, war der 4. Tag der Krankheit; der späteste der 25. In der ersten Woche kamen 22 Kranke zur Untersuchung, und bei allen habe ich nach dieser Methode Reinkulturen von Typhusbacillen erhalten = 100 Proz. positive Resultate; in der zweiten Woche waren von 25 Fällen mit positivem Resultat = 80 Proz. oder in der ersten Hälfte der zweiten Woche 94,4 Proz., in der zweiten Hälfte nur 42,9 Proz.; in der dritten und vierten Woche habe ich in 4 Fällen nur negative Resultate erhalten. Im ganzen habe ich also bei 51 Blutproben 82,35 Proz. positive Resultate zu verzeichnen. Unter den untersuchten Fällen waren sowohl leichte wie schwere Fälle; unter den letzteren 3 Fälle mit letalem Ausgang und 1 Fall mit einem leichten Rezidiv. In einem Falle, in dem der Typhus bei einer cirrhotischen Kranken im Krankenhaus selbst angefangen hatte, war es mir möglich, am 4. Tage der Krankheit im Blute Bacillen nachzuweisen. Ich führe diesen Fall an, weil er über die genaue Anamnese keinen Zweifel aufkommen läßt. Die Widalsche Reaktion, die bei 29 Kranken am selben Tage, an dem die Blutprobe zur Anreicherung gekommen war, mit Agarkulturen makroskopisch, mit mikroskopischer Nachprüfung gemacht wurde, fiel in einer Verdünnung von 1 : 100 nicht ein einziges Mal negativ aus, bei gleichzeitigem positiven Resultat der Anreicherungsmethode.

Diese Resultate stimmen vollkommen mit denen namentlich von Kayser erhaltenen überein. Die Typhusbacillen können vom 4. Tage der Krankheit an sowohl in leichten wie in schweren Fällen und ebenso

auch bei ganz leichten Rezidiven nachgewiesen werden, in der zweiten Hälfte der zweiten Woche dagegen fangen sie an, sich zu eliminieren. Infolgedessen übertrifft diese Methode als frühdiagnostisches Mittel alle bis jetzt angewendeten Methoden 1) in Betreff der Häufigkeit der positiven Resultate, 2) in Betreff der frühen Periode der Krankheit, in der positive Resultate erzielt werden können, und 3) in Betreff der absolut pathognomischen Bedeutung der letzteren. Das Resultat kann schon nach 18—24 Stunden erhalten werden. In Betreff der Einfachheit steht die Methode nicht im geringsten einer genauen Widalschen Reaktionsprobe nach.

#### Literatur.

- Conradi, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 2; Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 34 u. 49.  
 Brion u. Kayser, Dtsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXV. 1906.  
 Kayser, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. Heft 2; Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 17 u. 40.  
 Fornet, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 22.  
 Meyerstein, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 38 u. 44.

---

*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.

- |   |  |
|---|--|
| <p><b>Bruschettini, A.</b>, Ueber den Nachweis spezifischer Stoffe in den Aggressinen durch die Komplementablenkungsmethode, p. 441.</p> <p><b>Carapelle, E.</b>, Ueber die Spaltung der Nukleoproteide, p. 440.</p> <p><b>Eber, A.</b>, Wie verhalten sich die nach dem v. Behringschen Tuberkulose-schutzimpfungsverfahren immunisierten Rinder gegenüber einer wiederholten verstärkten natürlichen Infektion, und wie bewährt sich das Schutzimpfungsverfahren bei der praktischen Bekämpfung der Rindertuberkulose? p. 463.</p> <p><b>Fermi, Claudio</b>, Normale Hirnsubstanz und antirabischer Impfstoff gegen Lyssa, p. 475.</p> <p><b>Hektoen, Ludvig</b>, The opsonic index in certain acute infectious disease, 456.</p> <p><b>Korentschewsky, W.</b>, Zur Bakteriologie der Parotitis epidemica, p. 394.</p> <p><b>Lourens, Louis F. D. E.</b>, Untersuchungen über die Filtrierbarkeit der Schweinepestbacillen (Bac. suipestifer), p. 420.</p> <p><b>Meyerstein, Wilhelm</b>, Ueber die bakteriologische Bedeutung der Gallensalze, p. 434.</p> <p><b>Parodi, Umberto</b>, Ueber die Uebertragung</p> | <p>der Syphilis auf den Hoden des Kaninchens, p. 428.</p> <p><b>Perrucci, Pietro</b>, Beobachtungen über die Malaria der Pferde (Piroplasmose), p. 429.</p> <p><b>Rissling, Paul</b>, Beiträge zur Biologie normaler Tiersera. (Forts.), p. 444.</p> <p><b>Ruata, Guido Q.</b>, Die Toxizität der filtrierten Kulturen der Cholera vibrionen, p. 385.</p> <p><b>Bywosch, Marie</b>, Ueber Hämolyse und Bakterizidie des embryonalen Hühnerblutes, p. 468.</p> <p><b>Saul, E.</b>, Untersuchungen zur Aetiologie der Tumoren, p. 416.</p> <p><b>Vessprémi, D.</b>, Züchtungs- und Tierversuche mit Bacillus fusiformis, Spirochaete gracilis und Cladothrix putridogenes. Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen gangränösen Entzündungen. (Forts.), p. 408.</p> <p><b>Vincenzi, Livio</b>, Die Pseudotuberkulose bei Fröschen, p. 391.</p> <p><b>Wittneben, Wilh.</b>, Schwer färbare Stäbchen bei einem Fall von multiplen Hautabscessen, p. 392.</p> <p><b>Zeidler, G.</b>, Zur Frage der Typhusanreicherung mittels der Gallenkultur, p. 479.</p> |
|---|--|

Artverschiedenheit der Tuberkel- und Perlsuchtbacillen,  
die symbiotische Doppelätiologie der menschlichen Tuberkulose  
und die Doppelvaccination.

Von Dr. Carl Spengler in Dayos.

Mit 2 Figuren.

Die Artverschiedenheit der Perlsucht- und Tuberkelbacillen ist ebenso wie die Doppelätiologie der menschlichen Tuberkulose, die ich auf Grund bakteriologischer und toxikologischer Untersuchungen (1) behauptet habe, definitiv nur serodiagnostisch zu beweisen. Dies ist möglich. Die Reinkulturen geben spezifische Antikörper, die Organextrakte menschlicher Tuberkulose werden plural agglutiniert (Bonome [2]) und das Serum der Phthisiker enthält mit verschwindenden Ausnahmen Agglutinine und Präzipitine gegen Perlsucht- und Tuberkelbacillentestlösungen. Infolgedessen kann die menschliche Tuberkulose im weitaus größten Prozentsatz der Fälle keine unitäre Infektion sein, sondern es muß eine Doppelinfection vorliegen. Wie ich durch die spezifischen Färbmethoden zeigte, liegt eine symbiotische Infektion vor.

Die Extrakte der Tiertuberkulose geben keine Pluralpräzipitation (Bonome). Deshalb kann die Menschentuberkulose auch nicht vom Tier stammen, weil der Mensch multiple Agglutinine und Präzipitine aufweist.

Die sogenannte Tuberkelbacillenreinkultur, die direkt vom Menschen nach beliebigen Methoden (Waschmethode, Formalinmethode) gewonnen wird, ist konform der Doppelinfection eine symbiotische Kultur, keine eigentliche Reinkultur. Man findet mit den weiter von mir verfeinerten Hüllmethoden (Vitalvorfärbung mit polychromem Methylenblau Unna, oder mit 1—2-proz. wässriger Säurefuchsinlösung ohne Voralkalisierung u. s. w., wie ich die Methode in ihrer weiteren Ausführung beschrieben habe (3), neben den Tuberkelbacillen, soweit ich bis jetzt nachweisen konnte, stets noch vereinzelt Perlsuchtbacillen, die sich durch viel bedeutendere Größe ohne weiteres unterscheiden lassen (s. Abbildungen). In den Kulturen auf den üblichen Nährböden werden die Perlsuchtbacillen von den Tuberkelbacillen im Wachstum überholt, überwuchert und unterdrückt.

Die serodiagnostischen Untersuchungen bestätigen diese Beobachtungen. Die gezüchteten Tuberkelbacillen des Menschen geben bei Verimpfung auf das Tier nur noch Spuren oder gar keine Perlsuchttagglutinine mehr (Bonome), während die Perlsuchttagglutinin-Präzipitinbildung auf dem Menschen eine sehr ausgesprochene, oft sogar eine vorwiegende ist. Je mehr die Perlsuchtbeteiligung durch Züchtung und Tierpassage der Bakterien abgestreift wird, desto mehr verliert sich die Pluralagglutination unter stetiger Abnahme der Perlsuchttagglutinine und Präzipitine, bis schließlich auch die Tuberkelbacillen in ihren spezifischen Antikörpern jede Gemeinschaft mit den Perlsuchtbacillen verlieren. Die beiden Bakterien sind artverschieden im Sinne der Immunitätslehre.

Der Kochsche dualistische Standpunkt ist vollkommen bestätigt.

Von 46 Phthisikern, deren Serum ich doppelt, gegen Perlsucht- und Tuberkelbacillentestlösungen, agglutinierte, zeigten 45 Fälle plurale Agglutination, 1 Fall agglutinierte nur Tuberkelbacillentestlösung; bei den 45

Fällen waren, soweit Sputum zur Untersuchung vorlag, mit den differenzialdiagnostischen Färbemethoden Tuberkel- und Perlsuchtbacillen nachweisbar. Der nur Tuberkelbacillentestlösung agglutinierende Kranke hatte nur Tuberkelbacillen.

Die 46 Fälle lassen sich, wenn wir für den einen, singular agglutinierenden Fall keine Spezialgruppe annehmen, in 3 Gruppen einteilen.

27 Fälle der 1. Gruppe agglutinierten Perlsuchttestlösung stärker als Tuberkelbacillentestlösung, 2 unter denselben 10 mal stärker:

Tuberkelbacillentestlösung 1:100, Perlsuchtbacillentestlösung 1:1000. Sie waren überempfindlich gegen Perlsuchtoriginaltuberkulin, somit gegen das Toxin, auf welches die vornehmlich vorhandenen Antikörper paßten. Da zum Teil nur Tuberkelbacillentuberkuline therapeutisch verwendet werden konnten, weil Ueberempfindlichkeit gegen Perlsuchtoriginaltuberkulin vorhanden war und demnach nahezu ausschließlich nicht homologe Perlsuchttagglutinine gebildet wurden, erzeugt die injizierte Substanz nicht direkt, sondern indirekt, durch Vermittelung der Krankheitsherde und durch die prävalierend vorhandenen antagonistischen Bakterien und deren Gifte die Antikörperbildung. Die von mir empfohlene Deuterotoxin-

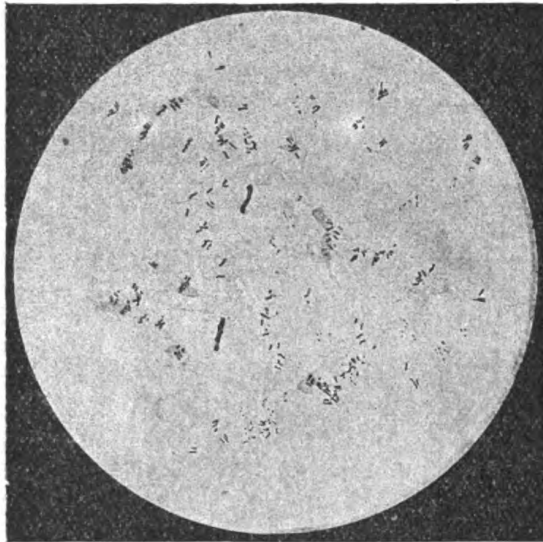


Fig. 1. Eine symbiotische Kultur aus Sputum (Formalinzüchtung). Zwei große Perlsuchtbacillen unter den weit kleineren Tuberkelbacillen. Vitalvorfarbung mit Säurefuchsin, dann Karbolfuchsin etc. Färbung zur Hüllenfärbung der Perlsuchtbacillen.

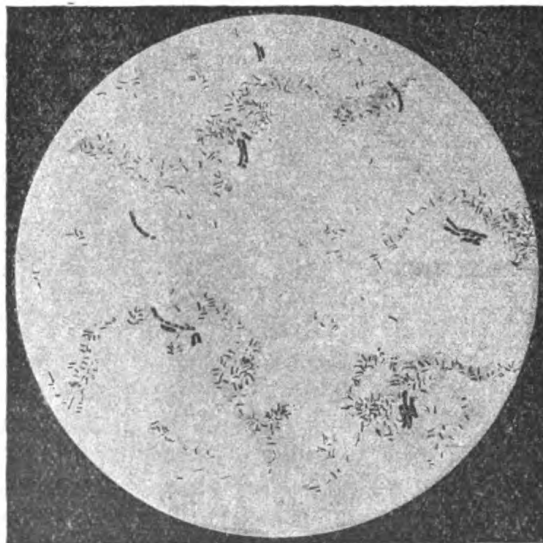


Fig. 2. Ein künstliches Gemisch von Tuberkelbacillenreinkultur mit vereinzelt Exemplaren Perlsuchtbacillen einer Reinkultur in derselben Weise gefärbt mit analogen Größendifferenzen. Gez. von Dr. Betegh-Fiume.

Vergrößerung 925; Zeiss-Apochromat.

behandlung oder Vaccination ist somit ein indirekt wirkendes, Ueberempfindlichkeitsreaktionen vermeidendes Heil- und Immunisationsverfahren.

Die Ueberempfindlichkeit gegen das Toxin weicht in allen Fällen erst nach abgeschlossener Vorimmunisierung mit dem Vaccin und Organentgiftung.

Im allgemeinen nimmt man an, die Ueberempfindlichkeitsreaktion trete als Folge der giftig wirkenden Verbindung von Gift und Antikörper auf. Das wäre eine *Contradictio in adjecto*. Die Ueberempfindlichkeit beruht auf der Anwesenheit ungebundener Gifte in den Organen, bezw. deren Zellen, bei Vorhandensein homologer Antikörper im Blute, die die Gifte im Schach halten, aber sie noch nicht verankerten. Die Ueberempfindlichkeitsreaktion ist eine Autointoxikation infolge der Beschlagnahme von Antikörpern durch injiziertes Gift. Das Injektionsgift zieht die Organgifte äquilibrirender Antikörper von den Organen ab und es erfolgt ein Gifteinbruch in den Kreislauf von den giftführenden Organen aus.

Eine zweite Gruppe von 6 Kranken agglutinierte Tuberkelbacillentestlösung stärker als Perlsuchttestlösung und eine dritte Gruppe von 13 Fällen agglutinierte beide Testlösungen gleich.

In der 2. Gruppe waren Tuberkelbacillen im Sputum vorwiegend und Perlsuchtoriginaltuberkulin wurde gut ertragen, in der 3. Gruppe waren die beiden Bakterien numerisch ungefähr gleich stark vertreten und es bestand mittlere Empfindlichkeit gegen Perlsuchtoriginaltuberkulin und Tuberkelbacillenoriginaltuberkulin. Ein Fall war empfindlich gegen Perlsuchtoriginaltuberkulin, ein zweiter gegen Tuberkelbacillenoriginaltuberkulin, ohne daß man die Ursache hätte feststellen können. Wahrscheinlich ist die Inkongruenz zwischen Sputumbefund und Agglutination auf unterdrückten Symbiotismus zurückzuführen.

Im allgemeinen decken sich aber Agglutinations- und bakteriologische Resultate im Sinne der dualistischen Infektion vollkommen.

Die Eigenartigkeit der toxologischen Verhältnisse läßt ebensowenig einen Zweifel an der Verschiedenartigkeit der Bakterien und an der Doppelätiologie der menschlichen Tuberkulose aufkommen, als die serodiagnostischen und die bakteriologisch-mikroskopischen Untersuchungen dies tun.

Eine vollkommene Bestätigung meiner infektionsdualistischen Lehre haben die Versuchsreihen von Bonome (3) gebracht, welcher in den verschiedenartigsten Variationen das Präzipitationsvermögen des Serums von tuberkulösen Menschen und Tieren geprüft hat.

Das Tiereserum stammte von spontan erkrankten und von künstlich mit tuberkulösem Organmaterial vom Menschen und vom Tier und mit Reinkulturen infizierten Tieren. Das präzipitable Plasma rührte von Tuberkelbacillen- und Perlsuchtbacillenreinkulturen oder von tuberkulösen Organen des Menschen oder des Tieres her, oder von künstlich mit tuberkulösem Organmaterial verschiedenster Herkunft oder von mit Reinkulturen infizierten Organen her.

Die Hauptschlußfolgerungen Bonomes sind folgende:

„Durch die biologische Präzipitirmethode gelingt es, einen wirklichen Unterschied zwischen den Tuberkelbacillen des Menschen und des Rindes festzustellen.

Bei den mehr oder weniger vorgeschrittenen Tuberkuloseinfektionen beladet sich das Blutserum des Rindes mit einer gewissen Menge von Präzipitinen, die nur auf mit von Rindertuberkeln oder resp. Kulturen hergestellte Plasmen spezifisch wirken.

Dieses Ergebnis ist von Wichtigkeit, indem es in der Praxis zur Feststellung der Diagnose der Rindertuberkulose angewendet werden kann.“

Da Bonome die Beweise, die seine Versuchsserien für den Infektionsdualismus der menschlichen Tuberkulose geben, gänzlich übersieht, oder wenigstens unberücksichtigt läßt, und nur die Artspezifität der Perlsuchtbacillen und ihre Unterscheidung von Tuberkelbacillen pointiert, möchte ich mir erlauben, die wichtigsten Punkte seiner Arbeit hervorzuheben, die den Infektionsdualismus bestätigen und den Bakterien-dualismus serodiagnostisch klar hervortreten lassen.

In erster Linie zeigen die Organplasmen vom Phthisiker in sämtlichen Versuchen Bonomes ausnahmslos eine Pluralpräzipitation, wie meine Serumversuche ebenfalls. Dasselbe ist, wenn auch schon weniger ausgesprochen, der Fall, wenn menschliche Tuberkelmassen den Tierkörper passierten, und noch schwächer fällt die Doppelpräzipitation, und zwar unter stetiger Abnahme der Perlsuchtpräzipitation, aus, wenn menschliche Tuberkelbacillenkulturen zu den Versuchen benutzt wurden, in denen, wie ich nachgewiesen, die Perlsuchtbacillen als Symbioten nach und nach kaum noch in Betracht kommen. Aus Versuch XII, Tabelle IX erhellt aber die Artverschiedenheit von Tuberkel- und Perlsuchtbacillen und damit auch die symbiotische Doppelätiologie der menschlichen Tuberkulose vollkommen, da in diesem Versuch das Serum des mit Menschentuberkulosevaccin infizierten Meer-schweinchens ausschließlich das Plasma von Reinkultur menschlicher Tuberkelbacillen, nicht aber das Plasma von Rindertuberkelbacillen präzipitiert.

Die Antikörper von Tuberkel- und Perlsuchtbacillen sind somit spezifisch, die Pluralagglutination und Präzipitation deshalb keine Gruppenreaktion, wie man gemeint hat, sondern der gesicherte serodiagnostische Beweis für die von mir auch mikroskopisch, kulturell und toxikologisch festgestellte Doppelinfektion der menschlichen Tuberkulose, die eine symbiotische Tuberkel-Perlsucht-bacillenfektion darstellt.

Ferner geht aus diesen serodiagnostischen Untersuchungen hervor, daß die menschliche Tuberkulose nicht bovinen Ursprungs sein kann, sondern von Mensch zu Mensch als Doppelinfektion weitergegeben wird. Auch nach dieser epidemiologischen Richtung hin bestätigt sich die Kochsche Auffassung und nicht diejenige der Unitarier.

Die Perlsuchtbacillen des Rindes sind ursprünglich wahrscheinlich eine Abzweigung der symbiotischen Perlsuchtbacillen des Menschen.

Die von mir auf Grund klinischer und bakteriologischer Beobachtungen empfohlene Doppelvaccination (1), die Behandlung der tuberkulösen Menschen nicht mit ihrem Ueberempfindlichkeitsreaktionen hervorrufenden Toxin, sondern mit dem antagonistischen Deuterotoxin, dem Vaccin, ist nach diesen Untersuchungen eine streng ätio-

logische Therapie, die sich dem Einzelindividuum anpassen läßt.

Die Präzipitations- und Agglutinationsuntersuchungen haben aber ergeben, daß wir uns bisher im allgemeinen für den Menschen in zu hohen Anfangsdosen bewegten. Die Bouillonstoffe sowohl der Tuberkelals der Perlsuchtbacillen beginnen oft deutliche Antikörperproduktion schon bei  $\frac{1}{10000}$ — $\frac{1}{1000}$  mg und die Emulsionen der beiden Bakterien fangen ihre Wirkungen schon bei  $\frac{1}{100000000}$ — $\frac{1}{1000000}$  mg der abgewogenen Substanz an.

Daß eine Infektionskrankheit, die zwei Infektionsursachen hat, deren Vorwiegen allen möglichen Schwankungen unterworfen ist, nicht mit einem Singulärstoff durchweg gleich gut und erfolgreich behandelt werden kann, ist selbstverständlich und zeigt die tägliche Beobachtung am Krankenbett.

Die verschiedenen Singulärstoffe, die in den letzten Jahren in großer Anzahl als Heilmittel gegen Tuberkulose empfohlen worden sind und die alle, außer meinen Perlsuchtpräparaten, von Tuberkelbacillen stammen, erfüllen ihre Aufgabe als Heilkörper nur zum Teil. In vielen Fällen sind Perlsuchtstoffe zu aussichtsreicher Behandlung unerläßlich, in anderen muß den Tuberkelbacillenpräparaten eine bessere Wirksamkeit zuerkannt werden. Das hängt ganz von den individuellen ätiologischen Verhältnissen ab. Und oft kommt man ohne die Anwendung beider Stoffarten hintereinander nicht zu einem befriedigenden Abschluß.

Als fehlerhaft ist zu bezeichnen, daß man immer das eine oder andere Präparat als besonders wirksam und ausgezeichnet empfiehlt, vor allem trifft dies für die Emulsionen zu. Die Emulsionen haben bei weitem nicht den großen Wirkungsbereich wie die Bouillonstoffe, dennoch sind sie letzteren in manchen Fällen zweifellos überlegen. Es kommt eben ganz darauf an, was für Wirkungen ein Tuberkulöser erfordert, ob bakterizide in erster Linie oder giftbindende. Die Emulsionen produzieren hauptsächlich Ambozeptoren, bzw. Lysozidine, wie ich die von mir gefundenen thermostabilen Bakteroidstoffe der Tuberkulose nenne, und wenig Präzipitine und Agglutinine, die Bouillonstoffe umgekehrt wenig Lysozidine, dafür große Mengen Agglutinine, Präzipitine, Opsonine etc. Mit den Emulsionen gefährdet man unter Umständen durch zu reichliche bakterizide Wirkungen den ausgedehnten Tuberkulösen, und man ist gezwungen, Bouillonstoffe anzuwenden, um die Bindung der Gifte der sich auflösenden Bakterien durch Präzipitine und Agglutinine unschädlich zu machen.

#### Literatur.

- 1) Spengler, Carl, Ein neues immunisierendes Heilverfahren etc. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 31; 1905. No. 31.)  
— —, Die Doppelätiologie der tuberkulösen Phthise und die Vaccinationsbehandlung. (Wien. klin. Rundschau. 1906. No. 33.)
- 2) Bonome, A., Präzipitinreaktion als diagnostisches Mittel der Tuberkulose und zur Differenzierung zwischen Menschen- und Rindertuberkulose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 4.)
- 3) Spengler, Carl, Neue Färbmethoden für Perlsucht- und Tuberkelbacillen etc. (Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 9.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Toxizität der filtrierten Kulturen der Choleravibrionen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bologna.  
Direktor Prof. G. Sanarelli.]

Von Prof. **Guido Q. Ruata**, beauftragtem Direktor.

(Deutsch von Prof. O. v. Negri z. M.)

(Fortsetzung.)

Nach wiederholten Durchgängen durch die Tiere haben wir ein festes Giftvermögen erhalten, dessen tödliche Dosis auf je 100 g Tier (Meerschweinchen) anderthalb Zehntel einer sorgfältig homogenisierten Kultur auf Peptongelatine entsprach. Die Homogenisierung der Kultur ist nicht schwer, denn das Häutchen des „Kolle 74“ ist sehr zart und zerteilt sich in der Flüssigkeit durch verlängerte heftige Bewegung in äußerst kleine Teilchen. — Die höchste Virulenz erreicht eine bei 37° C gehaltene Kultur zwischen dem 3. und 4. Tage.

Nach einigen vorläufigen Filtrierungsversuchen durch Kerzen nach Berkefeld haben wir es später vorgezogen, die Kulturen auf Peptongelatine, wegen ihrer Langsamkeit im Filtrieren, die zu Irrtum führen konnte, zu verlassen, und uns dem peptonisierten Wasser (Pepton Defresne 4, Chlornatrium 1, Wasser 100) zuzuwenden, in welchem das schon bewährte Giftvermögen des „Kolle 74“ unverändert blieb; folglich beziehen sich unsere nachstehenden Versuche ohne weiteres auf in solchem Nährmittel (10 ccm) ausgeführte Kulturen.

Das Studium der Filtrate der Kulturen vom „Kolle 74“ hat uns zur Bestimmung eines Giftvermögens geführt, welches einer tödlichen Dosis von 2,5 ccm auf 100 g Tier des Filtrates einer 5 bis 6 Tage alten Kultur bei 37° C, die in das Bauchfell inokuliert wurde, entspricht. Bei einem Alter von 4 Tagen gibt die Kultur manchmal ein etwas weniger toxisches Filtrat, dessen tödliche Minimaldosis 3 ccm ist.

Die Wirkung des Filtrates auf das Tier ist rasch, denn die ersten Symptome stellen sich sogleich nach der Inokulation ein: Das Tier wird von plötzlichen und andauernden Zuckungen befallen, die den ganzen Körper erschüttern und einige Minuten dauern; alsbald ballt es sich im Käfige zusammen, das Haar sträubt sich, der Bauch schmerzt und nach wenigen Stunden fällt das Meerschweinchen nieder und ist nicht mehr im stande, eine spontane Bewegung auszuführen; die Atemzüge werden kurz und schwer, der Körper fängt an zu erkalten, der Kollaps stellt sich alsbald ein und mit ihm der Exitus (durchschnittlich binnen 10—20 Stunden). Diese Erscheinungen sind der tödlichen Minimaldosis eigen; wenn man die Dosis 2, 3, 4mal größer nimmt, hat man außerordentlich heftige und rasche Ergebnisse, sogar bis zum Tode binnen wenigen Minuten.

Die Autopsie weist an der Stelle der Inokulation ein gallertartiges Oedem auf, welches sich strahlenförmig auf einen großen Teil des Bauches ausdehnt und von kapillaren Hämorrhagieen begleitet ist. Das Bauchfell ist kongestioniert und bietet hier und da hämorrhagische Stellen dar; ein seröser oder serös-bluthaltiger Erguß ist vorhanden; auch die Eingeweide der Bauchhöhle sind bedeutend kongestioniert; oft, aber nicht immer, hat der Dünndarm einen diarrhöischen Inhalt. Die Brusthöhle bietet im allgemeinen nichts Besonderes dar.



Ein ähnlicher Befund ist von Metschnikoff, Roux und Salimbeni für ihr Toxin beschrieben worden.

In Hinsicht des Begriffes, welcher uns leitete, war es auch von großer Wichtigkeit, den Verlauf der Reaktion in den Kulturen zu studieren, und dies haben wir mit größter Sorgfalt getan. Wir haben so nachgewiesen, daß die Kulturen, sowohl auf Peptongelatine, als in peptonisiertem Wasser, die im Augenblicke der Aussaat neutral sind, nach 12—15 Stunden schon eine gut schätzbare Alkalinität aufweisen, welche immer deutlicher hervortritt, bis sie um den 3. oder 4. Tag ihr Maximum erreicht und unverändert bleibt. Wenn man zu diesem Zeitpunkt ein rotes Lackmuspapierchen an den Rand des Gefäßes stellt, so reagiert es sogleich stark auf blau. Viel später — nach ungefähr 15 bis 20 Tagen oder mehr — können die Wasserkulturen sauer werden.

Auch bei diesen Kulturen hat uns das Studium der Granulationen, in Bestätigung der Resultate unserer früheren Arbeit, bewiesen, daß sie schon bei ungefähr 24 Stunden zu erscheinen anfangen und sich rasch vermehren, so daß gegen den 7.—8. Tag, manchmal etwas später, alle Vibrien vollständig granuliert und nicht mehr erkennbar sind. Mit einem Worte, wie schon gesagt, fangen also die Vibrien alsbald an, den Einfluß des ungünstigen Zustandes des Nährmittels zu verspüren; diese ungünstigen Verhältnisse finden ihre Erklärung im Vorhandensein des Ammoniaks und der ammoniakalischen Salze, die sich eventuell in der Flüssigkeit gebildet haben.

Die bemerkenswertesten Eigenschaften des Filtrates sind folgende: In einfach mit Baumwolle zugestopften Röhren oder Kolben sich selbst überlassen, verliert es rasch die Toxizität, wie Metschnikoff, Roux und Salimbeni nachwies. Diese Autoren schrieben aber auch dem Lichte einen abschwächenden Einfluß zu, während wir gefunden haben, daß das Filtrat ausschließlich bei Zutritt der Luft sein Giftvermögen einbüßt, denn die nämlichen mit Baumwolle zugestopften Röhren schwächen sich im Dunkeln in eben demselben Maße ab, wie die am Lichte gehaltenen. Umgekehrt verliert das Filtrat sein Giftvermögen nicht, wenn es in an der Flamme geschlossenen Röhren aufbewahrt wird, gleichgültig ob am Lichte oder im Dunkeln gehalten. — Ueberdies verliert das Filtrat sein Giftvermögen nicht, wenn es bis auf 120° erwärmt wird; nur müssen die Röhren an der Flamme geschlossen sein; das Filtrat büßt aber die Toxizität schon bei 100° C ein, wenn die Röhren einfach mit Baumwolle zugestopft sind.

Nach diesen Befunden ist es nicht schwer, zu denken, daß wenigstens zum größten Teile die Toxizität des Filtrates einem flüchtigen Stoffe zuzuschreiben sei, der sich in demselben ausbildet. Uns auf unsere vorhergehenden Forschungen stützend, haben wir nachzuweisen gesucht, ob die toxische Wirkung von Ammoniak und von den anderen neben ihm in den Kulturen vorhandenen flüchtigen Stoffen herrühren könnte. Vor allem handelt es sich darum, das Filtrat von flüchtigen Bestandteilen zu befreien, um sodann die charakteristischen Eigenschaften des Residuums zu studieren, und zu diesem Behufe nahmen wir die Verdampfung ins Leere vor.

Unser Verfahren ist folgendes:

Man gibt ein bestimmtes Quantum des Filtrates in einen Glaskolben, welcher in einem Wasserbade steht und mit einem Kühlapparate verbunden ist, das seinerseits durch einen Kolben nach Erlenmeyer mit einer Saugwasserpumpe in Verbindung kommt. Das Wasserbad wird

dergestalt erwärmt, bis im Innern des Kolbens eine Temperatur von 45–50° C erreicht ist. Sobald man den Raum evakuiert, fängt im Filtrate die Verdunstung an und es schmilzt fast zur festen Konsistenz zusammen; das Residuum wird sodann genau auf das primitive Volumen zurückgebracht. Das Reagens von Nessler weist im Destillat durch einen ziegelroten Niederschlag eine bedeutende Quantität Ammoniak nach, während es im zum Volumen zurückgebrachten Residuum nur eine leichte ammoniakalische Reaktion hervorruft. Das Verfahren wird selbstverständlich im Zustande der absolutesten Sterilität ausgeführt, wie die Kontrollaussaaten unwiderruflich beweisen.

Mit den so behandelten Filtraten haben wir zahlreiche Inokulationsversuche auf Meerschweinchen unternommen, indem wir sie mit den Inokulationen mit den vollständigen Filtraten selbst verglichen. Wir werden hier einige dieser Versuche anführen:

#### I.

4. Febr. 1907. Kultur von „Kolle 74“ in peptonisiertem Wasser in einer großen Phiole nach Gayon, bei 37° C.

12. Febr. 1907. Die Kultur ist vollständig entwickelt; unter dem Mikroskope sieht man, daß alle Vibrionen in Granulationen und Detriten verwandelt sind; die Reaktion ist alkalisch.

Die Kultur wird mit Kerzen nach Berkefeld filtriert und mit dem Filtrate macht man Aussaaten, die in den Brutschrank gestellt werden, um die Sterilität zu kontrollieren. Sie ist dann 8 Tage alt.

13. Febr. 1907. Das Filtrat ist steril. Die eine Hälfte wird direkt zu Inokulationen verwendet, die andere wird im Vakuum konzentriert und zum primitiven Volumen zurückgebracht.

Meerschweinchen No. 102. Gewicht 230 g. Empfängt ins Peritoneum 5 ccm des vollständigen Filtrates.

Als bald wird das Tier von den von uns schon beschriebenen Symptomen befallen und geht nach ungefähr 10 Stunden ein.

Die Autopsie ergibt den gewöhnlichen Befund. Alle Organe sind steril.

Meerschweinchen No. 103. Gewicht 245 g. Erhält ins Bauchfell 5 ccm konzentrierten und zum Volumen zurückgebrachten Filtrates.

Kein schätzbares Symptom, das Tier überwindet.

Meerschweinchen No. 104. Gewicht 240 g. Erhält ins Peritoneum 10 ccm konzentrierten und zum Volumen zurückgebrachten Filtrates.

Durch einige Stunden hindurch bietet das Tier keine anormalen Symptome dar. Am frühen Morgen des 14. aber findet man das Tier von Unwohlsein befallen, niedergeschlagen, zitternd und von Paresisphänomenen ergriffen. Nachmittags verschlimmert sich der Zustand und das Tier geht ein, genau 20 Stunden nach der Inokulation.

Bei der Autopsie stellt sich das Bauchfell als ziemlich kongestioniert dar und enthält ein bedeutendes Quantum einer gelblichen Flüssigkeit; auch die Organe sind kongestioniert. Die vorgenommenen Aussaaten bleiben steril.

Es ist also augenscheinlich, daß das Giftvermögen des Filtrates durch die Verdunstung bedeutend vermindert wird. Wir dürfen aber nicht vergessen, daß dieses Filtrat von einer Kultur stammte, die 8 Tage hindurch im Brutschranke gehalten worden war, und daß die Auflösung der Vibrionen, die durch die Granulationen angedeutet wird, schon sehr

vorgeschritten war. Nach unserer Meinung ist der Tod des Meerschweinchens 104 besonders dem Endotoxin zuzuschreiben, welches sich aus den aufgelösten mikrobischen Körpern in die Flüssigkeit verbreitet hat.

Die Versuche mit jüngeren Filtraten bekräftigen diese Annahme, wie wir sehen werden.

## II.

12. Febr. 1907. Kultur von „Kolle 74“ in peptonisiertem Wasser, in einer großen Phiole nach Gayon, bei 37° C.

16. Febr. 1907. Die Kultur ist vollständig entwickelt; unter dem Mikroskope zeigen sich die meisten Vibrien noch beweglich und morphologisch normal; Granulationen fehlen aber auch nicht. Reaktion alkalisch.

Man filtriert mit einer Kerze nach Berkefeld und das Filtrat wird zu verschiedenen Aussaaten in den Brutschrank gebracht, um die Sterilität zu kontrollieren. Reaktion alkalisch. Das Filtrat ist folglich 4 Tage alt.

17. Febr. 1907. Das Filtrat ist steril. Ein Teil ist für die direkten Inokulationen bestimmt; ein Teil wird konzentriert und zum Volumen zurückgebracht.

Meerschweinchen No. 111. Gewicht 200 g. Erhält ins Bauchfell 5 ccm vollständigen Filtrates.

Das Tier geht binnen ungefähr 15 Stunden unter dem gewöhnlichen klinischen und anatomisch-pathologischen Bilde ein. Aussaaten steril.

Meerschweinchen No. 112. Gewicht 240 g. Empfängt ins Peritoneum 5 ccm konzentrierten und zum Volumen zurückgebrachten Filtrates.

Kein Symptom, das Tier überwindet.

Meerschweinchen No. 113. Gewicht 230 g. Erhält ins Bauchfell 10 ccm konzentrierten und zum Volumen zurückgebrachten Filtrates.

Kein Symptom, das Tier übersteht.

## III.

15. Febr. 1907. Kultur von „Kolle 74“ in peptonisiertem Wasser, in einer großen Phiole nach Gayon, bei 37° C.

20. Febr. 1907. Die Kultur ist vollständig entwickelt. Unter dem Vergrößerungsapparate zeigt sich ein großer Teil der Vibrien normal, aber die Granulationen sind schon zahlreich. Die Reaktion ist alkalisch. Das Filtrat ist folglich 5 Tage alt.

Man filtriert mit einer Kerze nach Berkefeld und das Filtrat wird zu mehreren Aussaaten in den Brutschrank gestellt, um die Sterilität zu kontrollieren.

21. Febr. 1907. Das Filtrat ist steril. Ein Teil desselben soll direkt inokuliert werden, ein Teil wird konzentriert und zum Volumen zurückgebracht.

Meerschweinchen No. 117. Gewicht 170 g. Erhält ins Peritoneum 5 ccm des vollständigen Filtrates.

Das Tier geht in ungefähr 10 Stunden zu Grunde und bietet das gewöhnliche Bild dar.

Meerschweinchen No. 118. Gewicht 170 g. Erhält ins Bauchfell 10 ccm konzentrierten und zum Volumen zurückgebrachten Filtrates. Außer einem vorübergehenden Unwohlsein tritt kein anderes Symptom ein, und das Tier überlebt.

Meerschweinchen No. 119. Gewicht 200 g. Erhält ins Peritoneum 12 ccm konzentrierten und zum Volumen zurückgebrachten Filtrates.

Nach 2 Stunden ist das Schweinchen niedergeschlagen und stirbt in 18 Stunden unter einem dem des Meerschweinchens No. 117 ähnlichen Bilde. Aussaaten steril.

Meerschweinchen No. 120. Gewicht 200 g. Erhält ins Peritoneum 15 cm konzentriertes und zum Volumen zurückgebrachtes Filtrat.

Nach ein paar Stunden ist das Tier ziemlich niedergeschlagen, es erholt sich aber und übersteht.

Unsere Versuche, wovon wir die soeben beschriebenen Beispiele angeführt haben, lassen nicht den leisesten Zweifel zu: Das Ammoniak (wir bestreiten nicht, daß mit ihm noch andere, toxische, ebenfalls flüchtige Stoffe, nicht gut bestimmbarer Natur, vorhanden seien) spielt während der ersten Entwicklungstage in der Toxizität der Filtrate der Vibrionenkulturen eine überwiegende Rolle.

Wir schließen nicht aus, und aus diesem einzigen Grunde allein können wir es nicht ausschließen, daß die Vibrionen ein lösbares Toxin ausscheiden können; denn, wie wir gesagt haben, wenn der Tod des Meerschweinchens No. 104 der Beobachtung I dem Vorhandensein von Endotoxin, welches sich aus den mikroskopischen aufgelösten Körpern entwickelt hat, zugeschrieben werden kann, kann man dennoch nicht die Möglichkeit leugnen, daß ein Teil des lösbaren Toxins ausgeschieden worden sei, und daß die Wirkungen dieses letzteren mit den Wirkungen jenes vereinigt den tödlichen Ausgang verursacht hätten. Es ist wohl wahr, daß wenn es so zugegangen ist, das Quantum des ausgeschiedenen Toxins sehr gering gewesen sein muß, wenn es, wie die anderen Beobachtungen beweisen, für sich allein nicht im stande ist, die Versuchstiere ernstlich zu beeinträchtigen, ausgenommen den Fall, daß sich diese in einem besonderen Zustande der Empfänglichkeit befinden sollten.

In der Tat ist ein toxisches Prinzip im Filtrate zurückgeblieben, nachdem es durch die Verdunstung von den anderen Stoffen befreit wurde; es könnte aber sowohl vom Toxin, das von den Vibrionen ausgeschieden wird, als vom endozellularen, aus den desintegrierten Vibrionen befreiten Toxin vorgestellt sein. Diese Auslegung scheint vom Falle des Meerschweinchens No. 119, das infolge einer Inokulation von 12 ccm verdunsteten und zum Volumen zurückgebrachten Filtrates eingegangen ist, bewiesen worden zu sein. Augenscheinlich haben wir uns vor einem Tiere befunden, dessen individuelle Widerstandsfähigkeiten geringer waren als diejenigen der anderen, die doch eine fast gleichstarke (Meerschweinchen No. 118) oder gar eine stärkere (Meerschweinchen No. 120) Inokulation ertragen haben, und folglich hat sein empfänglicherer Organismus der Wirkung des toxischen Prinzips unterliegen müssen.

Um die Frage besser zu ergründen, haben wir auch auf anderem Wege Forschungen angestellt. Wir haben nämlich gedacht, daß die durch die Evaporation des Residuums eingebüßte Toxizität sich vielleicht im Destillate vorfinden und dieses also ein gewisses Giftvermögen besitzen könnte.

Wir bemerken aber sogleich, daß, wenn das Verfahren auch theoretisch ausführbar erscheint, es auf dem praktischen Gebiete nicht so ist; denn wir haben es mit einem äußerst flüchtigen Stoffe wie Ammoniak zu tun, und, wenn man ihr Vorhandensein annehmen will, auch mit anderen Stoffen, die ebenfalls ihrer Unbeständigkeit wegen ungemein flüchtig

sind. Um diese Forschungen auszuführen, halten wir kein anderes Mittel für brauchbar, als das schon verwendete der Konzentrierung im Vakuum, um somit auf dem gleichförmigen Gebiete der Versuchsumstände zu bleiben und so mit den vorhergehend ausgeführten Versuchen einen Vergleich anstellen zu können. Das Verfahren der Verbindung des Ammoniaks im Destillate durch die gewöhnlichen chemischen Mittel schien uns ungeeignet, denn dadurch wären die Umstände und Schranken des Versuches besonders verändert worden. Auch konnten wir nicht daran denken, in der filtrierten Flüssigkeit Ammoniakdosierungen und sodann Ammoniaklösungen des nämlichen Titors darzustellen und sie zu inokulieren, und zwar aus zweierlei Gründen: Erstens bietet ein solcher Determinismus vielfache und fortwährende Ursachen zum Irrtum, wenn man ihn auf der einen Seite für so vielfach zusammengesetzte Stoffe verwendet wie die kulturellen Flüssigkeiten, und auf der anderen Seite für so zarte Forschungselemente wie die Tiere sind; zweitens hätten wir es mit diesem Mittel nur auf das Ammoniak abgesehen und die anderen flüchtigen Stoffe, die, wie wir schon gesehen haben und wieder sehen werden, eine nichts weniger als unwahrscheinliche toxische Wirkung besitzen, wären vernachlässigt worden. Es blieb uns also nichts anderes übrig, als die Evaporation im Vakuum zu versuchen (wie in den vorhergehenden Experimenten) und sodann das Destillat zu inokulieren; und so haben wir es getan.

Die Ergebnisse, wir gestehen es sogleich ein, sind weit davon entfernt, endgültige zu sein.

Kulturen in peptonisiertem Wasser, in großen Phiolen nach Gayon werden durch 5 Tage (11.—16. März 1907) hindurch bei 37° C im Brutschranke gehalten, sodann durch Filtrierpapier und mit Kerze nach Berkefeld filtriert. Ein Teil des Filtrates ist bestimmt, direkt inokuliert zu werden, der andere wird im Vakuum bei 50° C evaporiert und das Destillat wird gesammelt; dieses letztere gibt mit dem Reagens von Neßler eine sehr hervortretende ammoniakalische Reaktion.

Das Residuum wird zum Volumen zurückgebracht, um ebenfalls inokuliert zu werden.

17. März 1907. Meerschweinchen No. 150. Gewicht 210 g. Erhält im Peritoneum 5 ccm vollständiges Filtrat.

Geht in ungefähr 13 Stunden ein und bietet das gewöhnliche Bild dar. Die Aussaaten sind steril.

Meerschweinchen No. 151. Gewicht 230 g. Erhält ins Bauchfell 10 ccm konzentrierten und zum Volumen zurückgebrachten Filtrates. Kein bemerkenswertes Symptom; das Tier überlebt.

Meerschweinchen No. 152. Gewicht 260 g. Empfängt ins Bauchfell 10 ccm Destillat.

Bietet in der ersten Stunde nach der Inokulation eine leichte vorübergehende Niedergeschlagenheit dar und erholt sich.

Meerschweinchen No. 153. Gewicht 240 g. Empfängt ins Bauchfell 15 ccm Destillat.

Zeigt fast sogleich ein wenig Unwohlsein und erholt sich.

Meerschweinchen No. 154. Gewicht 260 g. Erhält ins Bauchfell 20 ccm Destillat.

Weist ein initiales Unwohlsein auf, welches alsbald verschwindet.

Diese negativen Ergebnisse müssen, nach unserer Meinung, der schon früher erwähnten Tatsache zugeschrieben werden, daß die Saugwirkung durch die Pumpe (und in dieser Hinsicht ist die von uns an-

gewandte Pumpe sehr wirksam) sich nicht nur auf die originelle für die Verdampfung bestimmte Flüssigkeit erstreckt, sondern auch auf das Gefäß, wo das Destillat angesammelt ist, so daß ein großer Teil des Ammoniaks und der anderen unter Umständen vorhandenen flüchtigen Stoffe herausgezogen wird, die tatsächlich durch die Saugröhre entweichen. Aus allem diesen folgt, daß diese Beobachtungen uns keine für die Toxizität oder Giftlosigkeit des Destillates genügende Elemente darbieten, und darum bleibt die früher nachgewiesene Tatsache unberührt, d. h., daß die Toxizität des Filtrates durch die Evaporation verloren gehe.

Diese Kenntnis gibt uns (wie wir voraussahen) die natürliche Erklärung der zwei von uns und zum Teil auch von Metschnikoff, Roux und Salimbeni schon nachgewiesenen Tatsachen, welche die vernichtende Wirkung der Luft auf das toxische Prinzip des Filtrates und die Thermostabilität desselben betreffen: d. h., daß, wenn das Filtrat auch lange Zeit hindurch in an der Flamme geschlossenen Röhren gehalten wird, die flüchtigen Stoffe sich nicht befreien können und deswegen ihre Toxizität unverändert beibehalten; während wenn die Röhren einfach mit Baumwolle geschlossen sind, die Toxizität verloren geht, weil die flüchtigen Stoffe entweichen. Und in entsprechender Weise befördert eine Erhitzung zu 100° C der nur mit Baumwolle geschlossenen Röhren die Verflüchtigung jener Stoffe, währenddem die Toxizität sich nicht verändert, wenn das Filtrat in an der Flamme geschlossenen Röhren, woraus die flüchtigen Stoffe sich nicht befreien können, zu 120° C erhitzt wird.

Diese neuen Aussichten, die aus unseren Beobachtungen über die toxischen Prinzipien der Vibrinkulturen hervorgehen, mußten uns schon von Anfang an dahin bringen, zu studieren, ob, wenn man aus den Kulturflüssigkeiten das Ammoniak zieht oder dessen Bildung verhindert, sich auch die Toxizität der vollständigen Filtrate verändere und in welchem Maße. Selbstverständlich konnten wir es nur auf die Erzeugung des Ammoniaks absehen, denn wenn wir auch den Argwohn hegten und noch hegen, daß noch andere toxisch wirkende flüchtige Stoffe vorhanden seien, konnten wir dessenungeachtet, da diese Stoffe uns gänzlich unbekannt waren, Versuche vornehmen, um nicht nur ihr Vorhandensein festzustellen, sondern auch welche Rolle sie in der allgemeinen Toxizität spielen.

Zu diesem Behufe boten sich uns verschiedene Wege dar:

1) Entfernung des Ammoniaks mit dem gewöhnlichen Mittel der Verdunstung der Filtrate, um sie sodann mit peptonisiertem Wasser zum Volumen zurückzuführen und neue Vibrionen auszusäen, um die schon degenerierten zu ersetzen; und dieses Mittel wendeten wir eben zuerst an. Wir mußten aber diesen schon eingeschlagenen Weg alsbald verlassen, denn da das Ammoniak sich sehr rasch und in bedeutender Menge bildet, waren die Vorgänge notwendigerweise sehr lang und ausführlich und folglich nicht fehlerlos und einwandfrei. Man muß auch bemerken, daß im besten Falle, ungeachtet der Konzentration, ein gewisses Quantum des Ammoniaks, vielleicht als Salz, im Residuum zurückbleibt. Dieses gewisse Quantum könnte für sich allein gewiß vernachlässigt werden, aber durch verschiedene aufeinanderfolgende Konzentrationen kann es sich ansammeln und nicht wenig auf das endgültige und totale Giftvermögen einwirken.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Bedeutung der bakteriologischen Befunde bei den im Verlaufe des Keuchhustens auftretenden Bronchopneumonien.

[Aus der Universitäts-Kinderklinik in der Kgl. Charité zu Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Heubner.]

Von Dr. **Paul Reyher.**

Mit 1 Tafel.

Wie bei allen bakteriologischen Untersuchungen von Sekreten der oberen Luftwege, so hatte auch das bakteriologische Studium des Keuchhustensputums zum Zwecke der Entdeckung des Keuchhustenerregers von vornherein mit der Schwierigkeit zu rechnen, daß durch die mannigfachen und oft recht zahlreichen in den oberen Teilen des Respirationstraktes saprophytisch vegetierenden pathogenen Keime die Erforschung des spezifischen Erregers auf einen falschen Weg gelenkt werden konnte. Die vielen verschiedenartigen Bakterien, welche bisher schon im Keuchhustensputum aufgefunden und als die mutmaßlichen Erreger des Keuchhustens angeschuldigt worden sind, tun aufs deutlichste dar, daß manche der bisherigen bakteriologischen Untersuchungen des Keuchhustensputums an dieser Schwierigkeit gescheitert sind. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß gerade der Verschiedenartigkeit der bis jetzt vorliegenden Ergebnisse der beim Keuchhusten angestellten bakteriologischen Untersuchungen es zuzuschreiben ist, wenn von dieser oder jener Seite behauptet wird, daß die ätiologische Forschung beim Keuchhusten noch nicht hinlängliche Klarheit darüber gebracht habe, welcher der seither beschriebenen Mikroben den Vorzug verdiene, als derjenige bezeichnet zu werden, der mit der größten Wahrscheinlichkeit eine ätiologische Rolle beim Zustandekommen des Keuchhustenparoxysmus spiele.

Indessen war die Klärung der hier vorliegenden Verhältnisse bis vor kurzer Zeit doch schon so weit gediehen, daß für alle diejenigen, welche sich eingehend mit der Frage nach der Aetiologie des Keuchhustens beschäftigt haben, ernstlich als Erreger dieser Infektionskrankheit nur ein dem Influenzabacillus ähnelndes Stäbchen in Betracht kommen konnte. Alle andersartigen Befunde, wie Protozoen, Kokken u. a. können ohne weiteres außer Acht gelassen werden, da sie einer Nachprüfung und strengen Kritik nicht standgehalten haben.

Ueber die näheren Eigenschaften dieses Stäbchens freilich war bislang eine völlige Uebereinstimmung der Meinungen nicht erzielt worden. Ein Teil der Autoren, zu denen auch ich mich in mehreren Arbeiten<sup>1)</sup> bekannt habe, hatte als wahrscheinlichen Erreger des Keuchhustens aus dem von den kranken Kindern ausgeworfenen Schleim ein kleines, plumpes, polgefärbtes Stäbchen isoliert, welches etwas größer ist als der Influenzabacillus, auf allen Nährböden wächst und sich gramnegativ verhält. Andere Untersucher, unter ihnen namentlich Jochmann,

1) Reyher, Zur Aetiologie und Pathogenese des Keuchhustens. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LVIII. 1903.) — Ein weiterer Beitrag zur Bakteriologie des Keuchhustens. (Charité-Annalen. 1904.) — Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten. (Verh. d. Gesellsch. f. Kinderheilk. Meran 1905.) — Zur Bakteriologie des Keuchhustens. (Berl. klin. Wochenschr. 1906.)

konnten als mutmaßlichen Erreger nur einen Bacillus züchten, welcher nach ihrer Beschreibung sich mit den heutigen Untersuchungsmethoden nicht vom Influenzabacillus differenzieren läßt und von Jochmann und seinen Mitarbeitern als Bacillus pertussis Eppendorf bezeichnet wurde.

Ein drittes, dem erstgenannten ganz ähnliches Stäbchen, welches von Manicatide<sup>1)</sup> als Bacillus z beschrieben wurde, unterscheidet sich nach der von Manicatide gegebenen Schilderung wohl nur durch sein positives Verhalten der Gram-Färbung gegenüber von dem zuerst gekennzeichneten Mikroben.

Um nun zu einem Urteil darüber zu gelangen, welches der genannten Kurzstäbchen mit größerer Berechtigung in Beziehung zur Aetiologie des Keuchhustens gesetzt werden darf, hatte ich schon vor einiger Zeit eingehende Untersuchungen der Bakterienflora sowohl des Sputums als auch bei Sektionen solche der oberen Luftwege vorgenommen und über deren Ergebnis bereits auf der Naturforscherversammlung in Meran 1905 berichtet. Auf Grund genauer Durchsichtung sehr zahlreicher mikroskopischer Präparate des Keuchhustensputums in den verschiedensten Perioden der Erkrankung, die ich, um einen Einblick in den Wechsel der Bakterienflora und deren Bedeutung zu gewinnen, namentlich immer wieder bei denselben Fällen ausführte, hatte ich die Ueberzeugung gewonnen, daß dem größeren, auf allen Nährmedien, aber sehr häufig recht schwierig kultivierbaren, gramnegativen Stäbchentypus vor allen anderen mit der größten Wahrscheinlichkeit eine ätiologische Bedeutung beim Keuchhusten beizumessen sei, und dieser Ueberzeugung auch bereits auf dem Kongreß in Meran Ausdruck gegeben. Daneben hatte ich allerdings auch den von Jochmann beschriebenen Bacillus pertussis Eppendorf gefunden, aber seine Identität mit dem Influenzabacillus als wahrscheinlich und seine ihm von Jochmann zuge dachte Rolle als Erreger des Keuchhustens als eine höchst unwahrscheinliche hingestellt.

Auf die Gründe, welche mich schon damals veranlaßt haben, dem von mir in allen Fällen von Keuchhusten nachgewiesenen Kurzstäbchen den Vorrang vor den influenzaartigen Bacillen Jochmanns zu geben, — seit Beginn meiner Untersuchungen, welche im Jahre 1902 in Angriff genommen wurden und sich nunmehr auf ein Material von über 200 Fällen stützen, habe ich diese Auffassung vertreten — werde ich später noch zurückkommen. Ich möchte an dieser Stelle nur späteren Untersuchungen gegenüber<sup>2)</sup> hervorheben, daß ich der erste gewesen bin, welcher auf das Verhältnis dieser beiden im Keuchhustensputum vorkommenden Stäbchenarten zur Aetiologie des Keuchhustens ein besonderes Augenmerk gerichtet, und, wie nachträgliche Untersuchungen bestätigt haben, allem Anschein nach richtig dargestellt hatte.

Ein wichtiges Beweisglied für seine Auffassung, in dem von ihm fast konstant gefundenen Bacillus pertussis Eppendorf den wahrscheinlichen Erreger der Keuchhustenerkrankung vor sich zu haben, erblickt nun Jochmann in dem fast regelmäßigen Vorkommen dieses Mikroben im Lungengewebe bei den im Verlaufe des Keuchhustens aufgetretenen Bronchopneumonien. Schließt er doch eine von ihm in Gemeinschaft

1) Manicatide, Ueber Aetiologie und Serotherapie des Keuchhustens. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XLV. 1903.)

2) Vergl. Bordet et Gengou, Le microbe de la coqueluche. (Annales de l'Inst. Pasteur. 1906 No. 9.)



mit Moltrecht veröffentlichte Arbeit<sup>1)</sup>, in welcher über diese Untersuchungen berichtet wird, mit dem Satze: „Jedenfalls ist nach unseren Befunden die Wahrscheinlichkeitsannahme nicht mehr unberechtigt, daß dem influenzaähnlichen Stäbchen *Bacillus pertussis* Eppendorf (Jochmann und Krause) bei der Keuchhustenerkrankung eine ätiologische Rolle zukommt, da er fast konstant im Keuchhustensputum vorkommt und fast in allen Fällen die komplizierenden Bronchopneumonien bedingt.“

Bei meinen eigenen seit beinahe 5 Jahren ununterbrochen fortgesetzten bakteriologischen Untersuchungen bei Keuchhusten habe ich nun gleichfalls häufig Gelegenheit gefunden, bei zur Sektion gelangten Fällen nicht nur, wie dies Pfeiffer<sup>2)</sup> bei Influenza und Jochmann mit Moltrecht<sup>3)</sup> bei Keuchhusten getan haben, etappenweise den ganzen Bronchialbaum auf ihren Bakteriengehalt zu prüfen, sondern auch bronchopneumonisch affizierte Lungenpartien histologisch und bakteriologisch zu untersuchen.

Was die von mir vorgenommene systematische Durchsichtung des Bronchialbaumes anbelangt, so hat diese zu einem von den Befunden Jochmanns und Moltrechts abweichenden Ergebnis geführt. Während nämlich diese Untersucher in Ausstrichpräparaten von Schleim des Kehlkopfes und der Trachea ein Gemisch von Streptokokken, dem *Lanceolatus* und ihrem *Bacillus pertussis* Eppendorf fanden und den letzteren, je mehr man in die tieferen Bronchien gelangte, um so überwiegender und reiner antrafen, konnte ich in den oberen Partien der Luftwege, zumal im Kehlkopf, außer anderen Keimen in überwiegender Zahl das von mir bisher beim Keuchhusten konstant gefundene größere Polbakterium und daneben in geringfügiger Menge ein vom Influenzabacillus nicht unterscheidbares Stäbchen nachweisen. Allerdings konnte auch ich konstatieren, daß das influenzaartige Stäbchen bzw. der *Bacillus pertussis* Eppendorf in den Fällen, bei denen der Keuchhusten durch eine Bronchopneumonie kompliziert war, um so mehr in dem bakteriologischen Bilde des Ausstrichpräparates vorherrschend war, je weiter man sich den feineren Verzweigungen des Bronchialbaumes näherte, um schließlich im Lungengewebe fast wie in Reinkultur zu erscheinen. Der prinzipielle Unterschied zwischen den Jochmannschen Untersuchungen und den meinigen besteht also darin, daß ersterer abgesehen von anderen Keimen nur seinen *Bacillus pertussis* Eppendorf und zwar in von oben nach unten zunehmender Menge auffinden konnte, während ich im Kehlkopf das von mir beschriebene Kurzstäbchen vorherrschend antraf und daneben nur eine unbeträchtliche Zahl der dem Influenzabacillus gleichenden Stäbchen. In den unteren Abschnitten des Respirationstraktes konnte ich indessen annähernd den gleichen Befund wie Jochmann erheben.

Immerhin waren aber doch in dem eitrigen Exsudat, welches aus den feinen Bronchien der bronchopneumonisch infiltrierten Lungenherde entnommen worden war, hier und dort auch vereinzelt Exemplare des größeren Stäbchentypus und einiger anderer Mikroorganismen, zumal von Diplokokken anzutreffen.

1) Jochmann u. Moltrecht, 20 Fälle von Bronchopneumonie bei Keuchhustenkindern, hervorgerufen durch ein influenzaartiges Stäbchen: *Bacillus pertussis* Eppendorf. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903.)

2) Pfeiffer, R., Die Aetiologie der Influenza. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXV.)

3) loc. cit.

Im übrigen stimmen meine Untersuchungen der bronchopneumonischen Partien des Lungengewebes, im besonderen was das histologische Verhalten anbetrifft, vollkommen mit den Feststellungen von Jochmann und Moltrecht überein.

In dem Parenchymsaft des affizierten Lungengewebes, besonders reichlich aber in dem eitrigen Inhalt der feineren Bronchien, ließ sich sowohl im Ausstrich als auch durch das Kulturverfahren ein von dem Influenzabacillus nicht zu unterscheidendes Stäbchen in erheblicher Menge neben spärlichen anderen Mikroorganismen nachweisen. Auch in Schnittpräparaten der Lunge, welche ich vorzugsweise mit Lithionkarmin und Gentianaviolett gefärbt hatte, wurden diese Stäbchen in großer Zahl und oft in Häufchen aufgefunden und zwar auch hier wiederum am reichlichsten innerhalb des Lumens der Bronchien (vergl. Fig. 4), die oft mit eitrigem Inhalt ausgefüllt erschienen, außerdem aber auch zwischen den Bronchialepithelien und im infiltrierten peribronchialen Gewebe und schließlich mitunter auch in den Alveolen.

Die histologischen Veränderungen der Lungen entsprechen, wie auch schon Jochmann und Moltrecht hervorhoben, denjenigen, wie sie bei der Beschreibung der Influenzapneumonie geschildert zu werden pflegen. Da dieselben des näheren in der Jochmannschen Arbeit mitgeteilt worden sind, kann ich hier auf eine eingehendere Darstellung der pathologisch-anatomischen Veränderungen verzichten.

Während ich nun in Bezug auf die bakteriologischen Befunde bei den im Verlaufe des Keuchhustens einsetzenden Bronchopneumonien zu Ergebnissen gelangt bin, welche mit den von Jochmann und Moltrecht gewonnenen im wesentlichen übereinstimmen, muß ich gegenüber der Deutung dieser Untersuchungsergebnisse eine gänzlich andere Stellung einnehmen, als es jene Autoren getan haben. Trotz des massenhaften und fast ausschließlichen Vorkommens der influenzaartigen Bacillen in dem bronchopneumonisch erkrankten Lungengewebe sehe ich mich auch jetzt noch veranlaßt, an der von mir bisher unentwegt vertretenen Anschauung festzuhalten und lediglich den größeren, auf allen Nährböden (allerdings wie ich immer betont habe, überall verhältnismäßig schlecht) gedeihenden Kurzstäbchen eine ätiologische Rolle beim Keuchhusten zuzuschreiben, wenn überhaupt eine der beiden Stäbchenarten als ätiologischer Faktor für den Keuchhusten in Frage kommt.

Zur Rechtfertigung dieser Auffassung will ich jetzt auf die Gründe zurückkommen, welche ich bereits bei meinen Ausführungen auf der Naturforscherversammlung in Meran zu Gunsten dieser Anschauung dargelegt habe. Schon damals hatte ich bei meinen Untersuchungen feststellen können, daß der von mir in früheren Veröffentlichungen als der mutmaßliche Erreger des Keuchhustens angesprochene Bacillus, welchen ich der einfacheren Darstellung halber als den größeren Typus bezeichnet hatte, konstant im Keuchhustensputum angetroffen werden konnte, während ich den dem Influenzabacillus gleichenden Mikroben, also den kleineren Typus, unter 30 Fällen nur 25mal nachweisen konnte. Schon dieser Umstand sprach dafür, daß der erstere mit mehr Berechtigung als der etwaige Erreger des Keuchhustens angesehen werden dürfte, als der letztere. Diese Annahme gewann aber noch mehr an Begründung, wenn man berücksichtigte, daß, wie sich herausgestellt hatte, gerade in jenen 5 Fällen, in welchen nur der größere Typus und zwar in reichlicher Menge vorhanden war, es sich um solche Erkrankungen gehandelt hatte, in welchen das Sputum noch im katarrhalischen Stadium kurz vor

Beginn des konvulsivischen Stadiums untersucht worden war. Hier fanden sich die größeren Stäbchen in großer Menge in Haufen freiliegend in dem ausgehusteten Schleime vor. Wie nun eine vergleichende Untersuchung der Deckglasausstrichpräparate des Sputums in den verschiedenen Stadien der Erkrankung ergeben hatte, ließen sich nur im katarrhalischen Stadium bis zum Beginn der Keuchhustenparoxysmen die größeren Polbakterien ausschließlich freiliegend antreffen, während im konvulsivischen Stadium entschieden ihr Vorhandensein in Plattenepithelien überwog, die häufig damit wie vollgepfropft erschienen. Ich hatte weiterhin schon seinerzeit darauf hingewiesen, daß im konvulsivischen Stadium nur die größeren Stäbchen in Plattenepithelien eingeschlossen lagen und daß die kleineren in unkomplizierten Fällen (um solche hatte es sich damals fast ausschließlich gehandelt) an Menge gegenüber den größeren gewöhnlich zurücktraten. Auch meine schon damals angeführten Untersuchungen von Schnittpräparaten des Larynx, in welchen die in der Regio interarytaenoidea, d. h. an einer der Hustenreflexstellen, vorhandenen Plattenepithelien mit den größeren Polbakterien vollkommen angefüllt erschienen (vergl. Fig. 6), und zwar in derselben Weise, wie dies in Deckglasausstrichpräparaten des Sputums aus dem konvulsivischen Stadium gewöhnlich beobachtet werden kann, ließen die Wahrscheinlichkeit einer ätiologischen Bedeutung der größeren Polbakterien für die Entstehung des Keuchhustens noch wachsen. Bedenkt man schließlich noch, daß ich in einigen Fällen von Keuchhusten bei Erwachsenen nur die größeren Stäbchen und niemals die influenzaähnlichen kleineren nachweisen konnte, so gewinnt die Auffassung immer mehr an Boden, daß, wenn überhaupt einer der beiden Mikroben für die Entstehung des Keuchhustens verantwortlich gemacht werden kann, dem größeren Typus diese Rolle mit weit größerer Wahrscheinlichkeit zuerkannt werden muß als dem kleineren.

Noch beweisender aber stellen sich die Verhältnisse dar, wenn man bei einem geeigneten Falle vom Beginne des katarrhalischen Stadiums an in gewissen Intervallen das Sputum sorgfältig untersucht, um sich so ein Bild von dem Wechsel der Bakterienflora in den verschiedenen Perioden der Erkrankung in einem einzelnen Falle zu machen und zu einem Urteil über die Bedeutung der verschiedenen im Sputum anzutreffenden Bakterienarten zu gelangen. Bei der Vergleichung der Sputumpräparate aus den einzelnen Stadien des Keuchhustens hatte ich wiederholt Gelegenheit, dieselbe Beobachtung zu machen.

An der Hand eines diese Verhältnisse recht anschaulich demonstrierenden Falles möchte ich hier ein Bild der im Verlaufe des Keuchhustens wechselnden Bakterienflora des untersuchten Sputums entrollen. Ich bemerke, daß ich zu solchen Untersuchungen niemals während meiner Abwesenheit ausgeworfenen Schleim benutzt habe, sondern besonderen Wert darauf gelegt habe, nur solche Sputumpartikel zu verwenden, welche bei der Besichtigung des Rachens durch Husten aus der Tiefe der Luftröhre emporgeschleudert worden waren.

Die bakteriologische Untersuchung des Sputums in dem oben erwähnten Falle, bei welchem es sich um ein vorher gesundes 8-monatliches Brustkind handelte, zu verschiedenen Zeiten ergab folgendes Resultat. In dem ersten Präparate (vergl. Fig. 1), welches, wie gesagt, in den ersten Tagen der Erkrankung kurz vor dem Auftreten der ersten ausgesprochenen Anfälle angefertigt wurde, zeigte sich in großen Zügen freiliegend fast wie in Reinkultur nur der größere Typus. Man sieht, worauf ich schon früher öfters aufmerksam gemacht habe, daß die

Stäbchen eine mehr gedrungene und ziemlich regelmäßige Form haben mit schön abgerundeten Enden im Gegensatz zu den feinen schlankeren polymorphen Influenzabacillen mit oft zugespitzten Enden. Die letzteren dagegen konnten in dem zur Herstellung des Präparates benutzten Sputum weder mikroskopisch noch kulturell trotz eifrigsten Suchens nachgewiesen werden.

Es ist dieser Befund insofern höchst bemerkenswert, als gerade er in hohem Grade beweisend ist für die Ueberlegenheit eben des größeren Stäbchens gegenüber der Frage nach der ätiologischen Bedeutung der beiden Stäbchenarten für den Keuchhusten. Denn man muß annehmen, daß das Keuchhustensputum in den ersten Tagen der Erkrankung, in welchen das Bild noch nicht durch etwa nachträglich eingewanderte Mikroorganismen verwischt wird, den spezifischen Erreger am reinsten beherbergen wird.

Während nun das Bild des Sputums im ersten Präparat an allen Stellen sich ungefähr so darbot, wie es in Fig. 1 dargestellt ist, zeigte ein nach 8 Tagen von demselben Fall gewonnenes Deckglasausstrichpräparat ein ganz anderes Aussehen. In den meisten Gesichtsfeldern erschienen in ziemlich beträchtlicher Menge und gleichfalls beinahe wie in Reinkultur kleinere Diplokokken (vergl. Fig. 2), vermutlich die Pfeifferschen Katarrhalkokken. An vereinzelt Stellen hingegen (vergl. Fig. 3) bemerkte man eine Plattenepithelzelle, welche mit den Stäbchen des größeren Typus angefüllt war, daneben nur vereinzelt freiliegende Individuen dieser Bakterienart und, was sehr wichtig ist, jetzt zum ersten Male auch einige Exemplare des influenzaartigen Stäbchens (bezw. des *Bacillus pertussis* Eppendorf). Die Kultur lieferte ein diesem Verhalten analoges Ergebnis. Es verdient hervorgehoben zu werden, daß im vorliegenden Falle die influenzaähnlichen Stäbchen erst im Keuchhustensputum erscheinen, nachdem bereits seit einer Woche heftige Keuchhustenanfälle bestanden haben. Je weiter die Erkrankung nun fortschritt, um so zahlreicher wurden die mit den größeren Bacillen vollgepfropften Zellen, um schließlich gegen Ende des Keuchhustens wieder spärlicher zu werden. Die influenzaartigen Stäbchen waren im vorliegenden Falle, welcher ohne Komplikation verlief, immer nur in untergeordneter Menge vorhanden. In anderen Fällen aber wurden neben dem konstanten Befund der beschriebenen Plattenzellen gelegentlich die letzteren im vorgeschrittenen Stadium in größerer Menge angetroffen, in besonders reichlicher Menge dann, wenn der Keuchhusten durch eine diffuse Bronchitis oder eine Bronchopneumonie kompliziert war. In solchen Fällen hatte das vorher glasige, mehr schleimige Sputum eine mehr oder weniger eitrig Beschaffenheit angenommen. Wie sich das Bild des Sputums an sehr vielen Stellen ausnimmt, wenn eine Bronchopneumonie zum Keuchhusten zugetreten ist, veranschaulicht Fig. 5 der beigegebenen Tafel. Hier überwiegen die influenzaartigen Stäbchen ganz beträchtlich.

In Fig. 4 erblickt man einen Teil eines Schnittes durch eine bronchopneumonisch affizierte Lungenpartie. Man sieht in der Mitte des Gesichtsfeldes das Lumen eines schräg getroffenen Bronchiolus, welches von eitrigem Inhalt erfüllt ist. Die dunkleren Punkte innerhalb des eitrig Exsudats entsprechen Anhäufungen der dem Influenzabacillus gleichenden Mikroben. Zum Schlusse sei noch in Fig. 6 ein Querschnitt durch den Larynx in der Höhe der Stimmbänder wiedergegeben. Die im Gesichtsfeld erscheinende Partie des Präparates gehört der Regio

interarytaenoidea an. Man kann in der Mitte des Mikrophotogramms in dem hier vorhandenen geschichteten Pflasterepithel 4 Plattenzellen erkennen, welche in der oben geschilderten, für das konvulsivische Stadium charakteristischen Weise mit den Stäbchen des größeren Typus vollständig angefüllt sind.

Wenn man von diesen Gesichtspunkten aus die Bedeutung der bakteriologischen Befunde bei den im Verlaufe des Keuchhustens eintretenden Bronchopneumonien beurteilt, wird es ohne weiteres verständlich, daß man zu einem anderen Schlusse gelangen muß, als Jochmann und Moltrecht aus ihren Erhebungen gezogen haben.

Bedenkt man, daß nach den oben mitgeteilten wiederholt gemachten Beobachtungen der influenzaähnliche Bacillus erst längere Zeit nach dem Beginn des Keuchhustens, das größere, auf allen Nährböden wachsende Stäbchen aber schon in den ersten Tagen der Erkrankung und zwar in großer Menge und bei günstigen Fällen fast wie in Reinkultur im Sputum nachgewiesen werden kann, dann dürfte wohl die Auffassung berechtigt sein, daß der letztere eher als der Erreger des Keuchhustens angesehen werden darf als der erstere, daß aber das influenzaartige Stäbchen Bacillus pertussis Eppendorf offenbar mit dem Influenzabacillus identisch ist und daß demnach es sich in allen Fällen, in denen sein Auftreten beobachtet wird, um eine Sekundärinfektion mit Influenzabacillen handelt. Insbesondere dürften die komplizierenden eitrigen Bronchitiden und Bronchopneumonien bei Keuchhusten einer sekundären Infektion mit Influenzabacillen ihre Entstehung verdanken.

Dieser Schluß erscheint um so mehr als begründet, als wir ja seit den Untersuchungen von Jehle<sup>1)</sup>, Süßwein<sup>2)</sup>, Leiner<sup>3)</sup>, Auerbach<sup>4)</sup> u. a. wissen, daß gerade der Influenzabacillus sehr häufig im Kindesalter, zumal bei den Infektionskrankheiten, sekundäre Infektionen bewirkt. Und daß gerade beim Keuchhusten eine solche Sekundärinfektion mit Influenzabacillen außerordentlich häufig eintritt, kann um so weniger befremden, als ja gerade der Keuchhusten mit seinen chronischen Alterationen der Schleimhäute der Luftwege für eine solche besonders günstige Bedingungen darbieten muß.

Im übrigen stimmen ja auch die pathologisch-anatomischen Veränderungen der Keuchhustenbronchopneumonien mit den für Influenzopneumonien charakteristischen überein; und nicht nur diese, sondern auch die klinischen Erscheinungen (Hervortreten nervöser Symptome) erinnern mitunter an die bei Influenza auftretenden Bronchopneumonien.

Nächst dem Keuchhusten scheinen am meisten die Masern, bei denen ja gleichfalls die im Vordergrund der Erscheinungen stehenden Katarrhe der Schleimhäute der Respirationsorgane ein nachträgliches Ansiedeln der Influenzabacillen wohl erleichtern, zu einer Sekundärinfektion mit diesen Mikroben zu disponieren.

In dieser Hinsicht ist auch die von mir gemachte Beobachtung von Interesse, daß ich beim Keuchhusten von Erwachsenen im Sputum

1) Jehle, Ueber die Rolle der Influenza als Mischinfektion bei den exanthematischen Erkrankungen und das Vorkommen von Influenzabacillen im Blut. (Zeitschr. f. Heilk. Bd. XII. 1901.)

2) Süßwein, Die Influenza bei Masern. (Wiener klin. Wochenschr. 1901. No. 47.)

3) Leiner, Ueber Influenza als Mischinfektion bei Diphtherie. (Wiener klin. Wochenschr. 1901. No. 41.)

4) Auerbach, Ueber den Befund von Influenzabacillen in Tonsillen und Larynx. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVII. 1904.)

niemals Influenzabacillen auffinden konnte, ein Befund, der sehr gut sich mit der Erfahrung in Einklang bringen läßt, daß beim Erwachsenen die Sekundärinfektion mit Influenzabacillen nur eine geringe Rolle spielt.

Die Auffassung, daß die Influenzabacillenbefunde beim Keuchhusten nur die Bedeutung einer Sekundärinfektion mit diesen Mikroorganismen haben, hat nun aber nicht allein theoretisches Interesse, sondern ist zugleich von praktischer Wichtigkeit und zwar sowohl in Bezug auf die Prognose des einzelnen Falles als auch in prophylaktischer Beziehung. Auf Krankensälen, in denen keuchhustenkranke Kinder nebeneinander liegen, kann man gelegentlich die Erfahrung machen, daß unmittelbar im Anschluß an die Einlieferung eines mit Bronchopneumonie behafteten keuchhustenkranken Kindes bei den im gleichen Raume liegenden anderen Kindern bronchopneumonische Affektionen gehäuft auftreten. Es ist nach den obigen Auseinandersetzungen nicht unwahrscheinlich, daß von dem neu eingelieferten Kinde eine Uebertragung vielleicht höher virulenter Influenzabacillen auf seine Nachbarn stattfindet und bei diesen das Entstehen von Bronchopneumonien veranlaßt. Es dürfte deshalb vielleicht eine strengere Isolierung von keuchhustenkranken Kindern mit Komplikationen seitens der Respirationsorgane (vielleicht nach dem Boxensystem) wohl der Erwägung wert sein.

Zum Schlusse möchte ich noch kurz die bereits in meinen früheren Arbeiten beschriebenen hauptsächlichsten morphologischen und kulturellen Merkmale des von mir immer bei Keuchhusten gefundenen Stäbchens wiederholen, durch welche dieses sich als eine vom Influenzabacillus wohl zu unterscheidende Bakterienspezies charakterisiert.

Schon morphologisch läßt sich unser Mikrobe nicht nur durch die Größe, sondern auch durch die Form mit Sicherheit vom Influenzabacillus abgrenzen. Wie ich bereits wiederholt hervorgehoben habe, ist er durchweg deutlich größer als der Influenzabacillus (durchschnittlich  $0,3-0,4:0,8-1,0 \mu$ ) und zwar tritt dieser Unterschied in der Größe sowohl im Sputumausstrich, als auch bei der Kultur auf allen Nährböden aufs deutlichste hervor.

Was die Form anlangt, so zeigt er dem feineren schlanken Influenzabacillus gegenüber eine mehr plumpe gedrungene Form und zeichnet sich, zumal in der ersten Kultur, durch eine mehr regelmäßige Gestaltung der einzelnen Individuen aus, während ja bekanntlich die Influenzabacillen gerade in der Kultur eine ausgesprochene Polymorphie erkennen lassen.

Die kürzeren Formen haben fast das Aussehen von Kokken, mitunter beobachtet man ovoide Gestalt, die längeren zeigen bei geeigneter Färbung eine stärkere Färbung der Enden (Polfärbung). Manche dieser längeren Stäbchen besitzen in der Mitte eine leichte Einkerbung (Biskuitform), wahrscheinlich handelt es sich bei ihnen um in Teilung begriffene Individuen. Alle diese Formen lassen sich in Fig. 1 deutlich erkennen.

Die erste Kultur dieser Stäbchen bereitet in den meisten Fällen, zumal wenn es sich um Sputum von Kindern mit länger bestehendem Keuchhusten handelt, große Schwierigkeiten. Hat man es aber mit Fällen zu tun, in denen das aus dem Beginn der Erkrankung stammende Sputum wie in Fig. 1 unsern Bacillus in reichlicher Menge und fast wie in Reinkultur enthält, so gelingt auch die erste Kultur mitunter verhältnismäßig leicht.

Im ersteren Falle gehen auf der mit dem Sputum beschickten Blutserumplatte, wie ich schon früher mittels Klatschpräparaten nachgewiesen

habe, nur sehr wenige und ganz winzige Kolonien auf, die mit dem bloßen Auge kaum zu entdecken sind. Es ist aus diesem Grunde auch begreiflich, daß diese spärlichen und winzigen Kolonien von manchen Autoren übersehen worden sind. Zuweilen sind bei einer Anzahl dieser Kolonien, wie man aus Klatschpräparaten ersehen kann, die koloniebildenden Stäbchen schlecht färbbar, also offenbar abgestorben, so daß die Schwierigkeit der weiteren Uebertragung sich auf diese Weise leicht erklärt.

Aber selbst unter günstigen Bedingungen ist das Wachstum der Polbakterien auf den gewöhnlichen Nährböden nur ein verhältnismäßig dürftiges. Die einzelnen Kolonien erreichen meistens noch nicht die Größe von einem Millimeter im Durchmesser. Auch entspricht die Anzahl der aufgegangenen Kolonien nicht im entferntesten der Menge der im Sputum nachweisbaren Bacillen.

Auf Löfflerschem Blutserum, auf welchem die Stäbchen vollkommen dasselbe Aussehen wie im Sputum zeigen, erscheinen in der ersten Kultur die winzigen Kolonien in Form ein wenig flach gewölbter, fast runder, durchsichtiger, wasserheller Tröpfchen. Impft man auf ein Serumröhrchen über, so ist häufig auch in der zweiten und dritten Kultur das Wachstum noch ein sehr geringes. Bei oberflächlicher Betrachtung erscheint sogar das Röhrchen steril. Erst bei genauem Zusehen erkennt man, daß auf der schrägen Fläche des Serumröhrchens außerordentlich kleine, wasserhelle, isoliert stehende Kolonien in geringer Menge aufgegangen sind, welche auch bei mehrtägigem Verweilen im Brutschrank kaum an Größe zunehmen. Mitunter bleibt nun das Wachstum bei weiteren Uebertragungen ein gleich dürftiges und macht schließlich nach einigen Generationen die Fortzucht unmöglich. Die Hinfälligkeit des Bakteriums geht auch daraus hervor, daß häufig nach 48 Stunden die Ueberimpfung überhaupt nicht mehr gelingt.

Mitunter allerdings scheinen bei weiteren Uebertragungen die Stäbchen sich an den Nährboden anzupassen und gestatten dann bei der Fortsetzung der Ueberimpfung ein immer üppigeres Wachstum, so daß man einen allerdings immer noch zarten, aus dichtstehenden kleinen Kolonien sich bildenden Belag erzielen kann.

Im allgemeinen scheint das Wachstum um so besser zu sein, je feuchter der Nährboden ist.

Auf Agar, Glycerinagar, Traubenzuckeragar gedeihen die Bakterien gleichfalls und bilden hier ebenso sehr winzige, runde, durchsichtige Kolonien.

Auf mit Blut bestrichenem Agar ist das Wachstum nicht besser als auf gewöhnlichem Agar.

Gelatine wird nicht verflüssigt. In der Stichkultur bildet sich eine zarte, durchscheinende gekörnte Trübung. In der Strichkultur ist das Wachstum dem auf Agar ähnlich.

Bouillon wird nach einem Tage nicht getrübt. Am Boden setzt sich ein Sediment ab, welches sich beim Umschütteln wie Schleim erhebt und sich bei kräftigem Schütteln vollkommen zerteilt.

Ob wir in dem vorstehend geschilderten Stäbchen den wirklichen Erreger des Keuchhustens zu erblicken haben oder nicht, wird erst die Zukunft lehren. Jedenfalls spricht mancherlei zu seinen Gunsten. Den exakten Beweis seiner etwaigen Spezifität werden wir aber wohl nur von Uebertragungsversuchen auf Tiere mit dem Ergebnis der Erzeugung des typischen Krankheitsbildes zu erwarten haben.

**Erklärung der Abbildungen.**

Fig. 1. Keuchhustensputum aus dem katarrhalischen Stadium (soeben beginnendes konvulsivisches Stadium): Polbakterien (größerer Typus) wie in Reinkultur. Vergr. 1000-fach.

Fig. 2. Keuchhustensputum aus dem konvulsivischen Stadium von demselben Falle wie in Fig. 1 (8 Tage später): Ueberwiegend Diplokokken. Vergr. 800-fach.

Fig. 3. Dasselbe Sputum wie in Fig. 2 (andere Stelle): In der Plattenzelle die größeren Polbakterien, daneben einige wenige (z. B. in der Mitte ganz unten) influenzaartige Bacillen. Vergr. 800-fach.

Fig. 4. Schnitt durch bronchopneumonisch affizierte Lungenpartie von einem an Bronchopneumonie nach Keuchhusten verstorbenen Kinde. Vergr. 100-fach.

Fig. 5. Keuchhustensputum zur Zeit einer komplizierenden Bronchopneumonie: fast ausschließlich im Gesichtsfeld influenzaartige Stäbchen. Vergr. 1000-fach.

Fig. 6. Querschnitt durch Larynx in der Höhe der Stimmbänder. Regio interarytaenoidea. Plattenzellen mit den größeren Stäbchen vollgepfropft. Vergr. 800-fach.

*Nachdruck verboten.*

**Uebertragung der Tollwut durch die Nasenschleimhaut.**

Von Prof. **Claudio Fermi**.

Da ich über ein fixes Virus verfügte, welches, wie das aus dem Antirabischen Institute zu Sassari, fähig ist, zum Unterschiede von so vielen anderen Virusarten, sowohl die Muriden als auch andere Tiere auf subkutanem oder auf endermischem Wege zu infizieren, wollte ich auch versuchen, ob es fähig sei, die Tiere durch die gesunde Schleimhaut hindurch zu infizieren.

Diese Frage wartet noch immer ihrer Lösung, denn wenn auch Galtier einige positive Fälle bei Kaninchen erzielte, die durch Inhalation oder durch Anblasen des Infektionsmaterials direkt auf die Nasenschleimhaut infiziert worden waren, wird doch die Uebertragung der Tollwut auf diesem Wege in den Abhandlungen und in den Monographien über die Hydrophobia angezweifelt.

Auch der Fall einer Infektion per viam nasalem, den Pane bei einem an jenem Teile von einem wutkranken Hunde geleckten Individuum beschreibt, dient zur Aufrechterhaltung des Zweifels bezüglich dieser Frage und steigert noch das Interesse.

In dieser vorläufigen Mitteilung beschränke ich mich auf die Anführung der ersten in dieser Hinsicht angestellten Versuche. Zu Vergleichszwecken versuchte ich die Uebertragung der Wut auch durch andere intakte Schleimhäute, wie z. B. auf die Schleimhaut der Augenbindehaut, der Scheidenschleimhaut u. s. w.

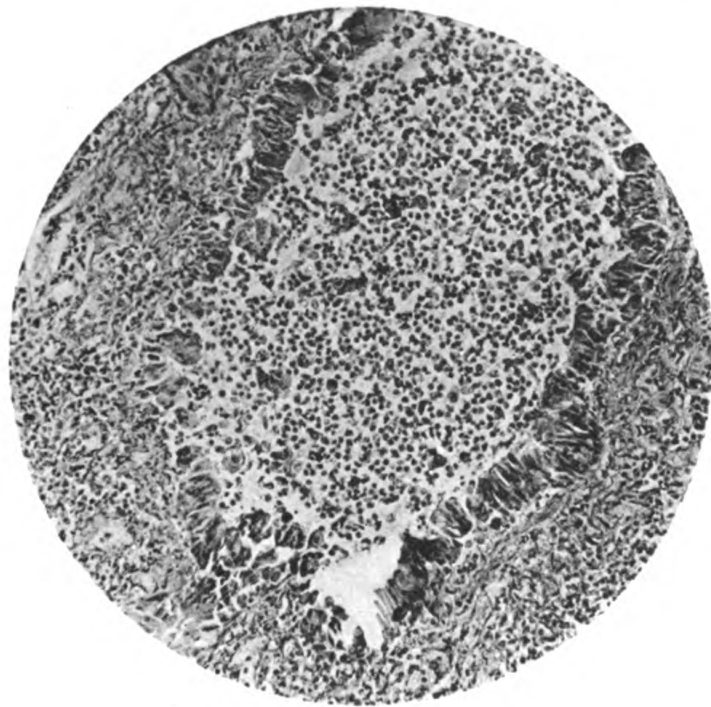
Versuchsmethode. 3 Tage nacheinander, einmal täglich, benetzte ich die Partie mit einer Emulsion von fixem Virus zu 5 Proz. Diese Operation wurde stets mit der größten Vorsicht vorgenommen, um absolut jede Verwundung oder Abschabung des Epithels zu vermeiden.

**I. Nasenschleimhaut.**

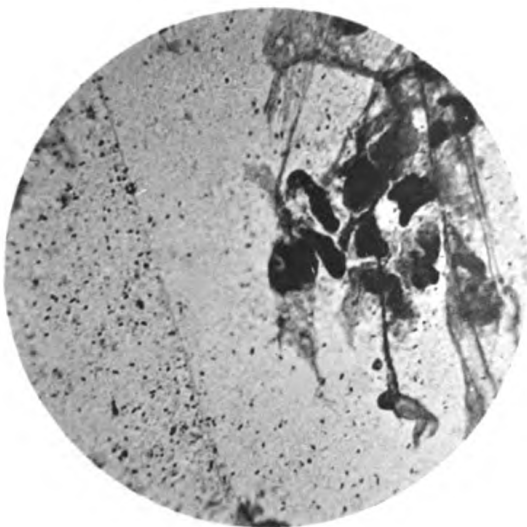
1. Versuch. 2. Febr. 1907. 2 schwarze Ratten werden dreimal 3 Tage hintereinander mit fixem Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Sassari auf die Nasenschleimhaut infiziert.

Resultat. Die beiden Ratten zeigen am 8. Febr. um 5 Uhr nachmittags Paralyse und verenden am 9. Febr. um 4 Uhr, d. h. nach 7 Tagen.

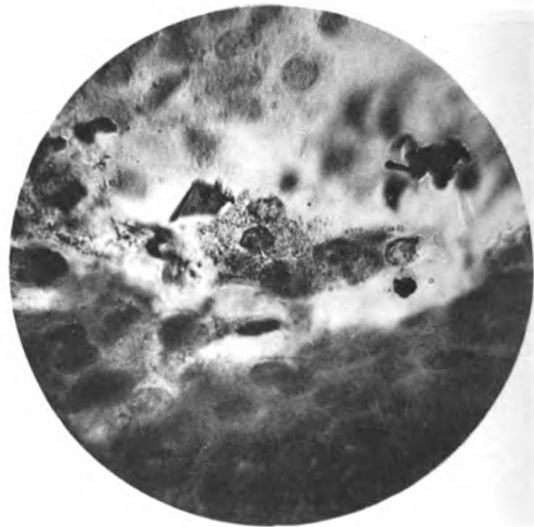




4



5



6

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**

Reproduktion von J. B. Obernetter, München.



2. Versuch. 8. Febr. 1907. 2 schwarze Ratten werden dreimal 3 Tage hindurch mit fixem Virus auf die Nasenschleimhaut infiziert.

Resultat. Die beiden Ratten zeigen am 16. Febr. um 10 Uhr vormittags Paralyse und gehen am 17. Febr. um 8 Uhr vormittags ein, also nach 9 Tagen.

3. Versuch. 25. Febr. 1907. 2 Kaninchen wurden 3 Tage hindurch, täglich dreimal, das eine mit fixem und das andere mit Straßenvirus auf die Nasenschleimhaut infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

4. Versuch. 27. Febr. 1907. 2 Meerschweinchen werden 3 Tage hindurch, dreimal täglich, das eine mit fixem Virus, das andere mit Straßenvirus auf die Nasenschleimhaut infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

## II. Augenbindehautschleimhaut.

1. Versuch. 8. Febr. 1907. 2 schwarze Ratten werden 3 Tage lang, dreimal täglich, mit fixem Virus auf die Schleimhaut der Conjunctiva infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

2. Versuch. 12. Febr. 1907. 2 weiße Mäuse werden 3 Tage hindurch, dreimal täglich, mit fixem Virus auf die Schleimhaut der Conjunctiva infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

## III. Scheidenschleimhaut.

3. Versuch. 8. Febr. 1907. 2 schwarze Ratten werden 3 Tage hindurch, dreimal täglich, mit fixem Virus auf die Scheidenschleimhaut infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

4. Versuch. 12. Febr. 1907. 2 weiße Mäuse werden 3 Tage hindurch, dreimal täglich, mit fixem Virus auf die Scheidenschleimhaut infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

## IV. Eichel.

5. Versuch. 8. Febr. 1907. 2 schwarze Ratten werden 3 Tage hindurch, dreimal täglich, mit fixem Virus an der Eichel infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

6. Versuch. 12. Febr. 1907. 2 weiße Mäuse werden 3 Tage hintereinander, dreimal täglich, an der Eichel mit fixem Virus infiziert.

Resultat. Die Tiere bleiben am Leben.

## Schlußfolgerungen.

Aus den verschiedenen in dieser Hinsicht unternommenen Versuchen geht hervor:

1) Daß sämtliche Muriden und besonders die schwarzen Ratten, bei denen mit der größten Vorsicht die Nasenhöhle mit einer Emulsion von fixem Virus aus Sassari benetzt wurde, an Tollwut zu Grunde gingen.

2) Daß ein Teil der Ratten am 6. Tage Paralyse aufwies und am 7. Tage zu Grunde ging und andere am 8. Tage Paralyse aufwies und am 9. Tage, folglich mit einer Verspätung von ein paar Tagen, zu Grunde gingen.

3) Daß die auf gleiche Weise und auf demselben Wege infizierten

Kaninchen und Meerschweinchen am Leben blieben. Dies beweist wieder einmal die größere Empfänglichkeit der Ratten gegenüber den Kaninchen und gegenüber der Empfindlichkeit der Meerschweinchen.

4) Daß die Ratten und die Mäuse ebenso wie die Meerschweinchen und die Kaninchen, die an der Conjunctiva, der Scheide und an der Eichel infiziert wurden, sämtlich am Leben blieben.

5) Daß die Nasenschleimhaut, wenigstens den oben angeführten Forschungen nach, für das Wutvirus durchdringlicher ist als alle anderen Schleimhäute.

6) Daß, wenn ein Zweifel besteht, ob ein Individuum auf der einen oder der anderen Weise, auf dem Wege der Nase infiziert worden sei, stets die Pasteursche Kur anzuraten ist.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die Filtrierbarkeit der Schweinepestbacillen (*Bac. suipestifer*).

[Veröffentlichungen aus dem Reichsseruminstitut in Rotterdam.]

Von **Louis F. D. E. Lourens** aus Delfshaven (Holland),  
Unterdirektor des Reichsseruminstitutes in Rotterdam.

Mit 5 Figuren.

(Fortsetzung.)

Ein drittes Ferkel, 5 Monate alt, wurde mit filtriertem, verdünntem Blutserum, genommen vom ersten Ferkel zur Zeit, als es bedeutend krank war, eingespritzt. Nach 3 Tagen war auch das Tier schwer krank, nach 8 Tagen trat Diarrhöe ein, nach 12 Tagen wurde es getötet. Bei der Sektion ergab sich eine Lungenaffektion, wie beim ersten, jedoch ohne nekrotische Herde; weiter ein akuter Magendarmkatarrh mit angeschwollenen Follikeln, akute Anschwellung der mesenterialen Lymphdrüsen und punktförmige Blutungen in den Nieren. Bakteriologisch wurden in den Nieren bipolare Bacillen und *Coli*-artige Bacillen gefunden, in dem Blut und den mesenterialen Drüsen nur letztere (*Bac. suipestifer*?).

Ein viertes Ferkel, 2 Wochen alt, wurde mit filtriertem, verdünntem Blutserum des zweiten Versuchsschweines, als dieses Tier sehr krank war, eingespritzt. Nach 4 Tagen zeigte es Fieber, Mangel an Freßlust, später Husten; nach etwa 14 Tagen trat allmählich Wiederherstellung ein. Später wurde dieses Tier noch einmal mit gleichem Filtrat eingespritzt, ohne daß eine Reaktion folgte.

Das fünfte Ferkel, ebenfalls 2 Wochen alt, eingespritzt wie das vierte, war nach 4 Tagen bedeutend krank. Temperatur 41° C, am folgenden Tage tot. Bei der Sektion fand sich viel hellgelbe seröse Feuchtigkeit im Herzbeutel, punktförmige Blutungen auf dem Pericardium und in den Nieren; akute Anschwellung der Milz und der Lymphdrüsen. Bakteriologisch wurde ein *Coli*-artiger Bacillus erzeugt. Nach diesen Versuchen kommt Hutyrá nicht zu einem bestimmten Schlusse. Das ursprüngliche Schwein kam zwar aus einer mit Schweinepest infizierten Umgebung, zeigte aber bei der Sektion bloß Erscheinungen der Brustseuche. So stellt sich nun die Frage, ob nicht auch die Brust-

seuche von einem ultramikroskopischen Organismus erzeugt wird. Weiter zeigt er an, daß der Beweis, daß die amerikanische Schweinepest von einem filtrierbaren Agens verursacht wird, erst dann geliefert ist, wenn außer einer hämorrhagischen Septikämie auch die typische diphtheritische Darmaffektion verursacht werden kann.

Ostertag<sup>1)</sup> hat im Mai 1904 Versuche angestellt über die Filtrierbarkeit von Schweinepest, ausgehend von Schweinen, welche mit subakuter und chronischer Schweinepest behaftet gewesen waren.

Eingespritzt wurde filtriertes Blutserum von pestkranken Schweinen, ferner das Filtrat aus einem Extrakt von Darmgeschwüren, von Knöpfen (Boutons) und nekrotischen Mesenterialdrüsen versetzt mit Bouillon. Bei keinem der eingespritzten Versuchsferkel, welche nach einigen Tagen Fieber zeigten, übrigens aber völlig gesund blieben, konnte bei der Schlachtung pathologisch-anatomische Veränderung nachgewiesen werden. Nach diesen Versuchen würde also die in Deutschland auftretende Schweinepest nicht von einem filtrierbaren Virus veranlaßt werden.

Im Juli 1906 hatte Ostertag Gelegenheit, Versuche mit Serum von der amerikanischen Schweinepest anzustellen, welches ihm von Dorset in einem zugeschmolzenen gläsernen Röhrchen geschickt worden war. 3 Ferkel, respektive eingespritzt mit 1—2 und 3 ccm dieses Serums, starben (eins wurde schwerkrank geschlachtet) unter Erscheinungen von akuter Schweinepest, nämlich: Rotfärbung der Haut, Anschwellung der Lymphdrüsen, Milz und Leber, punktförmige Blutungen in mehreren Organen. Zwei andere Ferkel, welche zu einem der schwerkranken Tiere verbracht waren, wurden ebenfalls bedeutend krank. Als diese 19 Tage nachher getötet wurden, boten sie bei der Sektion das Bild einer ausgedehnten diphtherischen Darmentzündung.

Das Blut eines der mit amerikanischem Serum krank gemachten Ferkel wurde durch ein Berkefeld-Filter filtrierte und nach der Prüfung auf Keimfreiheit zwei anderen Ferkeln eingespritzt. Nach 4 Tagen zeigten sich die ersten Krankheitssymptome. Eines dieser Tiere wurde 8 Tage nach der Impfung geschlachtet, weil das Kontrollschwein an Darmentzündung gestorben war. Es zeigte bei der Sektion Anschwellung der Lymphdrüsen und Petechien in den Nieren. Das zweite Versuchsferkel wurde 7 Tage später getötet, war sehr abgemagert und hatte nebst Anschwellung der Milz und der Lymphdrüsen punktförmige Blutungen in Milz und Nieren, Anschwellung und teilweise Verkäsung der Follikel im Dick- und Mastdarm.

Ostertag zog aus diesen Versuchen den Schluß, daß die amerikanischen Untersuchungen richtig seien, weil man sowohl mit filtrierte als mit nicht filtrierte Blut eines mit Schweinepest behafteten Schweines eine der perakuten Schweinepest ähnliche Septikämie hervorrufen kann. Weiter, daß durch Berührung solcher Tiere mit gesunden Ferkeln diese unter Erscheinungen typischer Schweinepest erkranken. Durch diese Versuche erklärt es sich auch, daß mit Serum, welches auf Pestbacillen bakterizid wirkt, keine befriedigenden Resultate bei der Bekämpfung der Schweinepest erhalten werden.

Durch Erforschung der ansteckenden Schweineseuchen in Südafrika kommt Theiler<sup>2)</sup> zu dem Schlusse, daß die dort sich offenbarende

1) Ostertag, Ist das Virus der Schweineseuche und der Schweinepest filtrierbar? (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1906. No. 34.)

2) Theiler, Die Schweinepest und die Schweineseuche in Südafrika. (Fortschr. d. Vet.-Hyg. 1906. Heft 6.)

Schweinepest im pathologisch-anatomischen Bilde ganz übereinstimmt mit der, welche in Amerika und Europa konstatiert wird.

Es gelang ihm aber nie, den Bac. suipestifer nachzuweisen, so daß er entschieden sagen darf, daß dieser bei den untersuchten Schweinen nicht anwesend war. Seiner Meinung nach ist hiermit aber noch nicht festgestellt, daß der Bacillus in Südafrika nicht vorkomme. Mit dem Blut kranker Tiere, welches keine mikroskopisch sichtbaren Bacillen enthielt, konnte die Krankheit durch subkutane Impfung immer hervorgerufen werden, so daß ihre Gegenwart für die typisch pathogene Wirkung durchaus nicht nötig ist. Die südafrikanische Schweinepest wird also nicht durch den Bac. suipestifer verursacht. Weiter teilt Theiler betreffs der Brustseuche bei Schweinen mit, daß auch diese in Südafrika vorkomme und daß die Eigentümlichkeiten der Bacillen völlig übereinstimmen mit denen aus Europa. Diese Krankheit aber tritt daselbst nie selbständig herrschend auf, sondern in der Regel verbunden mit Schweinepest.

Koske<sup>1)</sup> filtrierte 50 ccm Blut eines mit Schweinepest behafteten Ferkels gemischt mit 100 ccm Kochsalzlösung zuerst durch Filtrierpapier und dann durch einen Pukall-Filter. Das Filtrat wurde auf Keimfreiheit geprüft. Damit wurden intravenös 2 Kaninchen, 2 Meerschweinchen und 2 Ferkel eingespritzt. Kaninchen und Meerschweinchen zeigten keine einzige Krankheitserscheinung; bei den Ferkeln entstand eine Temperatursteigerung bis zu 40,5° C nebst verringerter Freßlust. Bei der Schlachtung wurden keine Veränderungen in den Organen konstatiert.

Auf Grund dieses Versuches schließt Koske sich der Meinung Ostertags an, daß die in Deutschland vorkommende Schweinepest durch den Bac. suipestifer verursacht wird.

Die obenerwähnten Untersuchungen über die Schweinepest haben die vor einigen Jahren feststehende Tatsache, daß der Pestbacillus die Ursache dieser Krankheit sei, sehr ins Wanken gebracht. Besonders von amerikanischer Seite sind für die Existenz eines anderen Agens bedeutende Tatsachen gefunden, welche von Ostertag mit der ihm von dort geschickten Krankheitsmaterie bestätigt worden sind.

Auch in England scheint man dieser Meinung zugetan zu sein, obwohl die Publikationen von dort noch wenig vollständig sind.

Die meisten anderen Nachforscher haben aber keine positiven Resultate erzielt und gründen ihre Schlußfolgerungen größtenteils auf die von de Schweinitz, Dorset, McBryde und Bolton gefundenen Tatsachen.

### Eigene Untersuchungen.

Die ausführlichen und lehrreichen Untersuchungen von Poels, bei welchen er u. m. gefunden hatte, daß man durch kutane Impfung auf die Innenfläche des Ohres, durchgeführt mit Wattepföpfchen, die mit virulenten Pestbacillen getränkt waren, die akute wie die chronische Form der Krankheit hervorrufen kann, und daß durch Impfung von Ferkeln mit geschwächten Pestbacillen nach derselben Methode die Ferkel gegen spontane Schweinepest immunisiert werden, gaben mir die Ueberzeugung, daß der Pestbacillus und kein sonstiges Virus die Ursache dieser Krankheit sein mußte. Alle Forscher (Theiler ausgenommen)

1) Koske, Untersuchungen über Schweinepest. (Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Berlin 1906.)

haben immer bei Schweinen, welche klinisch oder pathologisch-anatomisch pestkrank befunden wurden, den Pestbacillus gefunden. Ebenso wenig, wie es bis jetzt gelungen ist, Pestbacillen bei gesunden Schweinen nachzuweisen, ebensowenig hat man bei Schweinen, die an einer anderen chronischen Krankheit litten, diese Bacillen getroffen. Im Gegenteil, bei Tieren mit chronischer Schweinepest zeigt sich sehr oft Brustseuche, ferner sterben solche Tiere auch nicht selten an Rotlauf. Wäre es also richtig, daß der Schweinepestbacillus nicht Ursache der Schweinepest ist, so müßte ernsthaft in Erwägung gezogen werden, ob nicht bei allen anderen Infektionskrankheiten die jetzt allgemein angenommenen spezifischen Organismen nur eine sekundäre Infektion zu veranlassen imstande sind. Meiner Meinung nach bestand die Möglichkeit, daß den amerikanischen Untersuchungen, bei welchen die Resultate am meisten auf die untergeordnete Bedeutung des Pestbacillus hinweisen, ein Irrtum zu Grunde liegt.

Die Untersuchungen über die Anwesenheit von Aggressinen und aggressiven Substanzen von Bail u. a. erweckten in mir die Vermutung, daß in den Filtraten solche Substanzen sich vorfinden möchten, die die damit eingespritzten Tiere so empfindlich machen würden, daß die Krankheit bei der geringsten Infektion, welcher die Kontrolltiere widerstehen, hervorträte und es also unmöglich sein würde, in Gegenden, wo Schweinepest herrscht, hinreichende präservative Maßregeln zu treffen, um zu verhindern, daß Pestbacillen in die Versuchstiere gelangen. In dieser Richtung machte ich all meine ersten Versuche; ich wollte untersuchen, ob sich in Filtraten, angefertigt aus Organen von Schweinen behaftet mit akuter oder chronischer Schweinepest, wirklich Aggressin vorfände. Alle Versuche sind mit subakuter und chronischer Schweinepest gemacht, weil ich nicht Gelegenheit hatte, Ferkel mit der perakuten Krankheit zu untersuchen. Als Filter wurden die Chamberland-Filter F und B, die Berkefeld- und die Kitasato-Filter gebraucht. Um ausfindig zu machen, ob sich in den Kerzen nicht zu große Poren vorfanden, wurden dieselben vor jedem Gebrauch geprüft; dazu wurden sie in einem hohen Becherglas unter Wasser getaucht und dann mit Kraft mittels einer Luftpumpe Luft durch den Filter gepreßt. Kamen nun irgendwo zu große Oeffnungen vor, so bildeten sich an diesen Stellen große Luftblasen zwischen den zahlreichen kleineren. Solche Filter wurden nicht gebraucht. Einmal gebrauchte Filterkerzen wurden vor der Sterilisierung zu einer neuen Filtration in folgender Weise gereinigt:

Nach Abspülung mit kaltem Wasser unter der Wasserleitung wurde ungefähr 1 l kaltes Wasser durchgepreßt, dann eine Auflösung von 1 g Kaliumpermanganat und  $6\frac{1}{2}$  g Salzsäure auf 1000 g Wasser, dann eine Auflösung von 10 g Oxalsäure in 1000 g Wasser, nachher tüchtig heißes Wasser, bis die Flüssigkeit, welche durchläuft, ganz säurefrei ist, und schließlich noch einmal kaltes destilliertes Wasser. So behandelte Filter sehen wieder ganz wie neu aus. Bei den ersten Versuchen wurde diese Behandlungsweise nicht durchgeführt. Es wurde nur Abspülung mit kaltem Wasser, dann Auskochen in einer Salzsäurelösung von 1 Proz., nachher Kochen in Natriumcarbonat-Lösung und schließlich in destilliertem Wasser vorgenommen. Die erstgenannte Reinigungsart ist bei weitem die bessere, weil alle organischen Reste zerstört werden.

Um zu vermeiden, daß neben dem Filtrierapparat etwas ins Kölbchen gelangt, wickelte man den ganzen Apparat in Watte ein, die jedes Tröpflein der Flüssigkeit, das eventuell verspritzte, aufnahm. Diese

Fürsorge hat sich immer als zweckmäßig erwiesen, um zu verhüten, daß die Filtrate verunreinigt wurden.

Das Filtrat wurde in Erlenmeyerschen Kölbchen zu 100 g aufgefangen, welche man etwa zu  $\frac{3}{4}$  füllte. An die Abführungsöffnung der Filtrierkerze wurde ein Kautschukschlauch mit einem Glasröhrchen, das durch den Wappfropf des Kölbchens gestochen war, befestigt; alles wurde sterilisiert. Beim Wechseln der Kölbchen blieb immer der durchlöchernte Wappfropf um das Glasröhrchen, indem das angefüllte Kölbchen mit dem Wappfropf des ebenfalls sterilisierten neuen, welches nun mit dem Filter in Verbindung gebracht wurde, geschlossen wurde. Bei der Auswechslung muß man sich assistieren lassen. Wenn dieselbe schnell vor sich geht, gibt sie nie zu einer Verunreinigung Anlaß.

#### Versuch a.

Ein totes Schwein, etwa 5 Monate alt, wurde zur Untersuchung an die Reichserumanstalt geschickt und zeigte bei der Sektion Erscheinungen von chronischer Schweinepest mit alten Geschwüren (Boutons) in den Dickdärmen, besonders im Coecum. Alle Körperlymphdrüsen sind hämorrhagisch angeschwollen. Kulturen aus den Organen und Lymphdrüsen ergaben ein negatives Resultat. — Die angeschwollenen Gekrös- und andere Körperlymphdrüsen, Milz, Leber, Lungen, Herz und ein Teil der Därme wurden in einer Fleischhackmaschine fein zerkleinert und ein gleiches Gewicht von destilliertem Wasser hinzugefügt; nachdem die Mischung 18 Stunden im Eiskasten aufbewahrt worden war, preßte man sie durch ein Tuch aus und filtrierte dann durch einen Chamberland-Filter F; die Flüssigkeit läuft klar durch, ist erst hellgelb, später rötlich. Vier Kölbchen werden jedes mit etwa 100 g der Flüssigkeit angefüllt. Die hieraus auf Agar und in Bouillon angelegten Kulturen weisen nach 24 Stunden Sterilität auf. Am folgenden Tage ist eines der Kölbchen, welches bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde, trübe, veranlaßt durch einen beweglichen Bacillus, der die Milch zur Gerinnung bringt, kein Indol bildet und auf Agar und Gelatine wie ein Coli-Bacillus (*Paracoli*) wächst.

Kaninchen und Meerschweinchen, mit dem klaren, keimfreien Filtrat inokuliert, bleiben am Leben; diejenigen, welche mit dem Filtrat +  $\frac{1}{200}$  Oese einer Agarpestkultur von 24 Stunden eingespritzt worden sind, starben 2—6 Tage früher als solche, welchen bloß die gleichen Quanten Pestbacillen eingespritzt wurden, wiewohl dafür Sorge getragen war, daß alle Versuchstiere von gleichem Alter und Gewicht waren.

#### Versuch b.

Ein totes Schwein, zur Untersuchung geschickt, weist bei der Sektion Erscheinungen von chronischer Schweinepest mit ausgedehnter diphtheritischer Darmentzündung auf. Bakteriologische Untersuchung negativ.

Leber, Milz, Nieren, Herz mit Blut, auch Stücke der Därme und Gekrösdrüsen werden in der Fleischhackmaschine zerkleinert, mit gleichem Gewicht destillierten Wassers vermischt und im Eiskasten aufbewahrt. Nach 24 Stunden wird diese Masse, nach Auspressung durch ein grobes leinenes Tuch und Filtrierung durch einen Wattefilter, mittels eines Chamberland-Filters F filtriert.

Die Flüssigkeit läuft zuerst bernsteingelb, später rötlich durch. Kulturen auf Agar und in Bouillon mit diesem Filtrat angelegt, zeigen sich am folgenden Tage keimfrei. 2 Ferkel, gekreuzte Yorkshire, 8 Wochen alt, werden, das eine mit 12, das andere mit 6 g Filtrat subkutan an der inneren Schenkelfläche geimpft. Diese Tiere bleiben in einem Stall, wo mehrmals Schweine mit Schweinepest gewesen sind. Ohne eine einzige Krankheitserscheinung gezeigt zu haben, sind diese Ferkel normal aufgewachsen und späterhin bei Schlachtung konnte keinerlei Anomalie nachgewiesen werden.

Weiter wurden mit diesem Filtrat 2 Kaninchen geimpft, nämlich ein 2860 g schweres, subkutan mit 2 g, das andere 2740 g schwere mit 2 g Filtrat +  $\frac{1}{200}$  Oese 24 Stunden alte Pestkultur und ein drittes 2580 g schweres erhielt  $\frac{1}{200}$  Oese Pestkultur. Das mit Filtrat und Kultur geimpfte Kaninchen starb nach 6 Tagen; das, welches bloß Kultur erhielt, nach 9 Tagen an Schweinepest; das erste Tierchen endlich ging nach 16 Tagen ein.

Bei der Sektion hatte dieses Tier eine bedeutend hämorrhagisch angeschwollene Leber und Milz, im Dickdarm ein deutliches Darmgeschwür von 1 cm Breite (Fig. 1). Kulturen aus Milz, Leber und Blut ergaben eine Reinkultur von Pestbacillen. Ein Kaninchen, subkutan an die innere Ohrfläche mit dem diphtheritischen Exsudat des Darmgeschwüres geimpft, stirbt nach 15 Tagen ebenfalls an Schweinepest. Kulturen aus den verschiedenen Organen dieses Kaninchens lieferten auch eine Reinkultur von Pestbacillen. In Agar bildet sich ein wenig Gas, Milch gerinnt nicht, keine Indol-



bildung, in Traubenzuckerbouillon sehr deutlich und in Milchsüßwasserbouillon sehr wenig Gas. In einem hängenden Tropfen bewegen sich die Bacillen sehr lebhaft.

Ein Ferkel, gekreuzt Yorkshire, 6 Wochen alt, bekommt zum Futter 500 g Bouillonkulturen dieses Pestbacillus und stirbt 6 Tage nachher unter typischen Erscheinungen von Schweinepest. Auch aus den Organen dieses Ferkels werden Pestbacillen isoliert.

Ausstrichpräparate der Pestbacillen aus dem Kondensationswasser von Agarkulturen, 18 Stunden alt, gefärbt mit verdünntem Karbolfuchsin oder mit einer wässrigen Auflösung von Methylenblau zeigten nebst gut gefärbten auch weniger deutlich gefärbte Bacillen, indem sich sehr viele bipolar gefärbte und stark gekörnte Exemplare vorfanden, an einigen Stellen glichen sie sehr kleinen Streptokokken. Es kamen ferner sehr kleine, blaß gefärbte Körner in der Größe von kleinen Mikrokokken vor. Hie und da sah man 2 oder 3 Körner dicht aneinander gelagert, umgeben von einer blaß gefärbten Hülle, ähnlich einer Kapsel, indem man sonst, wo diese Körner weiter auseinander lagen, diese Kapsel nicht bemerkte. Das Präparat durchsuchend, konnte man sozusagen die verschiedenen Stadien des Zerfalles der Pestbacillen in feine Körner bemerken (Fig. 2).

Durch Anlage vieler Plattenkulturen auf Agar und in Gelatine erwies es sich, daß es sich wirklich um eine Reinkultur handelte, so daß alle in diesen Präparaten gesehenen Bildungen Pestbacillen waren.

Aus dem oben beschriebenen Versuch stellte sich heraus, daß ein Kaninchen an Schweinepest gestorben war, nachdem es mit einem Filtrat, herrührend von einem mit chronischer Pest behafteten Schweine, bei welchem Tiere bei der bakteriologischen Untersuchung keine Pestbacillen nachgewiesen waren, geimpft worden war.

Bekanntlich gelingt es bei solchen chronischen Fällen meistens nicht, Pestbacillen in den Organen nachzuweisen, wenn man bloß Kulturen aus Milz, Leber, Nieren oder Gekrösdrüsen anlegt. Zu diesem Zwecke ist eine umständlichere Untersuchung notwendig und meistens sind Tierexperimente unentbehrlich.

Im Filtrat, welches sofort nach der Filtration keimfrei erschien, müssen also Pestbacillen gewesen sein, weil es unmöglich war,

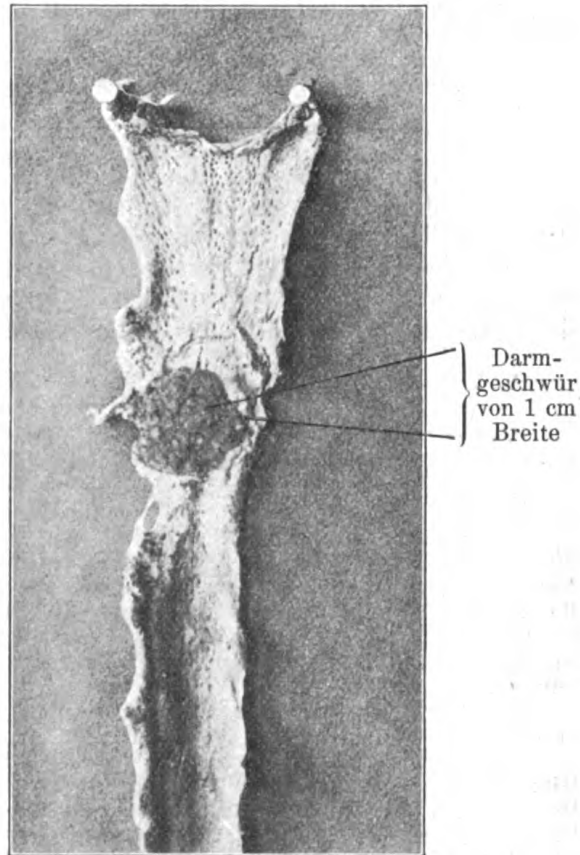


Fig. 1. Dickdarm mit einem deutlichen Darmgeschwür eines Kaninchens, gestorben nach der Impfung mit einem Filtrat aus den Organen von einem mit chronischer Schweinepest behafteten Schweine (Versuch b).

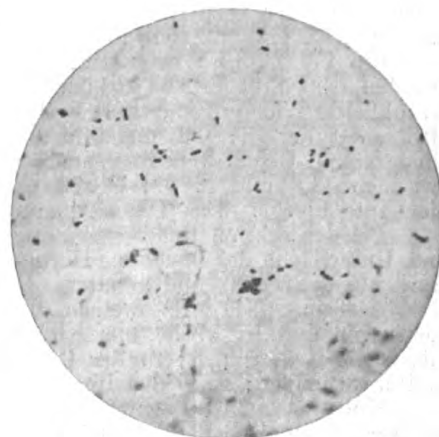


Fig. 2. Ausstrichpräparat von Pestbacillen aus dem Kondensationswasser, gefärbt mit Karbolfuchsin. Verschiedene Stadien des Zerfalles der Pestbacillen in feine Körner (Versuch b).

daß das Kaninchen nach der Einspritzung infiziert wurde. Spontane Infektion von Kaninchen mit Pestbacillen ist, der Fall von Hottinger ausgenommen, nie festgestellt worden, und der Stall, in dem das Kaninchen seinen Aufenthalt hatte, war seit längerer Zeit nicht für Pestkaninchen, wohl aber für Kaninchen zu anderen Versuchen verwendet worden, überdies werden die Ställe immer vor jedem Gebrauch tüchtig gereinigt und desinfiziert.

Die getroffenen Schutzmaßregeln hatten mit Bestimmtheit eine Verunreinigung durch unfiltrierte Flüssigkeit vermieden. Es kann also nicht anders angenommen werden, als daß Pestbacillen ihren Weg durch den Filter gefunden haben, und zwar in so geringer Anzahl oder in solcher Form, daß diese nicht durch Kulturversuche auf Agar oder in Bouillon nachzuweisen sind.

Alle jetzt folgenden Versuche sind zu dem Zwecke gemacht worden, um festzustellen, ob es wirklich möglich sei, daß Pestbacillen durch ein Filter aus Porzellan oder Infusorienerde gehen.

#### A. Versuche mit Filtraten aus Organen von mit Schweinepest behafteten Tieren.

Versuch 1. Ein totes Schwein, zur Untersuchung eingesandt, zeigt bei der Sektion eine weit verbreitete diphtheritische Entzündung des Magens und der Därme; Petechien in den Nieren, Leber und Milz; Lymphdrüsen markig geschwollen und rot. Kulturen aus den Organen zeigen eine Reinkultur von Pestbacillen.

Nachdem Nieren, Milz, Leber und Herz in der Fleischhackmaschine fein zerkleinert, mit gleichem Gewicht von Wasser gemischt waren und alles 24 Stunden im Eiskasten gestanden hatte, wurde es durch ein Tuch gepreßt und durch Watte filtriert; dann ging die eine Hälfte durch einen Chamberland-Filter F, die andere aber durch einen Berkefeld-Filter. Die Filtrate laufen hellgelb ab. Kaninchen und Meerschweinchen, mit dem Filtrat geimpft, bleiben am Leben; Kulturen, aus den Filtraten angelegt, bleiben keimfrei.

Ein K öl b c h e n, durch Chamberland F filtriert, wird nach 8 Tagen trübe. Es ist mit *Staphylococcus albus* infiziert.

Versuch 2. Von den zuerst gestorbenen Kaninchen (Versuch b) wurden Leber, Milz und Herz zerkleinert, mit gleichem Gewicht Wasser vermischt und nach einer Mazeration von 4 Stunden bei Kamertemperatur durch Chamberland F filtriert. Vorher aber war ein Kaninchen subkutan an der inneren Ohrfläche mit der Flüssigkeit geimpft worden. Es starb 7 Tage nachher an Pest. Das Filtrat läuft hell und klar ab, Kulturversuche mit demselben fallen negativ aus. Kaninchen, Meerschweinchen und ein Ferkel, gekreuzt Yorkshire, 7 Wochen alt, mit dem Filtrat geimpft, bleiben alle gesund. Das Filtrat blieb klar und keimfrei, wie sich nach wiederholten Untersuchungen erwies.

Versuch 3. Ein Schwein, vermutlich an Rotlauf gefallen, wird zur Untersuchung eingeschickt. Bei der Sektion findet man dasselbe mit chronischer Schweinepest behaftet und es zeigt nebst diesen Erscheinungen auch die einer akuten Krankheit, wie hämorrhagischer Gastritis und Nephritis, angeschwollene Milz und Leber. Kulturen, aus Milz, Leber und Niere angelegt, liefern eine Reinkultur von Rotlaufbacillen.

Ein Ferkel, 12 Wochen alt, gekreuzt Yorkshire, wird mit 20 ccm des Preßsaftes aus den feinzerkleinerten Organen geimpft. Nach 5 Tagen zeigt das Tier bedeutende Krankheitserscheinungen, keine Freßlust, Kurzatmigkeit. Temperatur morgens 41,4° C; abends ist der Zustand ungefähr derselbe, Temperatur 40,9° C, profuse Diarrhöe ist eingetreten. Erscheinungen nehmen noch immer ein wenig zu; Temperatur schwankend zwischen 41,9 und 42° C; Ohren bläulichrot, am Hals und Unterfläche des Bauches viele rote Flecke. Das Tier stirbt am 8. Tage morgens früh.

Bei der Sektion findet sich Rotfärbung der Haut an Ohren, Hals, Rüssel, Perineum und Unterfläche des Bauches. Heftige hämorrhagische Magen-Darmentzündung, Mucosa stark angeschwollen und gefaltet. Dünndärme stellenweise entzündet mit Blutungen. Gekrösdrüsen sowie Milz, welche dunkelrot gefärbt war, angeschwollen; Pulpa weich; Leber von dunkler Farbe, angeschwollen und etwas vergrößert, Nieren ziemlich normal mit wenigen Petechien; in der Bauchhöhle einige Flüssigkeit, es ist eine leichte Peritonitis vorhanden; an beiden Lungenspitzen eine heftige lobäre Pneumonie. Herz normal.

Kulturen aus Lungen, Leber und Milz boten am folgenden Morgen kräftig gewachsene Kolonien dar; im hängenden Tropfen bewegen sich die Bacillen lebhaft, in Traubenzucker Gasbildung, sehr wenig in Milchzucker; Milch nicht geronnen; keine Indol- oder Nitritbildung.

Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben, aus den Organen dieses Ferkels geimpft, sterben alle 5—10 Tage nach der Impfung; alle Kulturen aus den Organen dieser Tiere ergeben Reinkulturen von Schweinepest.

Das ursprüngliche Schwein war also behaftet mit Schweinepest, sekundär infiziert mit Rotlaufbacillen und an dieser Mischinfektion gestorben.

Gleichzeitig mit obenerwähntem Versuchsferkel wurde ein Ferkel von gleicher Größe mit 50 g Filtrat aus den Eingeweiden des zuerst genannten Schweines geimpft. Zu diesem Zwecke waren Milz, Ieber, Nieren und Blut in der Fleischhackmaschine

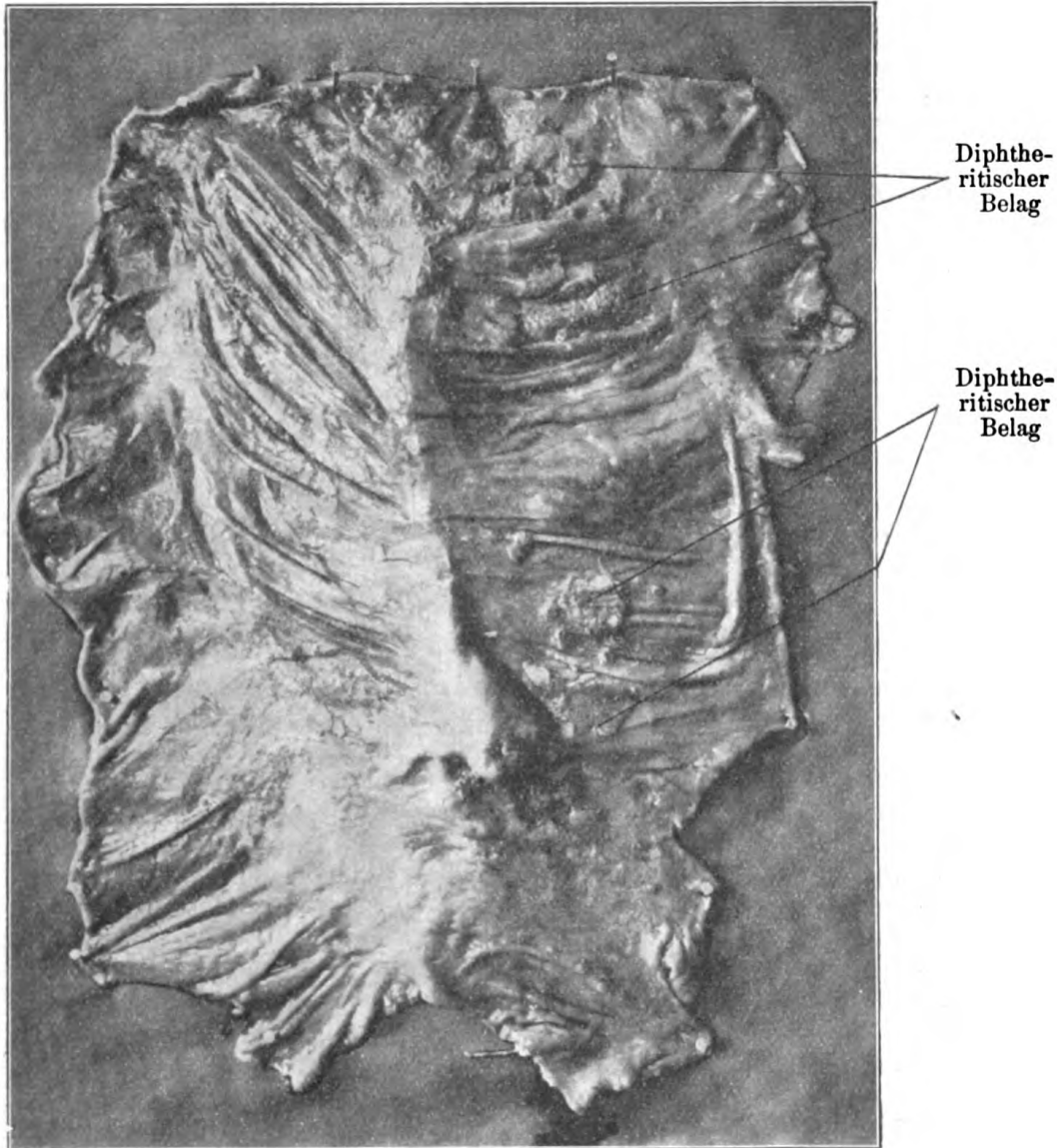


Fig. 3. Diphtheritische Entzündung des Coecums von einem Ferkel, eingespritzt mit Filtrat aus den Eingeweiden eines an Schweinepest gestorbenen Schweines (Versuch 3).

zerkleinert, mit Wasser mazeriert, 18 Stunden später durch Leinwand ausgepreßt und durch Chamberland-Filter F filtriert worden. Kulturen aus dem kristallhellen Filtrat blieben steril.

Nach der Impfung wurden in diesem Ferkel keine auffallenden Krankheitserscheinungen wahrgenommen. Nach 12 Tagen wurde dieses Ferkel für einen Versuch benutzt, um zu erforschen, ob Rotlauf durch Einspritzung mit dem Organensaft eines an der Krankheit gestorbenen Schweines verursacht werden kann. Tags nachher war das Tier

schon krank, der Zustand wurde allmählich schlimmer und 5 Tage nach dieser Einspritzung wurde das Ferkel morgens im Stall tot aufgefunden. Die Haut am Unterbauch und zwischen den Beinen war diffus rotgefärbt; Ohren bläulichrot. Bei der Sektion fand man weiter eine heftige Gastroenteritis mit Geschwüren und diphtheritische Entzündung der Dickdärme, besonders des Coecums (Fig. 3); Leber angeschwollen, bläulich gefärbt; Milz angeschwollen, Pulpa weich; in den Nieren eine Anzahl von Petechien, übrige Organe normal.

Kulturen aus den Organen ergaben in der Hauptsache Kolonien von Pestbacillen, seltener von Rotlaufbacillen. Offenbar war also dieses Schwein bei der ersten Einspritzung mit dem Filtrat mit Pestbacillen infiziert worden; die Infektion war aber nicht stark genug gewesen, um das Tier krank zu machen. Als nun nach 15 Tagen das Tier mit Rotlaufbacillen geimpft wurde, sank die Widerstandskraft dermaßen, daß die Pestbacillen sich besser geltend machen konnten. Wiewohl sich in den Kulturen einige Rotlaufbacillen vorfanden, hatten die Schweinepestbacillen die Oberhand und so ist das Schwein an einer gemischten Infektion von Schweinepest und Rotlauf gestorben. Ungachtet dessen, daß durch die Kulturen aus den Filtraten nicht erwiesen ist, daß sich darin Pestbacillen vorfanden, muß auf Grund der vorangehenden Versuche angenommen werden, daß dieselben doch wirklich darin vorhanden waren.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Studien über den Gonococcus.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten, Genua, Italien. Direktor Prof. E. Maragliani; Abteilung geleitet von Prof. A. Bruschetti.]

### 1. Mitteilung.

Von Prof. Dr. A. Bruschetti und Prüfungskandidat L. Ansaldo.

Wie bekannt, wächst der Gonococcus Neisser in den gewöhnlichen Nährböden, sowie auch in jenen, welche eigens empfohlen werden, wenn eine üppigere Entwicklung erzielt werden soll, nur spärlich und kümmerlich.

Da wir uns längere Zeit mit dem Gonococcus beschäftigten und ermutigende Resultate erzielten, halten wir es für angebracht, unsere Beobachtungen über die Nährböden dieses Mikroorganismus und über einige seiner morphologischen Charaktereigenschaften zu veröffentlichen.

Das Material, welches uns zum Studium diente, rührte von Urethralsekret akuter und niemals behandelter Blennorrhagien her. Vor allen Dingen richteten wir unser Augenmerk auf jene Nährböden, welche für die Isolierung des Gonococcus als die besten angeraten werden (Agar-Serum, Eidotter-Agar u. s. w.).

Wir sagen hier sofort, daß die Serum- wie Urinmittel in den meisten Fällen eine verhältnismäßig leichte Isolierung des Gonococcus, aber niemals eine üppige Entwicklung gestatten, und, was noch von größerer Wichtigkeit ist, immer nur eine beschränkte Anzahl von Verpflanzungen zulassen.

Nach einigen einleitenden Orientierungsversuchen beschränkten wir unsere Beobachtungen auf Mittel — feste und flüssige — in welchen Blut, Eiweiß und Eigelb enthalten sind.

Die erzielten Resultate übertrafen unsere Erwartung. Wir können heute mit Sicherheit direkt vom Eiter sehr üppige Kulturen bekommen, deren Lebensfähigkeit auf eine sehr lange Zeit erhalten werden kann. (Wir bekamen Verpflanzungen sogar nach 5 Monaten und besitzen Kulturen von der 30. Generation.)

Wir deuten nebenbei an, daß diese Kulturen eine ziemlich große pathogene Wirkung besitzen, worüber wir besser in einer unserer nächsten Mitteilungen sprechen werden.

Wir bemerken ein für allemal, daß unser *Gonococcus* immer kontrolliert wurde, sowohl bei seiner Entwicklung in Bouillon und einfachem Agar als auch bei der Feststellung seines Verhaltens der Gramschen Färbung gegenüber. Obgleich vor kurzer Zeit einige Autoren die Ansicht aussprachen, der *Gonococcus* könne sich in den gewöhnlichen Nährböden entwickeln, so schieden wir doch immer jene Typen aus, welche die Gramsche Färbung annahmen und in Agar oder einfacher Bouillon Wachstum verrieten.

Wir sagen hier vorübergehend — wie aus unseren zahlreichen Versuchen hervorgeht — daß der aus dem Urethralsekret gewonnene *Gonococcus* sich allerdings in den gewöhnlichen Nährböden entwickeln kann, daß er aber keineswegs die Fähigkeit besitzt, nach 2 oder 3 Verpflanzungen zu wachsen, wenn er nämlich die organische Substanz verbraucht hat, die er bei den ersten Verpflanzungen mit sich geführt hatte.

Wir führen nicht alle Nährböden auf, die wir zu unserem Zwecke studiert haben. Es genügt vollauf, jene zu nennen, die wirklich sichere und befriedigende Resultate gaben.

Der Zusatz von defibriniertem Blut zu gewöhnlicher nicht glycerinierter Bouillon im Verhältnis von einem Tropfen zu 10 ccm gestattet eine sehr üppige und dazu eine sehr rasche Entwicklung (12 Stunden). Wird dann diesem Mittel noch ein Tropfen Eiweiß oder ein Tropfen frisches Eigelb hinzugefügt, so ist die Entwicklung noch viel üppiger und schneller. Aus unseren zahlreichen Experimenten konnten wir beobachten, wie der Zusatz dieser beiden letzteren Substanzen zu Bouillon-Blut am besten zu empfehlen ist, da er immer in konstanter Weise und ohne Ausnahme eine sehr reichliche Entwicklung von Gonokokken gestattet, welche bei mikroskopischer Beobachtung die typischen Charaktereigenschaften zeigen, die wir ja alle kennen, nämlich Häufchenanordnung und Kaffeebohnenform etc. Der einfache Zusatz von Eigelb zu Bouillon gibt zwar auch genügende Kulturen, man kann sie aber niemals mit den oben beschriebenen vergleichen; dagegen gibt der Zusatz von Eiweiß in gleicher Weise die allerbesten Resultate. Wir bemerken aber, daß das Eiweiß frisch sein muß und nicht koaguliert sein darf: und wirklich gibt, wie wir sehen werden, der Zusatz dieser Substanzen zu flüssigem Agar nur eine spärliche Entwicklung. Glänzende Resultate erhält man auch mit Blutserum und frischem Eiweiß und Blutserum und Eigelb, defibriniertem Blut, defibriniertem Blut-Eiweiß, defibriniertem Blut-Eigelb; da aber diese Mittel keinerlei Einfluß auf Bouillon-Blut-Eiweiß, Bouillon-Blut-Eigelb und Bouillon-Eiweiß haben, so empfehlen wir diese drei Mittel als die besten für das Studium des *Gonococcus*. Die Kultur bildet eine homogene Trübung der Flüssigkeit und Diffusion von Hämoglobin; werden die Kulturen sich selbst überlassen, so bildet sich ein Niederschlag und die obenstehende Flüssigkeit klärt sich. Es sei noch bemerkt, wie sich der *Gonococcus* bei den obengenannten Mitteln mit einer gewissen Leichtigkeit entwickelt, wenn auch nicht bei allen in derselben Art und Weise. Der *Gonococcus* wächst nach wenigen Verpflanzungen, namentlich in Bouillon-Eiweiß, üppig und schnell. Wir bleiben noch bei diesen Eigentümlichkeiten, welche der Vervielfältigung der Eiweiß- und Eigelbgonokokken günstig sind, stehen und bringen ein Experiment, das wir vielmal gemacht haben. Wir arbeiteten mit

Nährböden, in welchen wir auch nach einem Aufenthalt von 48 und mehr Stunden im Brutschrank keine Entwicklung nachweisen konnten und es genügte, einen Tropfen Eiweiß oder eine starke Oese Eigelb hinzuzufügen, worauf eine üppige und schnelle Entwicklung entstand. Die festen Nährmittel entsprechen unserem Zweck nicht so gut wie die flüssigen, wie wir sofort zeigen werden. Die besten Resultate ergaben: glyc. Agar und Milch, glyc. Agar und Serum, glyc. Agar und Blut; bei diesen erhält man schon nach 18 Stunden eine reichliche Entwicklung mit den bekannten typischen Formen. Die Kolonien treten in Form von kleinen, durchsichtigen, weißen Tropfen auf, welche mit der Platinnadel leicht entfernt werden können. Werden sie auf das Gläschen aufgetragen, verhalten sie sich wie die charakteristischen Kulturen des Tuberkelbacillus, d. i. wie fette Substanzen. Diese Kulturen fließen rasch zusammen, wobei das Kondensationswasser nicht getrübt wird. Wir versuchten auch Agar-Kartoffeln und Blut (auch mit verschiedenen Modifikationen), wie Bordet-Gengou für die Kulturen des Keuchhustenbacillus anriet, aber wir fanden keine ermutigenden Resultate; ebenso erzielten wir, im Gegensatz zu der Behauptung Nastikoffs, mit Agar und Eigelb keine guten Erfolge.

Zuletzt wollen wir von einigen Experimenten sprechen, die wir machten, um Kulturen auf Kartoffeln zu erhalten. Diese wurden präpariert analog der Art und Weise, die man für die Entwicklung des Tuberkelbacillus einhält, d. h. man feuchtet Cylinder von Kartoffeln in glycerinierter Bouillon an. Alle Abhandlungen über Bakteriologie behaupten, der *Gonococcus* entwickle sich nicht auf diesem Nährboden, während Roux versichert, daß man bei 37° C Kolonien erhalte, welche Eitertröpfchen ähneln. Wir besäten Kartoffeln mit Kulturen, die von Kulturen in Bouillon und Eiweiß herrühren, und können versichern, daß man so eine reichliche und sehr schnelle Entwicklung erhält. Wir machen gegenwärtig noch andere Experimente in dieser Hinsicht; denn aus einigen gemachten Beobachtungen dünkt uns, dieser Nährboden könne bei gegebenen Umständen angeraten werden. Wir haben angedeutet, daß diese Kulturen auch eine pathologische Wirkung auf die zu experimentierenden Tiere besitzen. Es ist hier nicht der Platz, über die erhaltenen Resultate zu berichten, aber wir werden es so bald als möglich tun. Schon jetzt wollen wir einige Daten anführen, welche nach unserer Meinung die Güte der von uns angeratenen Nährböden besser beweisen.

Bei einigen Experimenten, die wir ausführten, um die Pathogenität unserer Kulturen zu beweisen, bemerkten wir mehrere Male (und seit wir das Verfahren geändert, können wir sagen: immer) an der Impfstelle weißliche Anhäufungen von sehr weicher Konsistenz, die in entfernter Weise an das Sekret der Schleimhaut erinnerten, macht man aus dieser Substanz ein Präparat, so sieht man, daß sie aus einer enormen Menge von Leukocyten besteht, die voll Gonokokken mit ihren typischen Charaktereigenschaften sind.

Wir führten auch die intravitale Färbung mit Neutralrot aus und erhielten ein Aussehen, das vollkommen ein blennorrhagisches Sekret nachahmte.

Wir behalten uns vor, in der nächsten Mitteilung eingehend über die erhaltenen Resultate zu berichten, und sagen nur, daß es uns gelang, ein Aggressin für unseren *Gonococcus* zu erhalten, ein Aggressin, das nicht allein die Entwicklungsperiode der Krankheit abkürzte, sondern auch den Tod verursachte, wenn es mit Kulturen eingepflicht wurde, die an und für sich unfähig waren, das Tier zu töten.

Nachdruck verboten.

**Züchtungs- und Tierversuche mit *Bacillus fusiformis*,  
*Spirochaete gracilis* und *Cladotrix putridogenes*.  
Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen  
gangränösen Entzündungen.**

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute der Universität zu  
Kolozsvár (Direktor: Prof. Buday).]

Von Dr. D. Veszprémi, Privatdozenten und I. Assistenten.

Mit 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

14. 1260 g. Impfung wie No. 13 mit flüssigem Eiter. Nach 10 Tagen eine erbsengroße, verschwommene Schwellung zu fühlen. Das Tier nimmt beständig ab. Nach 26 Tagen ein Absceß von der Größe einer dicken Haselnuß zu finden, umgeben von einer diffusen Schwellung, die allmählich an Deutlichkeit verliert, während der Absceß immer mehr hervortritt, so daß er zwar sehr langsam, aber doch zu einem großen, gespannten Absceß wird, der am 70. Tage geöffnet wird. Bei dieser Gelegenheit entleerten sich 25—30 ccm sehr dicker, etwas zäher und sehr übelriechender, weißer Eiter, in dem sich viele mohnkorngroße Körnchen befinden, die fast ganz verkalkt sind. Nach Entfernung des Kalkes erweisen sie sich als Bakterienhaufen. Der Eiter enthält im Deckglaspräparat viele blaß gefärbte, dünne Spirochäten, ferner wenige Fusiformen, die größtenteils gequollen, dick und ziemlich lang sind. Fadenbakterien und Bacillen sind gleichfalls in großer Zahl vorhanden, färben sich gleichmäßig und intensiv. Kokken in jedem Präparat in großer Zahl zu finden. Nach der Incision heilte der Absceß nie vollständig zu, sezerniert beständig dicken Eiter. Am 120. Tage tritt am unteren Teil des Oberschenkels ein neuer taubeneigroßer Absceß auf, der spontan durchbricht. Das Tier magert beständig ab, bis es 4 Monate und 20 Tage nach der Impfung mit einem Gewichtsverlust von 500 g zu Grunde geht. Sektion: An den Stellen des ersten und des späteren Abscesses sind nur noch flache Höhlen zu finden, deren Wände mit dickem, zähem Eiter bedeckt sind. Im Eiter wenig Spirochäten und Fusiformen, dagegen noch immer viele Fadenbakterien, Bacillen und Kokken.

15. 1050 g. Impfung wie No. 13. Nach 11 Tagen eine nußgroße Schwellung, die von Tag zu Tag langsam wächst und beständig weicher wird. Das Tier magert ab. Am 19. Tage Absceßöffnung, wobei sich sehr stinkender, zäher, dicker Eiter entleert, der viele Körnchen enthält und von Bakterien schöne Fäden, Bacillen, viele Spirochäten, wenige *Fusiformis*-Bacillen und Kokken. Unter den Fäden, Bacillenformen und den fusiformen Bacillen viele körnig degeneriert. Der Absceß heilt nie vollständig zu, es traten vielmehr neben ihm mehrere kleinere Abscesse auf. Das Tier ging 55 Tage nach der Infektion zu Grunde. Gewichtsverlust 400 g. Sektion: Im rechten Schenkel sind außer einem haselnuß- und einem taubeneigroßen Absceß noch zahlreiche hirsekorngroße, auch im subkutanen Bindegewebe, die miteinander und mit den großen Abscessen durch eiterige Gänge in Verbindung stehen. Auf der äußeren Seite des Schenkels neben dem Knie eine aus hirsekorngroßen Eiterknötchen zusammengesetzte haselnußgroße Absceßgruppe. Zwischen den Muskelbündeln dicken, zähen Eiter enthaltende Gänge. Das anatomische Bild ganz übereinstimmend mit dem von No. 3. Bei innerer Untersuchung ist nichts Pathologisches nachzuweisen, abgesehen von der mäßigen Atrophie. Im Deckglaspräparat derselbe bakteriologische Befund wie vorhin.

16. 1300 g. Impfung aus dem Absceß von No. 10 intramuskulär. Am 5. Tage ist der ganze Schenkel diffus geschwollen, auf Druck ist ein eigentümliches Knistern zu fühlen. Am 9. Tage Exitus. Gewichtsverlust 330 g. Sektionsbefund: Das subkutane Gewebe des rechten Schenkels zeigt eine mit sehr stinkender, schmutziggelbbraungrauer, dünner und jauchiger Flüssigkeit gefüllte Phlegmone, die sich auch zwischen die einzelnen Muskelbündel ausstreckt und in ihren einzelnen Teilen mit Gängen oder größeren Höhlen verbunden ist, deren Wände mit fahlgrauem, stinkendem, gangränösem Belag bedeckt sind. Bei innerer Untersuchung nichts Auffallendes. In der jauchigen dünnen Flüssigkeit auffallend viele Kokken, verhältnismäßig fusiforme Bacillen, während Fadenbakterien und Bacillenformen — darunter V- und S-förmige — sowie Spirochäten in großer Zahl zu finden sind.

17. 1320 g. Impfung wie bei No. 16. Nach 5 Tagen eine diffuse Schwellung zu fühlen. In 21 Tagen entsteht ein hühnereigroßer, weicher Absceß, bei dessen Oeff-

33\*

nung viel, etwas fadenziehender, dünner, weißlich-grauer Eiter von durchdringendem, unangenehmem Geruch sich entleert. Am folgenden Tage geht das Tier zu Grunde. Gewichtsverlust 350 g. Sektion: Unter der Haut Höhlen, die sich auch bis zwischen die Muskelbündel erstrecken und gleichsam Gruben herauspräparieren; die Wände dieser Höhlen sind mit fahlem, schmutzig-grauem, gangränösem Belag bedeckt. Im Eiter viele feine Spirochäten, Fadenbakterien, Bacillen und Kokken, sowie in geringer Anzahl Fusiformen.

18. 1370 g. Impfung aus dem Absceß von No. 12. Nach 9 Tagen ein haselnußgroßer Absceß fühlbar, der nach 13 Tagen nußgroß wird. Bei dessen Oeffnung entleert sich außerordentlich stinkender, rahmiger, zäher Eiter, der voll von Körnchen ist. In der Wand des geöffneten Abscesses tritt in den folgenden Tagen Gangrän auf, die immer ausgesprochener wird, wobei der Prozeß auf die benachbarten Gewebe übergreift. Das Tier magert stark ab und verendet am 23. Tage. Gewichtsverlust 420 g. Sektion: An der Innenfläche des rechten Schenkels eine fast faustgroße Höhle, die mit durchdringend stinkenden, schmutzig-braungrünen, gangränösen Fetzen ausgekleidet ist. Der untere Winkel der Höhle reicht um einige Centimeter unter das Knie, nach oben längs der Inguinalbeuge bis fast in die Mitte des Bauches. Die tiefen Muskeln sind unversehrt. Bei innerer Untersuchung in den Nieren und Lungen sehr kleine metastatische Abscesse, das Brustfell glanzlos, injiziert, mit einer feinen Fibrinschicht überzogen. Hinter dem Sternum und über dem Processus xyphoideus fanden wir einen bohnen großen Absceß. Sowohl in diesen metastatischen Abscessen als auch im pleuralen Exsudat sind nur Streptokokken zu finden, und auch auf den verschiedenen Nährböden gediehen und wuchsen nur diese. Im Eiter des gangränösen Schenkelabscesses dagegen fanden wir außer Kokken sehr viele feine Spirochäten, Fäden, Bacillen und viele Fusiformis-Bacillen, darunter feine und sehr spitze Formen.

19. 1250 g. Impfung wie bei No. 18. Nach 3 Tagen mäßige Schwellung. Am 17. Tage ein haselnußgroßer, fester Knoten, am 18. Tage Operation, die darin bestand, daß wir den tief in der Muskulatur liegenden Absceß möglichst gänzlich entfernten. Im Eiter sind wunderschöne Spirochäten und Fadenbakterien in sehr großer Menge zu finden, ferner fusiforme und andere Bacillen sowie Kokken. 3 Tage nach der Operation ist der Fuß schon bei der kleinsten Berührung schmerzhaft, daher kaum zu untersuchen; der Schenkel diffus geschwollen, etwas ödematös. Am 5. Tage, also 23 Tage nach der Infektion, verendete das Kaninchen. Gewichtsverlust 230 g. Sektion: Die Hautnaht ist intakt, die Wundränder liegen gut, kein Durchbruch. Das subkutane Bindegewebe in großer Ausdehnung erweicht und mit außerordentlich stinkendem, blutigem und jauchigem Eiter durchtränkt. Von der Inguinalbeuge greift der Prozeß auch auf das Bindegewebe der Bauchwand über und zieht sich in Form eines mehrere Finger breiten Streifens bis auf den unteren Teil des Brustkorbes; von hier greift der Prozeß auch auf die linke Seite hinüber und verursacht eine kinderhandgroße phlegmonöse Infiltration von mehr eiterigem Charakter. In der Umgebung ist überall starkes entzündliches Oedem zu konstatieren. An der Stelle, wo der Absceß herausgeschnitten worden war, war eine Höhle von der Größe einer dicken Haselnuß entstanden, da die tiefen Muskelnähte nachgegeben hatten. Der Höhleninhalt besteht aus schmutzig-brauner, flüssiger Substanz von echtem Gangrängeruch. Fascien und Muskeln sind freigelegt bzw. bilden schmutzig-graubraune oder grünliche gangränöse zerfallende Fetzen. Bei innerer Untersuchung nichts Abweichendes. Der bakteriologische Befund ist derselbe wie zum ersten Male, doch sind Kokken in größerer Menge zu finden.

20. 1250 g. Impfung intramuskulär aus dem Absceß von No. 15. Am 4. Tage diffuse Schwellung am Schenkel; am 6. Tage Exitus. Es waren beständig hohe (40,8 bis 41,1° C) Temperaturen zu beobachten gewesen. Gewichtsverlust 150 g. Sektion: Der Schenkel ist stark geschwollen, besonders dessen unterer Teil; das subkutane Bindegewebe ist ödematös, das untere Muskelbündel in der Ausdehnung einer Krone blutig. Zwischen den einzelnen Muskelbündeln sind gefächerte größere Höhlen, die gegen die Inguinalgegend ziehen, und deren Inhalt aus penetrant stinkendem, dünnem, etwas zähem, graubraunem, putridem Eiter besteht. In den zwischen den tieferen Muskeln liegenden Höhlen sind schmutzig-braune, grüne, gangränös zerfallende Gewebefetzen brückenförmig ausgespannt. Auch die Wand der Höhlen weist schmutzig-grüne Nekrose auf. Bei innerer Untersuchung sind am Peritoneum zahlreiche Blutungen zu sehen. Die inneren Organe sind normal. Im jauchigen Eiter sind viele Spirochäten, Fusiformen, Fäden mit Bacillenformen und wenige Kokken.

21. 1400 g. Impfung wie bei No. 20. Nach 7 Tagen unter der Haut eine haselnußgroße, nach 12 Tagen eine nußgroße Schwellung. Am 13. Tage Absceßöffnung, wobei sich etwa 20 ccm sehr stinkender, dicker Eiter entleert, in dem auch einige Körnchen zu sehen sind. Mit dem Mikroskop sind viele Spirochäten, wenige Fusiformis-Bacillen und Fadenbakterien sowie Bacillenformen und Kokken zu sehen. Am 30. Tage Exitus. Gewichtsverlust 520 g. Sektion: Im subkutanen Bindegewebe eine



talergroße, flache Höhle, zwischen den Muskelbündeln ein mehrfächeriger Absceß, gefüllt mit stinkendem Eiter, der auch wenige Körnchen enthält. Die tiefen Abscesse reichen bis auf das Periost, ohne jedoch den Knochen zu entblößen. Unmittelbar oberhalb des Knies ist ein bohngroßer, knotiger Absceß zu sehen. Im Eiter viele Spirochäten, Fadenbakterien, verhältnismäßig feine Fusiformen und sehr wenig Kokken nachweisbar.

22. 1440 g. Impfung aus dem Absceß von No. 21 intramuskulär. Schon nach 6 Tagen eine apfelgroße Schwellung. Wir entnahmen darauf, ohne den Absceß zu öffnen, mit Hilfe einer Pravaz-Spritze Eiter, der das gewohnte bakteriologische Bild zeigte. Nach 10 Tagen ging das Tier zu Grunde. Gewichtsverlust 190 g. Sektion: Außerordentlich stinkender, dünnflüssiger, schmutzig-brauner, jauchiger Eiter. Die Muskelpolster sind bloßgelegt, zwischen ihnen mit jauchigem Eiter gefüllte Taschen, die von gangränösen Fascien und Sehnenfetzen brückenartig durchquert werden. Der Prozeß reicht nach abwärts bis zur Knöchelgegend; in der Umgebung überall starkes, entzündliches Oedem. Im Eiter viele Spirochäten und Fäden, wenige Fusiformis-Bacillen und Kokken.

23. 780 g. Impfung wie bei No. 22. Am 7. Tage eine haselnußgroße Schwellung; nach 12 Tagen Exitus. Gewichtsverlust 110 g. Wir fanden bei der Sektion einen stinkenden Eiter enthaltenden subkutanen Absceß und in der Tiefe eine Höhle, aus der sich gleichfalls stinkender, dicker Eiter mit vielen Körnchen entleert. Die Muskeln erscheinen wie präpariert, zwischen ihnen hier und da gangränöse Taschen. Der Prozeß reicht nach abwärts bis unter das Knie. Mikroskopisch sind viele Spirochäten, Fadenbakterien, Bacillen, verhältnismäßig weniger Fusiformis-Bacillen nachweisbar und viele Kokken.

24. 1110 g. Impfung aus dem Absceß von No. 23 intramuskulär. Nach 5 Tagen verendet das Tier. Gewichtsverlust 160 g. Sektion: Starkes Oedem auf der linken Seite der Bauchwand. Das subkutane Bindegewebe des Schenkels ist gleichfalls ödematös gequollen, die oberflächlichen Muskelschichten scheinen in schmutzig-braungrüner Farbe durch. Aus 2 Stellen, wo wir Einschnitte machten, entleert sich eine sehr stinkende, schmutzig-braune, dünne Flüssigkeit von echt gangränösem Geruch. Durch die 2 Einschnitte gelangen wir in eine Höhle, deren Wand mit gangränösem, zerfetztem Belag bedeckt ist, doch hängen auch in die Höhle schmutzig-braune, gangränöse Muskel- und Sehnenfetzen hinein. Das dünne jauchige Exsudat enthält ungeheuer viele Bakterien, und zwar besonders viele Spirochäten, Kokken, Bacillenformen, weniger lange Fäden und Fusiformis-Bacillen.

25. 1030 g. Impfung wie bei No. 24. Nach 4 Tagen geht das Tier zu Grunde. Gewichtsverlust 130 g. Der Sektionsbefund ist Wort für Wort derselbe wie bei No. 24, so daß eine ausführliche Beschreibung überflüssig wäre. Der bakteriologische Befund weist insoweit eine Besonderheit auf, als in diesem Falle verhältnismäßig weniger Kokken und mehr Fusiformen zu finden waren, längere Fäden auch hier selten. Spirochäten und Bacillenformen auch hier massenhaft.

Wir halten es nicht für notwendig, uns ausführlicher mit den Fällen zu beschäftigen, wo die Impfung in die Bauchhöhle oder unter die Dura ausgeführt wurde (No. 1, 2, 5, 6). Bei diesen war das Resultat der Impfung nicht nur ziemlich unsicher, aber auch die eingetretenen Veränderungen waren derart, daß sie nicht recht verwertet werden konnten. Es genügt, zu erwähnen, daß wir bei den Kaninchen, bei denen infolge der Impfung eine Veränderung — Meningitis bzw. Peritonitis — eingetreten war, die im verwendeten Material vorhandenen Bakterien stark vermehrt fanden. Bedeutend wertvoller sind die Fälle, wo unter die Schenkelhaut oder in die Schenkelmuskulatur geimpft wurde.

Wenn wir diese Fälle mit Rücksicht auf Verlauf und Schlußergebnis der Infektion betrachten, so können wir 3 Typen aufstellen.

Bei einem Teil der Tiere war die Absceßbildung die charakteristische Veränderung, und zwar nur bei sehr wenigen war ein einziger Absceß, bei den meisten jedoch multiplexe Abscesse; gleichzeitig hatte der ganze Prozeß entschieden einen umsichgreifenden, schleichenden Charakter, manchmal mit langsam fortschreitenden, phlegmoneartig sich ausbreitenden Symptomen. Dieses Krankheitsbild bzw. diese Veränderung blieb beständig bis zum Verenden des Tieres, was in den einzelnen Fällen sehr verschieden lange Zeit brauchte.

Der Absceßinhalt bestand immer aus dickem, weißlichem, überaus stinkendem, nach Kot riechendem Eiter, der in der Regel Körnchen enthielt. Bei einigen Kaninchen blieben sehr kleine Abscesse lange Zeit hindurch bestehen, bis endlich auch diese Tiere nach 64—121—140 Tagen zu Grunde gingen. Bei diesen fehlten zwar in dem stark eingedickten, fast bröckeligen Eiter die Körnchen nicht, doch zeigten sie ausgesprochene Verkalkung mit Entartung ihrer Bakterien.

Bei einer zweiten Gruppe der geimpften Tiere trat kürzere oder längere Zeit nach Oeffnung der den obigen ähnlichen Abscesse — meistens nach einigen Tagen — eine von der Absceßwand ausgehende gangränöse Entzündung auf von sehr wechselnder Ausdehnung, verschiedenartigem Zerfall der Weichteile und von ausgesprochenem progressivem Charakter; sie erinnerte sehr an das Bild der auch beim Menschen vorkommenden *Gangraena humida*. In diesen Fällen gingen die Tiere viel rascher zu Grunde, und zwar meistens in 20 bis 23 Tagen (z. B. No. 9, 17, 18, 19). Der Eiter war im Beginn auch hier demjenigen der früheren Fälle ähnlich, ziemlich dick und körnig; nach Auftreten bezw. Steigerung der gangränösen Entzündung wurde aber der Eiter dünner, schmutzig-braun oder graubraun, der Gestank steigerte sich und die Körnchenbildung blieb aus, ohne daß sich indessen der bakteriologische Befund wesentlich geändert hätte.

Die dritte Gruppe der Impfungen zeigte einen sehr raschen Verlauf und sehr schwere anatomische Veränderungen. Die Tiere verendeten in einigen (5—6) Tagen. Ein eigentlicher Absceß kam gar nicht zur Ausbildung, sondern der Prozeß erschien sozusagen gleich von Anfang an im Bilde einer gangränösen, jauchigen Phlegmone und bewies seine progressive Natur auch dadurch, daß er in einigen Fällen vom Schenkel bis weit auf die Bauchwand übergriff. Von seiten der Muskeln, Sehnen und Fascien zeigten sich zwar nicht in jedem Fall die bei Gangrän in der Regel vorhandenen Gewebsetzen und der gangränöse Zerfall, aber das lockere subkutane und intermuskuläre Bindegewebe war ganz zu Grunde gegangen, so daß die Muskeln ganz bloßgelegt, gleichsam präpariert frei lagen, bedeckt von einem schmutzigen Belag mit einem dünnen grünlich-grauen oder braunen jauchigen Sekret. Daß bei diesen nicht ein dem zweiten Typus ähnlicher echter gangränöser Prozeß schwerere, tiefergehende Zerstörungen in den Weichteilen verursachte, sowie bröckeligen und fetzigen Zerfall, ist nur dem Umstand zu verdanken, daß hierzu nicht genügend Zeit war, denn die Tiere gingen — offenbar infolge von Resorption großer Mengen toxischer Substanzen — so rasch zu Grunde, daß Veränderungen höheren Grades auch gar nicht entstehen konnten. Das rasche Vorschreiten der Phlegmone ist aber wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß die Wirkung der stark vermehrten und hochgradige Virulenz besitzenden Kokken im Verhältnis zu den übrigen Bakterien bedeutend überwog.

Während nun in den meisten Fällen diese Typen ziemlich ausgesprochen waren und gut auseinander gehalten werden konnten, fanden wir auf der anderen Seite bei einigen Tieren auch Uebergangsformen. So bestand z. B. in einem Teil der Extremität noch ausgesprochene Eiterung, während in einem anderen schon die gangränöse Entzündung ihren Anfang nahm. Dann kamen aber auch Fälle vor, die weder hier noch dorthin gezählt werden konnten, denn außer einem eigentümlichen dünnen, grauen, fadenziehenden, rotzähnlichen Eiter erschienen die Muskeln entblößt, wie präpariert, die Absceßwand war mit einem mehr

fahlgrauen, nekrotischen Belag bedeckt, der bakteriologische Befund war derselbe wie in den früheren Fällen.

Ueber den bakteriologischen Befund der Deckglaspräparate, die wir aus Material von unseren Tierversuchen hergestellt hatten, haben wir nicht viel zu sagen. Immer finden wir dieselben Mikroorganismen, ob wir nun die aus den rein eiterigen oder aus den gangränösen Abscessen hergestellten Präparate betrachten.

In jedem Falle ohne Ausnahme finden wir massenhaft Spirochäten (Abb. 17—21) mit einer wechselnden Anzahl (6—9—10, manchmal noch mehr) von Windungen. Größtenteils sind sie fein und spitz, färben sich mit wässerigem Karbolfuchsin blaß. Manche sind aber länger, dicker, die Windungen sind weder so fein noch so gleichmäßig, auch färben sie sich bedeutend intensiver. Mit Hilfe der oben bei den Tierversuchen erwähnten Modifikation der Gramschen Färbung (mehrmaliges kräftiges Erwärmen der anilinwässrigen Gentianaviolettlösung beim Färben und sehr vorsichtiges Entfärben) konnten wir auch in diesen Präparaten verhältnismäßig gut gefärbte Spirochäten erhalten (Abb. 21). Manchmal bilden die Spirochäten ganze Knäuel (Abb. 18).

In ähnlich großer Zahl kommen im Exsudat die Fadenbakterien und Bacillenformen vor (Abb. 17—20). Diesbezüglich sind vor allem die Tierimpfungen interessant, wo wir Körnchen fanden. Diese stimmen mit denen, die wir beim Menschen fanden, vollkommen überein. Bei schwacher Vergrößerung erinnern sie einigermaßen an *Actinomyces*-Drusen, bei starker Vergrößerung aber findet man, daß sie aus lauter Fadenbakterien und Bacillen bestehen. Um es darzulegen, wie sehr die aus menschlichem und tierischem Eiter stammenden Körnchen einander ähnlich sind, genügt es, wenn wir auf die Abbildungen 10 und 25 verweisen. Trotzdem aber besteht zwischen beiden ein großer Unterschied, der sich aber nicht eigentlich auf die Struktur der Körnchen, sondern auf deren unmittelbare Umgebung bezieht. Während nämlich bei menschlichem Material die *Fusiformis*-Bacillen in großen Massen zwischen dem Konglomerat der einzelnen Körnchen oder deren Randpartien liegen, finden wir sie im Eiter der Kaninchenabscesse nicht in so zusammenhängenden Massen und nicht in so großen Mengen mit den Körnchen verklebt. Trotzdem aber ist die Behauptung berechtigt, daß die genannten Mikroben ihre Eigenschaft, in Körnchen, richtiger in zusammenhängenden Bakterienhaufen, zu erscheinen, auch während der Tierversuche beibehielten; aber beständig nur in jenen Fällen, wo der Prozeß rein eiterig war bzw. einfache Absceßbildung zur Folge hatte. Ging dagegen die Erkrankung in gangränöse Entzündung über, oder verlief sie sogar im Bilde einer gangränös-jauchigen Phlegmone, so bildeten die Fäden und Bacillenformen, die zwar auch in diesen Fällen sehr zahlreich vorhanden waren, nie zusammenhängende Haufen, Körnchen. Zu ihrer Charakteristik könnten wir dasselbe anführen, was wir schon bei Beschreibung jenes menschlichen Falles erwähnt haben, daß sie nämlich sehr verschieden lang, manchmal einer unregelmäßig gebrochenen Linie ähnlich und wellenförmig, ein anderes Mal schlingenartig zurückgeschlagen oder S-förmig sind oder daß sie wie ein stumpfes V oder wie ein fliegender Vogel gekrümmt aussehen (Abb. 17—25). Auch hier waren bedeutend kürzere Bacillenformen in großen Mengen zu sehen, die Ketten oder kleinere Haufen bildeten und scharf abgeschnittene oder etwas abgerundete Enden besaßen. Die aus frischeren Abscessen stammenden

färbten sich gleichmäßig und intensiv, während unter denen aus älteren Abscessen in großer Zahl auch etwas gequollene und stark körnige Fäden und Bacillen zu sehen waren (Abb. 22). Ihr Verhalten der Gramschen Färbung gegenüber war sehr verschieden. Während sich nämlich einzelne nach Gram gleichmäßig dunkelblau färbten, blieben andere mehr oder weniger blaß, ja sogar ganz farblos, ohne daß man diese allein aus diesem Grunde für ganz andere Bakterien halten dürfte. Uebrigens sahen wir ganz dasselbe auch in Deckglaspräparaten und Schnitten, die aus menschlichem Material hergestellt worden waren. Ausgesprochene echte Verzweigung haben wir bei den Fadenbakterien nie nachweisen können.

Fusiforme Bacillen sind im Vergleich zu den vorigen im Absceßleiter etwas weniger zu sehen, auch sind sie nicht in so großen Mengen vorhanden wie im menschlichen Material. Nichtsdestoweniger aber finden wir sie verstreut doch in jedem Präparat. Sie sind im allgemeinen etwas kürzer und feiner als die vom Menschen stammenden (Abb. 19). Größere Haufen, lange Ketten können zwar nicht nachgewiesen werden, doch kommen kürzere, aus einigen Gliedern bestehende Ketten in vielen Fällen auch im Exsudat der Kaninchenabscesse vor (Abb. 23). Sie weisen sehr wechselvolle Degenerationen auf, besonders im Inhalt älterer Abscesse. Außer solchen, die 2—3mal so lang sind als gewöhnlich und dabei steif, gibt es beiläufig normal lange Bacillen, deren Mitte aber kugelförmig aufgetrieben und deren beide Enden unvermittelt sich zuspitzen. Auch ihre Färbung ist zum Teil sehr ungleichmäßig, die einen färben sich in der Mitte, die anderen an beiden Enden intensiv, während die dazwischen liegenden Abschnitte blaß bleiben (Abb. 21, 23). Nach Gram färben sich die dünneren Formen blaß, bleiben sogar auch ganz ungefärbt, während die längeren, dickeren und besonders die in der Mitte aufgetriebenen — also gerade die Involutionsformen — sich auffallend intensiv färben. Es kann also nicht behauptet werden, daß sie der Gramschen Methode gegenüber ein beständiges Verhalten aufweisen, und in dieser Beziehung ähneln sie also den Fadenbakterien.

Schon zahlreiche Autoren haben, um die pathogene Wirkung der Spirochäte und des *Bacillus fusiformis* zu studieren, Tierversuche angestellt mit menschlichem Material, doch ist die Zahl derer, die einen Erfolg aufzuweisen hatten, gering. Ueber zahlreiche Versuche berichten Niclo und Marotte. Bei 21 erfolgreichen Tierimpfungen — darunter 19 subkutanen bzw. in die Schenkelmuskulatur — trat nach ungefähr 8 Tagen ein Absceß auf, der stinkenden Eiter von Salbenkonsistenz enthielt. Die Wand war rau, derb, knirschte beim Einschneiden und von schmutzig grauer Farbe (schankerförmig). 10—12 Tage nach Incision der Abscesse erfolgte Heilung, manchmal traten Rezidive auf. Im Absceßinhalt konnten außer verschiedenen Kokken fusiforme Bacillen und Spirochäten nachgewiesen werden. Silberschmidt impfte von seinem oben erwähnten Fall Ratten und Meerschweinchen subkutan und intramuskulär. Der Erfolg war Absceßbildung. Er hebt hervor, daß er die im Impfungsmaterial gefundenen Mikroorganismen auch noch nach Passage durch 4 Meerschweinchen im Eiter finden konnte, es gelang ihm also deren Weiterzucht auch im tierischen Körper. Steigerung der Virulenz hat er nicht wahrgenommen; nicht ein einziges Tier ging zu Grunde, trotzdem manchmal sehr große Abscesse zur Beobachtung gelangten. Vincent erwähnt ferner mehr oder weniger erfolgreiche Tier-

versuche, die er mit menschlichem Material vornahm; nach subkutaner Impfung eines tuberkulösen Kaninchens beobachtete er die Bildung eines stinkenden Geschwüres mit diphtherischem Belag und mit vielen fusiformen Bacillen in den abgestorbenen Geweben. Verneuil und Clado beobachteten nach Infektion mit Speichel einen Spirochätenabsceß, Graupner wies in einem nach subkutaner Impfung zur Entwicklung gelangten Absceß fusiforme Bacillen nach. Eichmeyer endlich sah nach vielen erfolglosen Versuchen bei 2 Meerschweinchen, die er mit Eiter aus einem Zahnfleischgeschwür, und einem 3., das er mit eiterig-nekrotischem Belag der Wangenschleimhaut subkutan geimpft hatte, stinkenden Eiter enthaltende Abscesse, die teils fusiforme Bacillen, teils Spirochäten in großer Zahl enthielten. Die mit Kulturen durchgeführten Tierversuche werden wir später erwähnen.

Indem wir nach diesem kurzen literarischen Ueberblick auf unsere Versuche zurückkommen, können wir behaupten, daß sie in mancher Hinsicht erfolgreicher waren. Unsere Versuche hatten nämlich — abgesehen von den in die Bauchhöhle geimpften Kaninchen No. 1 und 5, sowie von dem subkutan geimpften No. 8 — alle ein positives Resultat. Die Erhaltung und weitere Uebertragung der Bakterien gelang in einer Serie durch 3 Tierpassagen, in einer 2. Serie durch 6 Tierpassagen (vergl. die Tabelle) ohne jedes Hindernis; bei den später geimpften Tieren sogar sicherer und ausgesprochener als bei manchen anfangs geimpften, so daß wir also mit vollem Recht annehmen können, daß wir, falls wir die Tierversuche hätten fortsetzen wollen, auch späterhin Erfolg gehabt hätten. Ein wesentlicher Unterschied ist auch der, daß von unseren Tieren kein einziges am Leben blieb, es gingen auch diejenigen zu Grunde, bei denen die Eiterung keinen großen Umfang hatte, sondern die Absceßbildung mehr umschrieben geblieben war. Gänzliches Zuheilen der Abscesse nach spontanem Durchbruch oder nach Incision haben wir trotz der gewissenhaften chirurgischen Behandlung niemals beobachtet. Ausgenommen die Kaninchen No. 7, 13 und 14 mit mehr oder weniger zirkumskripter Absceßbildung, zeigte der Prozeß sogar entschieden progressiven Charakter teils mit multiplen Abscessen, teils unter Entwicklung einer schleichenden Phlegmone oder einer progressiven Gangrän. Wir wollen noch einige auffallende Umstände erwähnen, durch die unsere Versuche mit Bezug auf die pathogene Wirkung der beteiligten Bakterien noch an Interesse gewinnen. Unter Kaninchen, die wir zur selben Zeit und mit demselben Material geimpft hatten, kamen bei einigen bloß Abscesse zur Ausbildung, und zwar vereinzelt oder mehrere, während bei anderen rasch verlaufende gangränöse Prozesse auftraten, gleichgültig ob die Infektion mit dickem Absceßeiter oder gangränösem Exsudat geschah. Eine zweite interessante Beobachtung war, daß, während sich anfangs nur Eiterung bzw. einfache Absceßbildung zeigte, bei einem Kaninchen auch nach Oeffnen oder spontanem Durchbruch des Abscesses diese Natur der Krankheit keine Aenderung zeigte, indem nämlich die Eiterung in derselben Art weiter bestand oder höchstens zur Bildung multipler Abscesse führte, bei einem anderen Glied derselben Serie dagegen der Prozeß nach Incision in eine ausgesprochen gangränöse Entzündung überging. Worin die Erklärung für diese verschiedenartigen und verschieden intensiven Veränderungen zu suchen ist, können wir mit Bestimmtheit nicht feststellen. Jedenfalls muß man mehrere Umstände berücksichtigen, unter denen vielleicht der wichtigste die verschieden große Virulenz der Bakterien ist; die

am Anfang der Versuche schwächere Virulenz wurde durch die Tierpassagen gesteigert. Ferner Abnahme der Widerstandsfähigkeit des tierischen Organismus durch Schwächung infolge der bestehenden eiterigen Entzündungen; zugleich waren die Gewebe durch die Eiterung auch vorbereitet worden für die schwereren Zerstörungen, die von den einzelnen Bakterien angerichtet werden sollten, d. i. also für den gangränösen Zerfall, demnach war die vitale Kraft der Gewebe bloß lokal in hohem Grade herabgesetzt. Schließlich müssen wir, da sich gangränöser Zerfall oft erst nach der Absceßöffnung zeigte, auch daran denken, daß vielleicht aërobe Bakterien, deren Virulenz und Zahl unter dem Einfluß der äußeren Luft zugenommen hatte, in erster Linie Kokken, dann Fadenbakterien und Bacillen den gangränösen Zerfall der anfangs vielleicht einfach nekrotischen Gewebe verursacht hatten. Wir werden noch Gelegenheit haben, auf diese Frage zurückzukommen, wenn wir von den histologischen Veränderungen bzw. von der Anordnung der Mikroorganismen in den Geweben und ihrem Verhalten diesen gegenüber sprechen werden.

### III.

#### Züchtungsversuche und Tierinfektion mit Kulturen.

Vor allem müssen wir hier erwähnen, daß wir gelegentlich der Sektion unseres Falles sofort eine Menge Impfungen auf die gewöhnlichen Nährböden (wie Glycerinagar, Zuckeragar, Blutserum, Gelatine, Bouillon) machten. Wir impften mit Körnchen sowohl der Hirnhäute und der Lungenabscesse, als auch des Eiters der Mundhöhle, aber jeder Nährboden blieb steril, -ebenso ergab auch der flüssige Eiter der Hirnhäute ein negatives Resultat. Aus dem flüssigen Teile des der Mundhöhle und den Lungenabscessen entnommenen Eiters gediehen nur *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus*-Kulturen.

Als wir uns im Laufe der Tierexperimente überzeugten, daß alle 3 Mikrobenarten — die Kokken nicht gerechnet — während der Tierpassagen ständig erhalten werden können, versuchten wir, und zwar zuerst aus dem Abscesse des Kaninchens No. 9, sie auf künstlichen Nährböden zu züchten, was bei dieser Gelegenheit mit unverhofftem Erfolg gelang.

Es wäre außerordentlich langwierig und durchaus nicht übersichtlich, wenn wir über diese Züchtungsversuche ausführlich, in ihrer ganzen Weitläufigkeit, berichten sollten. Zu ihrer Erklärung können wir erwähnen, daß wir separat sowohl von den in dem Absceß befindlichen Körnchen, als auch von dem flüssigen Teile des Eiters auf 6 resp. 5 Nährböden und von jedem wenigstens in 3 Reagenzröhrchen impften. Jedes Reagenzglas untersuchten wir in Zeiträumen von 24, 48 Stunden und innerhalb Zwischenräumen von mehr oder weniger Tagen ohne Ausnahme in Deckglaspräparaten, und zwar wenigstens mit Fuchsin und nach Gram gefärbt, beständig wenigstens die 3 wichtigsten Bakterienarten: die Spirochäte, den *Bac. fusiformis* und das fadenförmige Bakterium mit Aufmerksamkeit verfolgend. Aus diesen Kulturen wählten wir nun je nachdem, ob sie diese 3 Mikroben aufwiesen, und welche von diesen, 4 Hauptkulturen aus, und zwar die mit 3 und 6, sowie die mit b und d bezeichneten, aus denen wir weitere Uebertragungen machten. Zur Erhaltung dieser späteren Generationen gebrauchten wir in jedem einzelnen Falle wenigstens 4 Nährbodenarten, die wir ebenfalls in der oben angegebenen Weise auf Deckglaspräparaten mit steter Aufmerk-

samkeit untersuchten. Aber während dieser Untersuchungen wuchs die Zahl unserer Kulturen, d. h. der Reagenzröhrchen, so stark an, daß es fast unmöglich war, die Versuche in ähnlichem Maße fortzusetzen, denn wir mußten so viele Deckglaspräparate prüfen, daß uns wegen anderweitiger Beschäftigung nicht genügend Zeit zur Verfügung stand. Unter solchen Umständen waren wir gezwungen, von der Erhaltung einzelner Kulturen durch mehrere Generationen hindurch abzustehen, da später unsere Arbeit auch dadurch erschwert wurde, daß wir auch aus Abscessen anderer Tiere Kulturen zu erhalten strebten, sowie aus der Gangrän und den Abscessen der mit Kulturen geimpften Tiere neuerdings zu züchten suchten, um unsere Versuche allen Erfordernissen gemäß wozumöglich zu vervollkommen. Unsere Untersuchung wurde infolge des Umstandes noch komplizierter, daß wir -- da die verschiedenen Arten der zu züchtenden Bakterien nicht zugleich gediehen -- auch schon zu einer Zeit, wo nur 1 oder 2 Bakterienarten auf unserem Nährboden gediehen waren, Uebertragungen zu machen suchten. Trotz der täglich erfolgten pünktlichen Anmerkungen und angefertigten Zeichnungen konnten wir selbst den Gang der Uebertragungen nur in der Weise verfolgen und uns unter den auf verschiedenen Nährböden in mehreren Serien und an verschiedenen Tagen übertragenen und mit derselben Zahl bezeichneten Generationen nur so orientieren, daß wir von jeder Stammkultur eine Stammtafel zeichneten derart, wie man gewöhnlich die Stammbäume zusammenzustellen pflegt (ebenso verfahren wir übrigens auch mit unseren Tierexperimenten). Das eben Gesagte beachtend, halten wir es für genügend, wenn wir über unsere Züchtungsversuche nur eine ausführliche und zusammenfassende Uebersicht geben, jedoch auch auf Einzelheiten eingehen, wenn sie irgendwie vom gewöhnlichen Ergebnis abweichen.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Notes de Parasitologie.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 1 figure.

### **A. Parasites végétaux.**

#### **1. Observations sur *M. intracellularis* (Weichselbaum) L. et N.**

Voici le résultat de quelques observations que j'ai fait sur ce micro-organisme, en me servant de cultures du type Jäger provenant du laboratoire du Prof. Král à Prague, et de cultures du type Weichselbaum obtenues par moi de deux cas de méningite cérébro-spinale observés à Lausanne.

Au point de vue morphologique, les deux formes se sont présentées identiques. Dans les cultures, le type Jäger a la tendance à donner des chaînettes de 3—4 éléments tandis que le type Weichselbaum n'en donne pas mais donne des formes en tétrade.

Le premier se colore, bien que faiblement, par le Gram, tandis que le second se décolore tout à fait. Les deux se colorent bien par la

méthode proposée par v. Wahl pour le gonocoque<sup>1)</sup>, et très bien par le bleu au Thymol, surtout en laissant agir 10', bleu qui se prête aussi pour la coloration du gonocoque<sup>2)</sup>. Mais les deux types diffèrent beaucoup pour les caractères des cultures. Le type de Jäger cultive très bien dans tous les milieux de culture et peut être repiqué pendant des mois à de longs intervalles, tandis que le type Weichselbaum ne se développe presque pas dans tous les milieux ordinaires et s'il n'est pas repiqué toutes les 24 ou 48 heures, on ne peut plus le repiquer.

Je résumerai en un tableau les caractères présentés par quelques cultures de ces deux types.

Type Jäger.	Type Weichselbaum.
Température: Cultive même à 20°—22°.	Ne cultive pas à 22°.
Agar limaces (Limaces triturées g 300, peptone g 10, Sel g 5, eau distillée g 1000):	Colonies analogues, mais moins granuleuses et plus transparentes.
Plaques: A l'œil nu, colonies à peine visibles, de la dimension d'une pointe d'épingle, sans aucune tendance à confluier. Au microscope, les colonies de surface sont rondes, à contour net, finement granuleuses, d'une coloration légèrement jaunâtre, à partie centrale un peu plus sombre. Colonies de profondeur à forme légèrement en losange.	Idem.
Incliné: Idem.	Point de développement.
Agar ordinaire: Petite colonie arrondie, jaunâtre à la surface et série de petites colonies rondes séparées les unes des autres le long de la ligne de piqure.	Très léger développement en surface.
Agar glyciné glycosé: Comme sur agar ordinaire.	Culture plus faiblement développée que le type Jäger.
Sérum de boeuf glyciné glycosé incliné: Strie à peine visible blanchâtre finement granuleuse.	Léger trouble sans voile. Dépôt blanchâtre très ténu au fond. En ensemençant le bouillon avec une forte dose de liquide cérébro-spinal du malade, on obtient un développement plus abondant.
Bouillon peptonisé: Trouble uniforme, sans voile et avec dépôt blanchâtre assez abondant au fond.	Pas de développement.
Gélatine à 20°—22°: Petite colonie blanchâtre granuleuse en surface. Colonies petites rondes en profondeur. Point de liquéfaction.	Point de développement.
Pomme de terre et carotte: Pas de développement visible, mais en raclant la surface on y trouve le microorganisme avec des formes involutives presque en massue.	Léger développement sans coagulation.
Lait: Bon développement sans coagulation.	

J'ai fait avec les deux types de microorganismes quelques inoculations aux animaux, dont voici les résultats:

a) Type Jäger: Avec une culture en bouillon, j'ai inoculé dans le cerveau par trépanation, un rat noir (*Mus rattus*) jeune, un rat blanc adulte, un cobaye et un lapin chacun avec  $\frac{2}{10}$  de c. c.

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

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



Le rat noir est très excité au 6<sup>e</sup> jour; il saute dans le bocal et il retombe. Puis il se calme et reste blotti dans la tourbe. Il succombe 12 jours après l'inoculation.

Le cobaye est triste à partir du 5<sup>e</sup> jour. Il succombe 16 jours après l'inoculation.

Le lapin meurt après deux mois sans avoir présenté aucun symptôme.

Le rat blanc n'a rien présenté.

Tant chez le rat noir que chez le cobaye et le lapin, la seule lésion observée a été une hyperémie du cerveau. Le microorganisme était localisé au point inoculé où j'ai pu la trouver à l'examen direct et sur les coupes chez les trois animaux et, par les cultures, seulement chez le rat noir et chez le cobaye.

Avec une culture en bouillon provenant du cobaye ayant succombé à l'infection j'ai inoculé dans le cerveau ( $\frac{2}{10}$  de c. c.) un second cobaye. Il est mort 27 jours après, fortement amaigri et avec les mêmes lésions que les autres animaux cités.

b) Type Weichselbaum: Avec  $\frac{2}{10}$  de c. c. de liquide cérébro-spinal d'un malade, liquide ayant séjourné 24 heures à l'étuve à 36°, j'ai inoculé dans le cerveau un rat noir (*Mus rattus*). Il a succombé après 2 jours, présentant de l'hyperémie du cerveau et méningocoques localisés au point inoculé.

Avec le même matériel, je pratique une inoculation nasale chez un lapin. Pour cette inoculation, j'ai suivi le procédé que j'ai fait employer il y a quelques années à M<sup>me</sup> Salomon pour l'inoculation de la rage au lapin<sup>1)</sup>, c'est à dire que j'ai enveloppé d'un tampon de coton l'extrémité d'une tige en fer, j'ai trempé le tampon dans le liquide cérébro-spinal à méningocoques et j'ai pénétré profondément dans une des cavités nasales pour atteindre les filets de l'olfactif. Le résultat a été complètement négatif et l'animal vit encore aujourd'hui.

Mes observations ne parlent pas en faveur de l'identité des méningocoques des types Jäger et Weichselbaum. Dans les deux cas de méningite cérébro-spinale que j'ai eu l'occasion d'observer à Lausanne, c'est le second qu'on trouvait dans le liquide cérébro-spinal des malades. Je n'ai pas pu le déceler au contraire dans le liquide d'une pleurésie survenue comme complication chez un de ces malades et qui était déterminée par *Streptococcus lanceolatus*.

2. Vitalité des cultures de *B. pestis* (Kitasato-Yersin) L. et N.

J'ai essayé de repiquer une cinquantaine de vieilles cultures en agar de *B. pestis*, gardées au laboratoire dans des éprouvettes fermées avec du coton et un capuchon en papier d'étain à la température de 15°—17°, dans l'obscurité. Comme ces cultures paraissaient presque desséchées, j'y ai ajouté une petite quantité de bouillon peptonisé stérile, je les ai placées à l'étuve à 25° et je les ai repiquées après 5 jours dans du bouillon peptonisé. Ont donné développement de *B. pestis*:

	Une culture âgée de 5 ans et	$4\frac{1}{2}$	mois			
	"	"	"	4	"	$10\frac{1}{2}$ "
	"	"	"	3	"	$8\frac{1}{2}$ "
Deux	"	"	"	3	"	4 "
	"	"	"	2	"	10 "

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. p. 70.

	Deux	culture	âgées	de	2	ans	et	6 $\frac{1}{2}$	mois
	"	"	"	"	2	"	"	5 $\frac{1}{2}$	"
	"	"	"	"	2	"	"	4 $\frac{1}{2}$	"
	Une	"	"	"	2	"	"	4	"
	"	"	"	"	1	"	"	11 $\frac{1}{2}$	"
	"	"	"	"	1	"	"	10 $\frac{1}{2}$	"
	"	"	"	"	1	"	"	6 $\frac{1}{2}$	"
	"	"	"	"		"	"	10	"

Ces recherches confirment la grande résistance des cultures de *B. pestis* quand elles sont gardées à la température de la chambre et dans un endroit sombre. On sait que Schultz<sup>1)</sup> a trouvé vivantes des cultures âgées de 4 ans, Hata<sup>2)</sup> des cultures âgées de 2 ans et 7 mois; Gotschlich<sup>3)</sup> des cultures âgées de 7 et 8 $\frac{1}{2}$  mois, desséchées et présentant des moisissures. Pour le contrôle de la vitalité des cultures de *B. pestis* il est indispensable de faire les repiquages en bouillon et non sur milieux solides, sur lesquels même des cultures assez récentes ne se développent parfois que faiblement, tandis que repiquées en bouillon peptonisé et passées alors de nouveau sur milieux solides elles s'y développent très bien. Il faut en outre placer les cultures à 22°—25°, plutôt qu'à 36°. A l'examen microscopique des vieilles cultures je n'ai trouvé que des formes involutives ayant perdu complètement les caractères de *B. pestis*, tandis que dès le 1<sup>er</sup> développement en bouillon, les formes typiques de ce microorganisme ont reparu et se sont maintenues sur les milieux employés pour le contrôle.

### 3. Bubons chez *Mus rattus* déterminés par *Corynebacterium Muris*.

Chez un *Mus rattus* mort au laboratoire, j'ai trouvé à la région de l'aisselle gauche deux petites taches rougeâtres, arrondies, d'1 mill. de diamètre en dessous desquelles on palpe des ganglions fortement enflés. A l'autopsie, j'ai trouvé à ce niveau 2 ganglions de la dimension chacun d'un petit grain de maïs, d'une coloration jaune-verdâtre. Ouverts, ils donnaient issue à un pus verdâtre, épais, sans odeur. A l'examen microscopique, j'ai trouvé dans ce pus d'innombrables bâtonnets fins, à extrémités arrondies, souvent avec une des extrémités très légèrement en massue, et courbés sur eux-mêmes, disposés parfois par deux et immobiles. Ils se coloraient uniformément par le bleu au Thymol et par la fuchsine de Ziehl, faiblement par la méthode de Gram. Leur dimension était de 2  $\mu$ . Ces bactéries se développaient bien sur tous les milieux de culture, à une température de 20°, mais surtout à 36°—37°, en présentant les caractères suivants:

En gélatine par piqûre à 20°: Petite colonie blanchâtre, comme tête d'épingle à la surface. Fine ligne granuleuse blanchâtre dans la profondeur. Point de liquéfaction.

En agar en plaques à 37°: Colonies blanchâtres comme tête d'épingle, à bords légèrement sinueux, finement granuleuses, à centre un peu plus sombre.

En agar incliné à 37°: Colonies blanchâtres, rondes, de la dimension d'une tête d'épingle, séparées les unes des autres à la partie supérieure de l'agar, confluentes dans une couche blanchâtre irisée à la partie inférieure. Flocons blancs dans l'eau de condensation.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. p. 169.

2) Cité dans Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. p. 523.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV. p. 195.

En agar par piqûre à 37°: Petite plaque blanchâtre luisante en surface. Léger développement à bords festonnés le long de la piqûre.

En serum de bœuf glyciné glycosé incliné, à 37°: Ligne blanchâtre granuleuse à bords légèrement festonnés. Dépôt blanchâtre floconneux dans l'eau de condensation.

En sérum de bœuf glyciné glycosé liquide, à 37°: Dépôt blanchâtre épais au fond. Si on l'agite il se soulève en flocons dans lesquels on remarque des colonies sphériques, comme petite tête d'épingle.

En bouillon peptonisé à 37°: Trouble uniforme, sans voile, et dépôt blanchâtre au fond.

Pomme de terre à 37°: Surface luisante sans développement visible.

Carotte à 37°: Faible pointillé blanchâtre.

Lait à 37°: Complètement coagulé au 3<sup>e</sup> jour.

A l'examen de toutes ces cultures, on trouve des formes analogues à celles observées dans le pus, mais les formes en massues sont plus nombreuses, et il apparaît des formes en biscuits et des filaments très longs, parfois légèrement renflés à une extrémité parfois ramifié.

Les essais d'inoculation m'ont donné les résultats suivants:

a) Un *Mus rattus* inoculé sous la peau de la cuisse gauche avec  $\frac{1}{2}$  c.c. d'une émulsion en bouillon du pus pris dans les bubons est mort 17 jours après sans avoir présenté de symptômes appréciables.

A l'autopsie on trouve au point inoculé un ganglion de la dimension d'un grain de chanvre rempli de pus verdâtre. La rate est légèrement tuméfiée. Il n'y a pas d'autres lésions. L'examen direct et les cultures du pus de bubon donnent une bactérie identique à celle trouvée chez le premier rat. L'examen direct et les cultures de la rate et du sang du cœur restent négatifs.

b) Un *Mus rattus* inoculé sous la peau de la cuisse droite avec  $\frac{1}{2}$  c.c. d'une culture en bouillon succombe après 19 jours. Il avait l'air triste, mais pas d'autres symptômes. A l'autopsie, on trouve une petite ulcération au point inoculé et deux ganglions comme grains de millet. A l'aisselle droite il y a aussi une petite ulcération et des ganglions comme grains de millet. Aucune autre lésion. Les bactéries, identiques à celles des cas précédents ne se trouvent que dans les ganglions. Il est presque sûr que l'infection des ganglions de l'aisselle a été due au grattage et transport dans cette région des bactéries injectées à la cuisse.

c) Un *Mus rattus* inoculé en même temps que le rat b et de la même façon n'a présenté qu'une petite tuméfaction au point inoculé et a complètement résisté.

d) Un *Mus rattus* reçoit sous la peau de la cuisse droite 1 c.c. du produit de filtration sur bougie Silberschmidt, d'une culture en bouillon de 5 jours. Il ne présente rien.

e) Un *Mus rattus* est inoculé en même temps que le rat d avec la même culture non filtrée et de la même façon. Il succombe après 18 jours, présentant une légère tuméfaction des ganglions au point inoculé et contenant les bactéries trouvées dans les autres cas.

Un lapin et un cobaye inoculés avec 1 c.c. de culture sous la peau de la cuisse n'ont rien présenté. Une ♀ de cobaye inoculée à la muqueuse du vagin avec le raclage d'une culture sur agar n'a rien présenté non plus.

L'affection que j'ai pu observer chez *Mus rattus* mérite d'attirer l'attention pour éviter une confusion possible avec la peste bubonique,

si par hasard on devait l'observer dans des zones où cette affection existe. Le diagnostic différentiel est très facile, car la bactérie, même dans le pus de bubons, présente des caractères qui n'ont rien de commun avec ceux de *B. pestis*. Les caractères morphologiques de cette bactérie la rattachent au genre *Corynebacterium* et elle pourrait porter le nom de *C. muris*.

### B. Parasites animaux.

1. Sur quelques protozoaires parasites observés dans le canton de Vaud.

Je signalerai la présence d'*Opalina ranarum* Purk. et Val. chez *Rana esculenta* et *Rana temporaria* (Orbe), chez *Bombinator igneus* (Vallamand), chez *Triton alpestris* (Poyette, Jura); de *Trichomonas batrachorum* Perty chez *Rana esculenta* et *Rana temporaria* (Orbe) et chez *Triton alpestris* (Poyette). *Trichomonas batrachorum* trouvé chez *Triton alpestris* avait le flagellum qui terminait la membrane ondulante long d'une fois et demie la longueur du corps. Ayant placé des *Trichomonas batrachorum* sur agar de Nissle et Wagener à 21—22° j'ai vu se former des corps arrondis granuleux et immobiles. Quelques-uns de ces corps semblaient en voie de division.

Chez quelques *Mus rattus* ayant succombé au laboratoire et présentant une forte hyperémie du gros intestin, j'ai trouvé dans le contenu intestinal un très grand nombre de *Trichomonas* présentant les caractères suivants:

Corps légèrement piriforme, à peu près aussi large que long, arrondi antérieurement, légèrement pointu postérieurement. Les 3 flagellums antérieurs longs à peu près comme le corps, le flagellum postérieur, terminant la membrane ondulante, un peu plus long que le corps. Membrane ondulante à grandes ondulations. Noyau bien visible, un peu rapproché de l'extrémité antérieure. Formes de repos rondes, ovoïdes ou piriformes, sur le contour desquelles on voit la membrane ondulante plissée.

Le contenu intestinal, délayé dans la solution physiologique, étendu en couche mince sur couvre-objet, séché à l'air et coloré par la méthode de Romanowsky, montrait au microscope des corps ovoïdes, piriformes ou ronds, parfois présentant encore un flagellum, d'une coloration

violacée, à espaces et vacuoles plus claires souvent avec un ou deux grains colorés en rouge (fig. 1). Leur aspect rappelait *Leishmania Donovanii*, parasite qui m'a toujours fait l'impression d'un Flagellé et non d'un Piroplasma, flagellé se présentant à l'état de repos.

Ce *Trichomonas* était rare dans l'intestin grêle, très abondant dans le colon et dans le coecum. Dans le rectum il n'y avait que des formes arrondies immobiles. Les essais de culture de ce flagellé en agar de Nissle et Wagener m'ont permis de constater la formation de kystes à double contour contenant des corpus-



*T. muris* coloré par le Romanowsky.  
Gross. environ 100 fois.

cules ronds. Des corpuscules ronds analogues à ceux trouvés dans les kystes se trouvaient libres, mais même par le chauffage je n'ai pas pu constater de mobilité de ces corpuscules. Le développement de ce *Trichomonas* me semble analogue à celui que j'ai observé chez *Trichomonas caviae*<sup>1)</sup>. La dissémination a probablement lieu par l'intermédiaire des formes enkystées. Je ne sais pas si cette espèce a déjà été observée par d'autres observateurs; au cas où elle n'aurait pas été observée, je propose le nom de *Trichomonas muris*.

2. Nouvelles observations sur la dissémination des helminthes.

Dans un précédent travail<sup>2)</sup> j'ai exposé le résultat de la recherche des œufs d'helminthes dans 315 matières fécales de l'homme récoltées le long des chemins. Disposant d'une autre série d'examen, j'en donnerai ici le résumé en un tableau et j'indiquerai par:

- + les œufs très nombreux.
- < les œufs nombreux.
- les œufs rares.
- 0 le manque d'œufs.

No.	Localité	Date	<i>A. lumbricoides</i>	<i>T. trichiurus</i>	
1	Orbe (Canton de Vaud)	4 XII. 04	+	+	
2	Idem	"	0	0	
3	"	"	0	0	
4	"	25 XII. 04	+	<	Plusieurs œufs d' <i>A. lumbricoides</i> ne sont pas fécondés
5	"	"	0	—	
6	"	"	<	—	
7	"	"	+	—	Idem
8	"	"	0	—	
9	"	12 II. 05	0	—	
10	"	"	0	—	
11	"	"	0	—	
12	"	16 III. 05	+	<	
13	"	19 III. 05	0	—	
14	"	"	0	—	
15	"	"	0	—	
16	"	4 III. 06	0	—	
17	"	"	0	—	
18	"	"	0	—	
19	"	"	<	—	
20	Villeneuve (Canton de Vaud)	18—19 XII. 04	+	0	Idem
21	Idem	"	+	—	Idem
22	"	"	+	—	Idem
23	"	"	—	0	
24	"	"	+	—	
25	"	"	0	—	
26	"	"	0	—	
27	"	"	0	—	
28	"	"	0	—	
29	"	"	0	—	
30	"	"	0	—	
31	"	"	+	—	Idem

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. p. 309 et Bd. XXXV. p. 81.

2) Therapeut. Monatshefte. 1905. Juli.

No.	Localité	Date	<i>A. lumbricoides</i>	<i>T. trichiurus</i>	
32	Villeneuve (Canton de Vaud)	18—19 XII. 04	0	—	
33	Idem		0		
34	"	22 XII. 04	0		
35	"	"	0		
36	"	"	0		
37	"	"	0		
38	"	"	0	+	
39	"	"	0		
40	"	"	0		Idem
41	"	"	+		
42	"	"	0		
43	"	"	+		
44	"	"	+		
45	"	Fin décembre 04	+		
46	"	"	+	^	
47	"	"	0		
48	"	"	+		
49	"	"	0		
50	"	"	+	^	
51	"	"	+	+	
52	"	"	+		
53	"	"	+		
54	"	"	0	0	
55	"	"	0		
56	"	"	+	0	La majorité des œufs d' <i>A. lumbricoides</i> n'est pas fécondée
57	"	"	0	0	
58	"	"	+		Plusieurs œufs idem
59	"	"	0		
60	"	"	+		
61	"	"	0		
62	"	"	+		
63	"	3 II. 05	+	+	
64	"	"	+		Idem
65	"	"	0		
66	"	"	0	^	
67	"	"	0	^	
68	"	"	0		
69	"	"	+		
70	"	"	+		
71	"	"	+		Idem
73	"	"	0		
74	"	"	0		
75	"	"	+		
76	"	"	0		Il y avait aussi des œufs de <i>D. lanceolatum</i> (cas cité dans Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX. p. 230), plusieurs œufs d' <i>A. lumbricoides</i> ne sont pas fécondés
76	"	"	+	+	
77	"	"	+	+	
78	"	"	0		
79	"	"	0		
80	"	22 II. 05	0		
81	"	"	—		
82	"	"	+	—	La majorité des œufs idem

No.	Localité	Date	<i>A. lumbricoides</i>	<i>T. trichiurus</i>	
83	"	"	0	0	
84	"	"	—	+	
85	"	"	++	—	
86	"	"	++	+	
87	"	"	>	0	
88	"	"	0	—	
89	"	"	+	—	
90	"	"	0	—	
91	"	"	0	—	
92	Montcherand (Canton de Vaud)	26 III. 05	0	—	Il y avait aussi quelques œufs de <i>B. latus</i>
93	Idem	"	0	+	
94	"	"	0	>	
95	"	"	>	>	
96	Follaterres (Canton du Valais)	29 III. 05	+	0	Plusieurs œufs d' <i>A. lumbricoides</i> ne sont pas fécondés

Si nous jetons un coup d'œil sur ce tableau nous constatons que: Sur 96 fèces examinées, 76 contenaient des œufs d'helminthes, c'est à dire 79 %.

Parmi les espèces d'helminthes nous trouvons: 46 fois *A. lumbricoides*; 65 fois *T. trichiurus*, 1 fois *B. latus*; 1 fois *D. lanceolatum*.

Dans 35 cas il y avait association d'*A. lumbricoides* et de *T. trichiurus*; dans 1 cas de *T. trichiurus* et de *B. latus* et dans un cas de *T. trichiurus* et de *D. lanceolatum*.

Ces recherches confirment donc les précédentes dans lesquelles sur 315 fèces examinées j'en avais trouvées infectées 224 (71 %).

### 3. *Necator americanus* Stil. observé à Lausanne.

Je signale la présence de cette espèce d'*Uncinaria* chez un enfant hospitalisé à l'hôpital cantonal de Lausanne (service de M<sup>r</sup> le Prof. Bourget), enfant ayant passé quelques temps au Brésil. Mes expériences précédentes<sup>1)</sup> sur la résistance des larves d'*Uncinaria* et leur pénétration à travers la peau doivent certainement être rapportées à *N. americanus* et non à *U. duodenalis* car elles ont été faites avec des œufs qui m'avaient été obligeamment fournis par la clinique médicale de l'hôpital cantonal et provenant en partie de ce même enfant et de sa mère, déjà hospitalisés les années précédentes, et d'une autre personne qui avait aussi vécu en Amérique. Comme je n'avais jamais reçu de vers, il m'avait été impossible d'établir le diagnostic exact de l'espèce d'*Uncinaria* avec laquelle j'avais à faire. Mes expériences de 1906 confirmeraient donc la possibilité de pénétration des larves de *N. americanus* à travers la peau.

### 4. Pseudo-parasitisme d'un myriapode dans l'intestin d'une femme.

En avril 1906, j'ai reçu de M<sup>r</sup> le pharmacien Cottier (Lausanne) une myriapode qui venait d'être évacué avec les matières fécales par une femme qui souffrait de troubles intestinaux. Ce myriapode n'était autre chose que *Geophylus longicornis* Leach. comme M<sup>r</sup> le Prof. Faes a bien voulu contrôler. Les cas de pseudo-parasitisme de myriapodes chez l'homme qui avaient été cités jusqu'à maintenant étaient au

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX. p. 230 et Bd. XLI. p. 643.

nombre de 44<sup>1)</sup> dont 34 dans les voies aériennes et 10 dans l'appareil digestif.

5. Parasitisme d'*Ornithomyia avicularia* L. chez l'homme.

J'ai observé cinq cas (4 à Orbe et 1 à Lausanne) de parasitisme de cette espèce sur l'homme et dans chaque cas il n'y avait qu'un seul exemplaire. Elle détermine des piqûres très douloureuses accompagnées de démangeaison. Dans un cas elle avait provoqué au bras une petite éruption de pustules rouges, de la dimension d'une tête d'épingle. Dans deux cas, j'ai pu établir qu'*O. avicularia* provenait d'*Hirundo rustica*. En effet, une des personnes piquées couchait dans une chambre dans le voisinage immédiat de nids d'hirondelles. Dans un autre cas, une hirondelle entra dans la chambre jusqu'au dessus du lit dans lequel une personne était couchée. Immédiatement après, la dite personne fut piquée au cou et elle captura un exemplaire d'*O. avicularia*.

Lausanne, 4 Mai 1907.

Nachdruck verboten.

## Beobachtungen über Beweglichkeit und Agglutination der *Spirochaete pallida*.

[Aus dem syphilidologischen Laboratorium des Institutes für experimentelle Medizin zu St. Petersburg (Vorsteher: Prof. D. Zabolotny).]

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. D. Zabolotny und Dr. Maslakowetz.

Mit 5 Figuren.

Die Frage von der ätiologischen Bedeutung der Schaudinn'schen *Spirochaete pallida* gilt für die Mehrzahl der hervorragenden Mikrobiologen und Syphilidologen als im bejahenden Sinne gelöst. Nach zahlreichen, rasch aufeinanderfolgenden Bestätigungen der Entdeckung von Schaudinn und Hoffmann zweifelt niemand mehr, daß die *Spirochaete pallida* nicht eine zufällige Begleiterscheinung der Syphilis ist, sondern in deren Aeußerungen eine wichtige Rolle spielt. Im Artikel „Die experimentelle Syphilisforschung“, veröffentlicht in den Verhandlungen des IX. Dermatologischen Kongresses in Bern, schreibt Neisser: „Da kam 1903 die Entdeckung von Metschnikoff und Roux, daß Affen für Syphilis empfänglich seien, und 1905 wurde durch die Entdeckung des der Wissenschaft so jäh und grausam entrissenen Schaudinn in der *Spirochaete pallida* der nach meiner Ueberzeugung sichere Syphiliserreger gefunden, und so sind endlich uns die so lange und heiß ersehnten Arbeitsmethoden gegeben und die Möglichkeit, die vielen tagtäglich schmerzlich empfundenen Lücken unserer Diagnostik und Therapie auszufüllen, erschlossen.“

Ungeachtet aber derartiger Erklärungen und der rasch fortschreitenden Bearbeitung der Frage über das Vorfinden der Spirochäten bei verschiedenen Syphilisformen, die ausführlich in der Monographie von E. Hoffmann auseinandergesetzt ist, werden einzelne Stimmen laut, welche die Spirochäten mit Nervenenden und Fasern der Binde-

1) Arch. de Parasitologie. T. I. p. 452 et T. VI. p. 245 et 631.



gewebe zu identifizieren suchen. Solchen Voraussetzungen wurde wiederholt die Erwägung entgegengehalten, daß bei Personen, die an Syphilis nicht litten, keine Spirochäten zu finden sind, und daß dieselben nicht nur in Geweben, sondern auch im Blute sowie im Lumen der Gefäße vorkamen.

In vorliegender Mitteilung sind wir in der Lage, auf Erscheinungen hinzuweisen, welche unserer Ansicht nach sehr überzeugend für den mikrobischen Charakter und die spezifische Bedeutung der Spirochäten bei Syphilis sprechen.

Vor allem ist es uns gelungen, dank der Vervollkommnung der Methodik der Spirochätenentnahme, dieselben von Kranken in bedeutenden Mengen zu erhalten. Zu diesem Zwecke bedienen wir uns des Bierschen Absaugeapparates. Zum Absaugen wird entweder ein Gummiballon oder eine mit einem Schlauch versehene Metallpumpe angewandt. Die Spitzen — in verschiedenen Größen — sind aus Glas. Abgesaugt wird von der Oberfläche der *Ulcera indurata* oder *Papeln*<sup>1)</sup>. Das erhaltene Serum enthält Spirochäten in bedeutend größeren Mengen als bei anderen Methoden der Entnahme. Das auf diesem Wege gewonnene Spirochätenmaterial dient zum Studium und zur Untersuchung der lebendigen Spirochäten auf ihre Beweglichkeit. Anfangs führen die Spirochäten sehr lebhaft, charakteristische Bewegungen aus, indem sie sich um ihre Achse drehen und schlängeln. Am leichtesten sind sie an Punkten, welche das Licht stark brechen, zu erkennen (Centrosom, Kern?). Bei künstlicher Beleuchtung (Apochr. 2 mm  $\frac{1}{12}$ , Kompens.-Okul. 12), im Gesichtsfelde fixiert, erweisen sich solche Punkte als zu Spirochäten gehörend, welche die typischen tiefen Windungen und eine energische aktive Beweglichkeit zeigen. Einige Beobachtungen, die übrigens noch nicht genügend geprüft sind, lassen vermuten, daß die Spirochäten ähnlich den Geißeln beim Sumpffieber oder den Spermatozoiden bei Coccidien entstehen.

Nach Zugabe von physiologischer Lösung zu solchem Material können die Spirochäten im suspendierten Zustande einige Tage lang (bis zu 1 Woche) erhalten werden. In Gegenwart von Serum von Personen, welche längere Zeit an Syphilis litten, ist die höchst charakteristische Erscheinung der Agglutination der Spirochäten zu beobachten. Die Spirochäten nähern sich und kleben sich mit den Enden, ähnlich wie Trypanosomen, zusammen, indem sie sternartige strahlenförmige Figuren bilden (Fig. 1, 2, 3). Das folgende Stadium besteht in größerer Anhäufung von Spirochäten und Bildung von Knäueln. Die an der

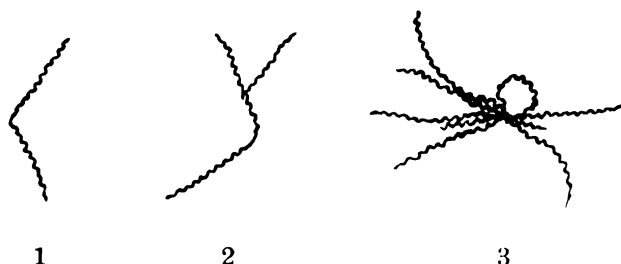


Fig. 1, 2, 3. Anfangsstadium der Agglutination.

1) Das klinische Material wurde uns von Herrn Dr. A. Solowieff und Herrn Prof. Dr. S. Kulnjeff in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt.

Peripherie haftenden Spirochäten bewahren noch eine gewisse Beweglichkeit, jedoch nimmt diese allmählich ab. Eine vollständige Agglutination tritt nach 3—4 Stunden ein. Zu dieser Zeit erreichen die Knäuel eine bedeutende Entwicklung (Fig. 4, 5), und es lassen sich aus dem

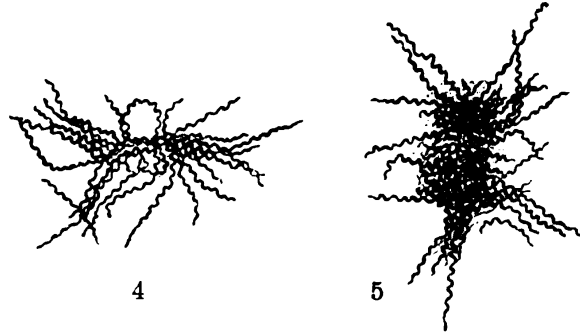


Fig. 4, 5. Spirochätenklumpen.

Material sehr schöne Präparate herstellen, die zweifellos beweisen, daß man eine spezifische Agglutinationserscheinung der Spirochäten vor Augen hat.

Bei weiterem Verbleiben der Spirochäten im agglutinierenden Serum erleiden sie große Veränderungen; die Knäuel verwandeln sich in körnige Klumpen. Einzelne Spirochäten, die noch zu sehen sind, färben sich blaß und zerfallen in Reihen von Körnern; in den Klumpen sind selbst in gefärbten Präparaten noch kaum einzelne verwirrte Spirochäten zu unterscheiden, während im Anfang der Aufbau des Knäuels aus einzelnen Spirochäten sehr deutlich war.

Die Schwierigkeit, Spirochäten bei tertiären Formen nachzuweisen, ist vielleicht durch die Ausartung jener zu erklären.

Die Untersuchungen in der eingeschlagenen Richtung werden von uns weitergeführt und dürfen noch nicht als abgeschlossen betrachtet werden, dennoch haben wir bereits Gründe genug, die beobachtete Erscheinung als spezifisch zu betrachten und in derselben ein wichtiges Hilfsmittel zum Studium der Immunität gegen Syphilis zu sehen<sup>1)</sup>.

1) Ueber die von uns erreichten Resultate haben wir am 14. Februar im Kalinskischen Krankenhause und am 23. Februar in der Sitzung der Mikrobiologischen Gesellschaft in St. Petersburg berichtet. Nachdem der Bericht dem Drucke übergeben war, erhielten die Verff. die Mitteilung von Landsteiner und Mucha aus dem Laboratorium von Finger über ähnliche Beobachtungen mit Hilfe von Dunkelbeleuchtung.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Mechanismus der mikrobiziden Tätigkeit des Organismus in den Infektionen.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorinm der K. Universität zu Neapel.]  
 Von Prof. Dr. N. Pane<sup>1)</sup>.

Mit 1 Tafel.

Das wichtige und umfangreiche Thema der Art und Weise, wie die virulenten Bakterien einer gegebenen Krankheit nach und nach aus dem kranken Organismus verschwinden, wenn dieser der Genesung zuschreitet, fährt fort, von seiten zahlreicher Forscher Gegenstand unablässiger Untersuchungen zu sein, und man darf wohl behaupten, daß die Frage noch weit davon entfernt ist, vollkommen gelöst zu sein. Selbstverständlich ist diese Tatsache zu begreifen, da unsere wissenschaftlichen Kenntnisse des intimen Mechanismus, durch welchen die Mikroben vernichtet werden, oft nur induktiv und jedenfalls nicht mit den unbestreitbaren chemischen Reaktionen *in vitro* zu vergleichen sind.

In einem Bericht, den ich 1903 über diesen Gegenstand im ital. Kongreß über Innere Medizin im Auftrage der Präsidenz hielt, versuchte ich darüber ein möglichst vollständiges Bild zu geben, indem ich mich besonders auf persönliche Untersuchungen, sowie auf solche allgemein angenommene der bekanntesten Forscher stützte<sup>2)</sup>.

Aber, wie gesagt, ist der Gegenstand durchaus nicht erschöpft und deshalb glaube ich, werden die Berichte über meine weiteren ausführlichen Studien, die ich in der Folge ausführte, nicht ohne Interesse sein. Diese knüpfen sich an eine Frage, die ich schon am internationalen medizinischen Kongreß 1894<sup>3)</sup> erörterte, daß nämlich die Phagozytose, wie sie damals von ihrem berühmten Entdecker Metschnikoff und seinen Mitarbeitern aufgefaßt wurde, nicht in absoluter Weise im Verhältnis zu dem Schutz des Organismus aufzunehmen sei. Im folgenden Jahre bewies ich über denselben Gegenstand, daß die von den Phagozyten aufgenommenen Bakterien in denselben ihre Anwesenheit in Form von mit Methylenblau stark färbaren Granulationen zeigten, die ich bakteriische Granulationen nannte<sup>4)</sup>. Bildeten sich diese Granulationen im Bakterium vor der Aufnahme oder im Innern des Phagozyten als Reste des verdauten Mikroben? Die gegenwärtigen Untersuchungen lösen diese Frage.

Unter den verschiedenen Kaninchenrassen, mit denen ich experimentierte, habe ich eine gefunden, deren Vertreter größer als die gewöhnlichen Kaninchen sind. Diese haben lange, oft herabhängende Ohren, und es scheint, daß sie, nach Brehm, eine besondere Art bilden. In meinen Untersuchungen über den Milzbrand haben sich nun diese letzteren etwas widerstandsfähiger als die gewöhnlichen Kaninchen gezeigt, aber im Gegensatz dazu ist in ihnen die Phagozytose weniger energisch und rasch.

1) Bericht an die med.-chirurg. Akademie Neapel in der Sitzung vom 17. März 1907.

2) Pane, N. Die heutigen Aussichten über die Immunität. (Atti del Congresso de Med. interna 1903.)

3) Pane, N. Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Bd. XIV. p. 248.

4) Pane, N. Atti dell' Accad. medico. chirurg. Napoli 1895 und Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Bd. XVII. p. 789.

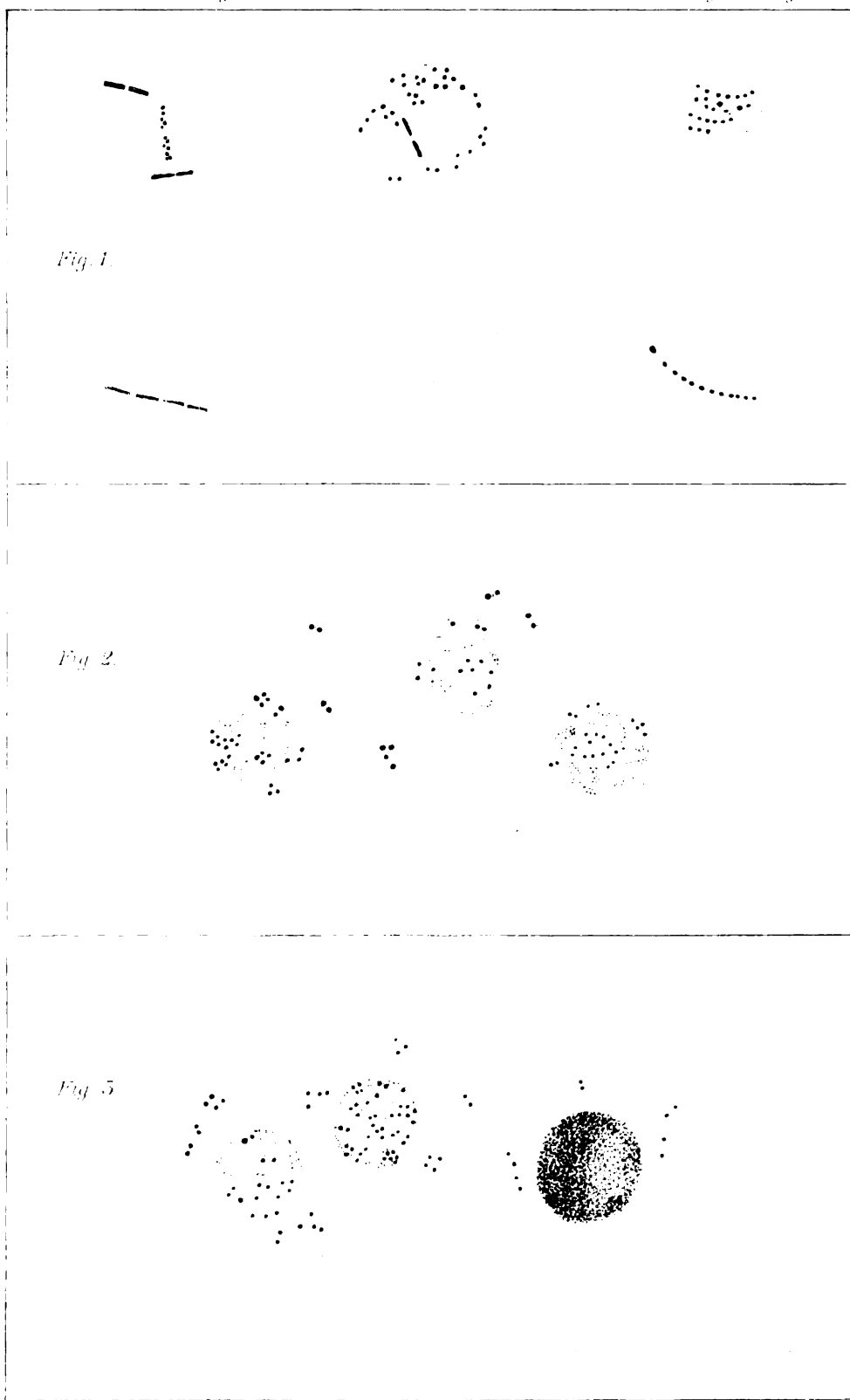
Untersucht man nun mikroskopisch die Milz der Kaninchen, welche bei der Milzbrandinfektion mit Verspätung zu Grunde gegangen sind, d. h. 4 oder 5 Tage nach der Inokulation, so beobachtet man extracelluläre, mit Methylenblau leicht gefärbte Bacillen und in ihrem Protoplasma entdeckt man stark gefärbte Granulationen, vollkommen ähnlich den Körnchen, die in der Literatur unter dem Namen Ernst Babes bekannt sind.

Diese Bacillen, wie aus den Präparaten, die ich vorgelegt habe<sup>1)</sup> und aus der Zeichnung (s. Fig. 1) klar ersichtlich, zeigen abgerundete Extremitäten, das Septum zwischen dem einen und anderen Gliede verschwunden, die Form unregelmäßig.

Manchmal hat dagegen der Körnchen enthaltende Bacillus regelmäßige Form, aber er ist größer als der normale. Wenn man in den genannten Präparaten die bakterische Granulationen enthaltenden Zellen aufmerksam untersucht (s. Fig. 1), so sieht man im Protoplasma derselben den äußerlich stehenden vollkommen ähnliche Körnchen enthaltende Bakterien; nur sind die bazillären Umrisse selten rein zu unterscheiden. Dagegen sind häufig allein die Körnchen scharf sichtbar, die unter der Wirkung des Methylenblau eine tiefblaue Färbung mit violetter Nuance (metachromatische Färbung) annehmen. Daß in den den tierischen Organismus vergiftenden Bakterien die obengenannten Körnchen erscheinen können, ehe sie von den Phagocyten aufgenommen sind, sieht man auch deutlicher, wenn man unter besonderen Verhältnissen mit extrem virulenten Pneumokokken experimentiert. Ich habe gegen dieses Bakterium einige Kaninchen derselben Rasse und Größe schwach immunisiert und dann jedem derselben ins Peritoneum 0,5 ccm einer Bouillonkultur dieses Bakteriums inokuliert, von solcher Virulenz, daß 0,00000001 ccm im neuen Kaninchen eine tödliche Infektion hervorruft. Der Versuch wurde so ausgeführt, daß ein Kaninchen nur Bouillonkultur bekam, ein zweites zusammen mit Bouillonkultur 0,1 ccm Antipneumokokkenserum der stärksten von mir erhaltenen Energie, ein drittes 0,3 ccm, ein viertes 0,5 ccm und ein fünftes 1 ccm mit resp. 0,5 ccm der obengenannten Bouillonkultur vermisches Serum. All diese Kaninchen wurden 4 Stunden nach der Inokulation getötet und das in dem Bauchfelle gebildete Exsudat wurde mit aller aseptischen Vorsicht entnommen. Das Exsudat wurde teils in Bouillon gebracht, um die eventuelle Sterilität zu untersuchen und teils zur mikroskopischen Untersuchung gebracht. Das Kaninchen, welches die größte Menge Exsudat gab, war das zweite (Inocul. 0,1 Serum); das erste (ohne Serum) gab eine kleinere Menge und der Reihe nach weniger das 3., das 4. und das 5., das eben für die Untersuchung genügte. Betreffs der Sterilität des Exsudates entwickelte sich der Pneumococcus nur aus dem des ersten, indem die Exsudate des 2., 3., 4. und 5. Kaninchens vollständig steril blieben.

Die überzeugendsten Präparate habe ich vom 1. und 2. Kaninchen erhalten und von diesen habe ich zwei Versuchsproben der Prüfung der

1) Die mit der nötigen Vorsicht ausgeführten Trockenpräparate, sei es von Blut wie von Milzsubstanz oder Exsudat, so daß die Struktur der Phagocyten nicht im mindesten verändert werde (das Aufeinanderstreichen der Deckgläschen zu vermeiden), werden einige Sekunden lang mit Methylenblau in  $\frac{0}{100}$  wässriger Lösung gefärbt und nach leichtem Waschen in Wasser mit Oelimmersion ( $\frac{1}{12}$  Leitz oder Koristka) untersucht. Es ist notwendig, daß man zwischen die beiden Gläser anstatt Kanadabalsam Wasser tut, dessen Verdampfung man verhindern kann, indem man die Ränder des Deckgläschens mit Cedernholzöl bestreicht.



© 1914, J. P. G.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena



Akademie vorgelegt. Aus den genannten Präparaten und Zeichnungen (s. Fig. 2 und Fig. 3) ergibt sich:

1) Die zur Inokulation angewandten Diplokokken, die im normalen Kaninchen sich in leicht ovaler oder verlängerter Form und, mit Methylenblau gefärbt, ohne Kapsel zeigen, haben hier dagegen (s. Fig. 1) eine rundliche Form angenommen, in der man einen zentralen Teil (Kern?) bemerkt von der Größe fast gleich der der bakterischen Körper, die man gleichzeitig in den Phagocyten beobachtet. Dieser stark gefärbte Teil des Coccus, den man sehr wohl einen Kern nennen könnte, ist von einem größeren Teile (Protoplasma?) umgeben, dessen Färbungsintensität von innen nach außen abnimmt. Der ganze Coccus erscheint wie angeschwollen und größer als der gewöhnliche.

Ungeachtet dieser sichtbaren Veränderung entwickeln sich diese Kokken weiter in geeigneten Nährböden.

2) Im zweiten Kaninchen, bei dem das Exsudat sich als steril erwies, im Gegensatz zu dem ersten vorstehend beschriebenen, sind die extracellulären Kokken bis auf den nukleären Teil reduziert, der stark blau mit violetter Nuance gefärbt erscheint. Manchmal erscheinen einige dieser Kerne von einer farblosen Zone (Protoplasma?) umgeben. Augenscheinlich stellen dieselben, da das Exsudat sich als steril erwies, die Ueberreste der sterilisierten Kokken dar. Den größten Teil derselben bemerkt man außerhalb der Zellen, diese dagegen zeigen ihrerseits deren auch in ihrem Protoplasma.

Aus den angegebenen Tatsachen, die ich hervorgehoben habe, erscheint mir die Folgerung unbestreitbar, daß die bakterischen Granulationen, die ich 1895 zuerst beschrieb, ein bakterisches Residuum sind (Ernst Babes' Körnchen), das sich unabhängig von der Wirkung des Protoplasmas der Phagocyten bilden kann.

Es ist nicht der Zweck dieser Arbeit, in die schon weitläufig erörterte Theorie der Art und Weise, wie die Gegenkörper das Bakterium angreifen und dessen Tod verursachen, einzugehen. Die von R. Pfeiffer begonnenen Untersuchungen über den wirksamen Neubildungsstoff des Blutplasmas haben, abgesehen von den Divergenzen im Detail, dank der Arbeiten J. Bordets, Ehrlichs und Morgenroths und anderer Forscher einen Riesenschritt getan, so daß wir heute genug solide wissenschaftliche Kenntnisse erlangt haben, um uns bei der Deutung der verschiedenen Phänomene orientieren zu können.

In meinen Experimenten, wie wir gesehen, habe ich zwei verschiedene Bakterientypen verwendet; das eine, der Milzbrandbacillus, gehört zu einer Gruppe, welche in vitro durch das Serum des normalen Kaninchens sterilisierbar ist; das andere, der Pneumococcus, gehört zu der in vitro durch genanntes Serum nicht sterilisierbaren Gruppe. Dennoch haben wir in dem einen und dem anderen Falle gesehen, daß die Veränderungen, die sie im Organismus außerhalb der Phagocyten erleiden, die gleichen sind, man kann sogar im allgemeinen sagen, daß die mittels des Mikroskopes nachweisbare Veränderung außerhalb beginnt und die letzte Phase im Innern des Phagocyten vollenden kann. Da wir die größte Veränderung gesehen haben, wenn die Bakterien zusammen mit dem Serum von gegen dieselben immunisierten Tieren eingepfropft wurden, so folgt daraus, daß die Veränderung, welche die virulenten Bakterien während der Infektion erleiden, besonders dem sich im Organismus neubildenden Gegenkörper zuzuschreiben ist, der sie angreift (Amboceptor nach Ehrlich, Sensibilisator nach Bordet), in-

dem es die Wirkung des normalen Gegenkörpers, des Alexins, befördert. Erst nachdem dieser Prozeß begonnen hat, kann die phagocytische Tätigkeit der Zellen in Wirkung treten<sup>1)</sup>.

Zur Unterstützung des Gesagten wären noch andere Tatsachen aus der unbefangenen Prüfung der Erscheinungen anzuführen, die die Infektionen begleiten, aber ich beschränke mich darauf, nur eine anzudeuten, die ich in verschiedenen Infektionen (Milzbrand, Streptococcemie, Pneumococcemie) beständig beobachtete, welche in den Kaninchen mittels hypodermischen Injektionen von Virus hoher und rascher infektiöser Wirksamkeit hervorgebracht wurden, so daß das Tier in 24—36 Stunden zu Grunde geht. Und die Tatsache ist, daß ich in diesen Tieren, wie viele Untersuchungen ich auch ausführte, niemals Spuren von Phagocytose angetroffen habe.

Ein innigst mit dem Vorhergehenden verbundener Gegenstand und der einen ergänzenden Bestandteil davon bildet, ist das Studium, das ich über die Menge des Alexins vorgenommen habe, welches während der Periode der progressiven Immunisierung gegen ein gegebenes virulentes Bakterium und dann nach der überstandenen Immunisierung, während der Periode, wo diese mittels Verstärkungsinokulation nahezu beständig bleibt, im Blutserum der Tiere nachweisbar ist. In diesen Untersuchungen bediente ich mich für die quantitative Bestimmung des Alexins des Typhusbacillus in Bouillonkultur, da dieses Bakterium, während es gegen diesen natürlichen Gegenkörper sehr empfindlich und seine Entwicklung in der Bouillon identischer Zusammensetzung und bei gleicher Temperatur gleichförmig ist, so daß in den ca. 20 Stunden allen Bouillonkulturen die Zahl der Bacillen laut zahlreichen Berechnungen, die ich mittels Plattenkulturen ausgeführt habe, zwischen für Komplexivuntersuchungen nicht in Betracht kommenden Grenzen schwankt. Zur Immunisierung habe ich mich seit langer Zeit des *Pneumococcus*, des *Streptococcus* und selbst des virulenten Typhusbacillus bedient. Da meine zahlreichen Versuche über die bakterizide Wirkung des Blutserums der gesunden Tiere mir bewiesen hatten, daß die Menge des Alexins verschieden sein kann auch bei Tieren derselben Rasse und in denselben Lebensverhältnissen gehalten, so habe ich Sorge getragen in jedem Falle diese Menge zu bestimmen, ehe ich zur Immunisierung schritt.

In den Kaninchen, die ich zugleich mit den großen Tieren in meinen Versuchen benutzte, schwankte die Menge des in 1 ccm Serum enthaltenen Alexins, welches ca. 20 Stunden nach dem Probeaderlaß untersucht wurde, zwischen 1 und 5, d. h. die Menge der vollständig sterilisierten Bouillonkultur schwankte zwischen 1 und 5. Ausnahmsweise nur war die Schwankung größer, jedoch in Kaninchen verschiedener Art. Zum Beispiel in den großen Kaninchen mit langen hängenden Ohren, die ich

1) In diesen letzten drei Jahren hat man Untersuchungen von verschiedenen Seiten über die Phagocytose in vitro angestellt und es ist die Theorie des Opsonins (spezieller Gegenkörper des normalen Serums nach Wright) und des Tropins (Gegenkörper des Serums immunisierter Tiere nach Neufeld) geschaffen worden. Der Beweis, daß diese neuen hypothetischen Gegenkörper verschieden sind vom Sensibilisator ist meiner Ansicht nach nicht geführt worden. Betreffe ferner der Idee, daß diese Gegenkörper die Bakterien beeinflussen, ohne in denselben die geringste Veränderung hervorzubringen, sondern dieselben nur geeignet machen, von den Phagocyten aufgenommen zu werden, ist das durchaus nicht mit dem, was im Organismus vorgeht, in Einklang zu bringen.



oben erwähnte, habe ich die geringere Menge von Alexin vorgefunden, In diesen Untersuchungen habe ich in den Kaninchen beständig gefunden, daß nach einem Probeaderlaß von 10—15 ccm Blut ein solches Sinken der Menge des Alexins im Blute des zur Ader gelassenen Kaninchens eintritt, daß es während vieler Tage mit der gewöhnlichen Probe nicht mehr nachweisbar ist. Erst nach 30 Tagen steigt es zu der normalen mit dem ersten Aderlaß nachgewiesenen Menge. — Diese Tatsache ist in den vergleichenden Versuchen von höchstem Wert, so daß ich, um die verschiedenen Alexinmengen in den Kaninchen während des Immunisierungsprozesses zu bestimmen, viele zu gleicher Zeit verwenden mußte, eines z. B. nach der ersten Inokulation zu Immunisierungszwecken zur Ader lassend, eines nach der 2., eines nach der 3. u. s. w. In dieser langen, von mir ausgeführten Untersuchungsreihe hat es sich nun erwiesen, daß das Alexin sich nach und nach vermindert, je nachdem die Immunität für ein gegebenes Virus wächst. Es tritt dann ein Moment ein, wo es im Serum des immunisierten Tieres nicht mehr nachweisbar ist. Für den Typhusbacillus gelingt dieser Beweis leicht genug und rasch, da man dasselbe Resultat erreicht, wenn man endovenös anstatt der lebensfähigen Bakterien die bei einer Temperatur von 60° während einer Stunde abgetöteten einimpft. Nicht so verhält es sich aber mit den beiden anderen oben erwähnten Mikroben, für diese ist die zweite Methode nicht geeignet. In jedem Fall, welche Methode man auch verwenden mag, muß dafür gesorgt werden, daß das Tier während des Immunisierungsprozesses an Gewicht zunimmt oder wenigstens nicht abnimmt, indem man aufmerksam die Dosis des Virus und den Zwischenraum zwischen der einen und anderen Inokulation regelt. Auf diese Weise kann die Kurve der Gegenkörper der Neubildung zu überraschenden Höhen anwachsen.

Wenn also im Serum des Tieres nach einer gewissen Zeit, während man die Immunisierung ausführt, das Alexin nicht nachweisbar ist, wie erklärt sich da die Zerstörung der Bakterien in den Verstärkungsimpfungen? Ueber diese Frage führte Dr. Ilvento auf meine Veranlassung vor einigen Jahren Untersuchungen auf große Tiere meines serotherapeutischen Instituts aus. Er fand, daß die Menge des Alexins nach jeder Pneumokokkenimpfung, die zu dem Zwecke gemacht wurde, die Ausbildung der spezifischen Gegenkörper im Organismus zu verstärken, in sichtbarster Weise anwuchs. Der Beweis wurde dargebracht, indem man im Versuche in vitro vergleichungsweise den Typhusbacillus benutzte.

In den gegen diesen letzteren immunisierten Tieren dagegen habe ich, da man dasselbe Bakterium für die Verstärkungsinokulation und die Bestimmung der Alexinmenge verwenden muß, mich einer anderen Methode bedienen müssen, nämlich der Impfung des immunisierten Kaninchens mittels eines von dem Typhusbacillus verschiedenen Mikroben. Ich habe den Pneumococcus gewählt als den Mikroben, der, wie meine Untersuchungen bewiesen, im Organismus die größte Menge Alexin im Blutserum hervorzubringen im stande ist.

Beim Kaninchen wurde unter die Haut eine tödliche Dosis Bouillonkultur des obengenannten Bakteriums inokuliert, was gewöhnlich den Tod des Tieres gegen Ende des zweiten Tages herbeiführt. Man wartete mit dem Abschlachten des Tieres, bis sich ein deutliches Unterhautödem entwickelt hatte und dann wurde es zur Ader gelassen mit dem Schnitte der Carotis. Der Aderlaß wurde in jedem Fall 20—24 Stunden nach

der Inokulation des *Pneumococcus* ausgeführt. Das Serum, welches man von dem Blutgerinnsel nach ca. 20 Stunden erhielt, war klar, durchsichtig, am Mikroskop zeigte es keine Pneumokokken und blieb auch im Ofen bei 36° in den ersten 10—12 Stunden klar. In den folgenden Stunden fing es an, Entwicklung von Pneumokokken zu zeigen. Auf diese Weise war es leicht, die Wirkung des Alexins auf Typhusbacillen in den ersten 6 Stunden zu untersuchen, indem man die Zahl dieser sterilisierten Bacillen mittels Gelatineplattenkulturen bestimmte.

Auf diese Weise habe ich nun gefunden, daß das Alexin, während es vor der Infektion nicht abschätzbar war, nach der Entwicklung der pneumokokkischen Infektion stark wuchs und die Hälfte und auch mehr der Menge erreichte, die ich in demselben Kaninchen vor der Immunisierung bestimmte. Jedenfalls hat sie nie die im Blutserum des neuen Kaninchens bestimmte Menge erreicht.

Auf Grund der berichteten Resultate glaube ich kurz zusammenfassen zu können, welches meiner Ansicht nach der Zerstörungsmechanismus der Mikroben sein kann, die während des Immunisierungsprozesses zwecks Verstärkung der schon erworbenen Immunität den Tieren eingepflanzt wurden. Die in angemessener Dosis eingepflanzten Bakterien dringen also in einen an Neubildungsgegenkörpern sehr reichen Organismus, und kraft des bekannten allgemeinen Reaktionsgesetzes rufen sie in demselben eine regere Aktivität der hämatopoietischen Organe, Leukocyten zu bilden, hervor, die sich in den Blutlauf ergießen. Die Menge derselben ist indessen nicht so groß und der Eintritt in den Blutlauf nicht so stürmisch, wie in dem zum ersten Mal von einer Infektion angegriffenen Organismus. Aber die sich bildende Menge Alexins genügt, in Verbindung mit den anderen Gegenkörpern, besonders der Amboceptoren oder Sensibilisatoren die Struktur der Mikroben anzugreifen, um seine Lebenstätigkeit zu hemmen. Inzwischen kommt die Tätigkeit der Phagocyten hinzu, welche, die alterierten Mikroben verschlingend, den Tod derselben herbeiführen. Aber die Zeitperiode, in welcher die Bakterien im immunisierten Organismus vollständig zerstört werden, ist um so langsamer, je länger das immunisierte Tier den Verstärkungsinokulationen unterworfen wurde. Der Beweis von dem Gesagten ist der alltäglichste in den großen Tieren, die immunisiert werden zum Zwecke, therapeutische Sera zu ergeben. Es genügt jedesmal, wenn man Verstärkungsinokulationen macht, ein wenig Blut zu verschiedenen darauffolgenden Zeiten zu entnehmen und es bakteriologisch zu untersuchen, um sich in klarster Weise zu überzeugen.

Man darf jedoch diese Erscheinung nicht mit jener verwechseln, die man in den Tieren beobachtet, in denen durch ungeeignete und ungenügende Immunisierungsmethode von Anfang an sich die eingepflanzten Mikroben noch lange Zeit, auch nach Monaten, im Organismus vorfinden, während im ersten Falle ihre Anwesenheit nur während weniger Stunden nachweisbar ist. Es handelt sich also um zwei verschiedene Prozesse: Der eine bedeutet in der Tat eine wahre chronische Infektion und wenn das Tier auch gesundet, können sich im Blutserum nur sehr geringe Mengen von neugebildeten Gegenkörpern vorfinden; mit dem anderen dagegen kann man ein wahres therapeutisches Serum erhalten.

#### Allgemeine Schlußfolgerungen.

- 1) Die pathogenen Mikroben bei Anwesenheit von Gegenkörpern des Blutserums erleiden im Organismus zuerst am Mikroskop nachweisbare

Veränderungen und werden dann von den Phagocyten verschlungen, wo man die Reste unter der Form von mit Methylenblau färbbaren Granulationen beobachten kann.

2) Die mikroskopische extracelluläre Veränderung ist nicht nachweisbar, wenn der Prozeß der Phagocytose rasch verläuft.

3) Im experimentellen Milzbrand der Kaninchen bemerkt man, wenn die phagocytorische Tätigkeit derselben langsam ist, extracelluläre, mit Methylenblau nicht tief gefärbte Bacillen, in welchen in klarster Weise Körnchen hervortreten, die den unter dem Namen Ernst Babes bekannten ähnlich sind. Die in der pneumokokkischen Infektion sich findenden bakteriischen Körnchen stellen im Gegenteil den nukleären Teil der Bacillen dar.

4) Die Sera von mit pathogenen Mikroben auf venösem Wege immunisierten Tieren verlieren allmählich ihre bakterizide Wirksamkeit *in vitro* in den nachfolgenden Verstärkungsinokulationen. Dieselbe kehrt aber größtenteils im Falle einer Infektion wieder.

5) Parallel der progressiven Verminderung des Alexins im immunisierten Organismus werden die Bakterien, welche man zum Verstärken der Immunität einimpft, in einer progressiv längeren Zeitperiode zerstört.

6) Die langsame Zerstörung der Bakterien in den immunisierten Tieren, welche experimentell sehr wirkungsvolle therapeutische Seren geben, ist nicht zu verwechseln mit derselben Erscheinung, die in Fällen von chronischen Infektionen zu Tage tritt.

*Nachdruck verboten.*

## Beiträge zur Biologie normaler Tiersera.

[Aus der Universitäts-Augenklinik zu Würzburg.]

Von **Paul Rissling**, Tierarzt, Cöln.

(Fortsetzung.)

### Eigene Untersuchungen.

Im folgenden habe ich eigene ausführliche Versuche darüber angestellt, ob und inwiefern Tuberkelbacillen vom normalen Tierserum in Bezug auf Agglutination beeinflusst werden.

Die Sera stammten von gesunden Schlachttieren, die im hiesigen Schlachthause auf das genaueste besonders auf das Vorhandensein von tuberkulösen Veränderungen untersucht und als tuberkulosefrei befunden waren. Zerriebene Tuberkelbacillen wurden mir, wie schon erwähnt, von den Höchster Farbwerken zur Verfügung gestellt. Mit ihnen ließ ich nach der beigefügten Vorschrift Kochs eine Aufschwemmung in Karbolkochsalslösung auf das genaueste in einer hiesigen Apotheke herstellen. Diese Testflüssigkeit kam in einer Verdünnung von 1:10000 gleich in den ersten Tagen nach ihrer Herstellung zur Verwendung.

Die Technik war dieselbe wie bei den übrigen Versuchen über Bakterienagglutination. Nur wurde hier noch ein niedrigerer Agglutinationstiter = 1:5 benutzt (0,4 ccm Serum + 1,6 ccm Testflüssigkeit), und die Röhrchen kamen nicht 3, sondern 24 Stunden in den Brutschrank.

Bei der Beurteilung der Reaktion mußte bei diesen Versuchen die Klärung als Zeichen der vollständig eingetretenen Agglutination außer acht gelassen werden, da die Testflüssigkeit schon das Aussehen von Wasser hatte und nur eine Spur von Opaleszenz zeigte. Es wurde nach Kochs Angaben als unterste Grenze das Vorkommen eines bei makroskopischer Betrachtung eben noch deutlich erkennbaren, schwebenden und gleichmäßig verteilten Niederschlages unter steter Vergleichung mit der Kontrolle angenommen.

Ueber die Resultate dieser Untersuchungen gibt die folgende Tabelle Auskunft:

Agglutination von Tuberkelbacillen in Karbolkochsalzlösung  
1:10000 aufgeschwemmt.

Agglut.- Titer	Pferd		Rind												Schwein								Schaf							
	1.	2.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	1.	2.	3.	4.				
1:5	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	
1:10	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	
1:20	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	
1:30	0	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	0	
1:40	0	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	0	0	+	0
1:50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	0	0	+	0
1:60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+	0

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß von den Seris zweier Pferde das eine die Tuberkelbacillen gar nicht, das andere dagegen sie noch in einer Verdünnung von 1:40 zu agglutinieren vermochte.

Von 12 gesunden Rindern war die Reaktion bei 4 Tieren negativ, bei 8 anderen dagegen positiv; und zwar war sie bei 3 Tieren bei 1:10, bei je 2 Tieren bei 1:20 und 1:30 und bei einem Rinde noch bei 1:40 nachweisbar.

Von 8 gesunden Schweinen bewirkten 7 eine Agglutination, und zwar je 2 bei 1:10, 1:20, 1:30 und 1 noch bei 1:50, während bei einem Schwein die Reaktion negativ ausfiel.

Von 4 gesunden Schafen zeigten 2 keinen agglutinierenden Einfluß, von den beiden anderen das eine bei 1:20, das andere bei 1:60 noch agglutinierend wirkte.

Je öfter ich nun derartige Versuche über Agglutination der Tuberkelbacillen anstellte, um so mehr gewann ich die Ueberzeugung, daß es bei Verwendung einer derart verdünnten Testflüssigkeit, wie sie die Kochsche Emulsion im Verhältnis 1:10000 darstellt, oft nur äußerst schwer war, mit hinreichender Sicherheit die Frage entscheiden zu können, ob Agglutination eingetreten war oder nicht.

Da Koch selbst angegeben hat, daß bei einer Benutzung seiner Tuberkelbacillenemulsion im Verhältnis 1:1000 die Erscheinungen der Agglutination deutlicher würden, so habe ich auch Versuche mit dieser konzentrierteren Testflüssigkeit angestellt. Als ein Hauptkriterium der vollständig eingetretenen Agglutination konnte bei diesen Untersuchungen die Erscheinung der Klärung wieder benutzt werden, da die Emulsion im Verhältnis 1:1000 eine trübe Flüssigkeit darstellt.

Bei den in der nachstehenden Tabelle niedergelegten Resultaten bedeutet ++, daß die Agglutination deutlich zu sehen und die Flüssigkeit geklärt war; + bedeutet, daß nur Spuren von Agglutination zu konstatieren waren und die Flüssigkeit nicht völlig geklärt war.

Agglutination von Tuberkelbacillen in Karbolkochsalzlösung  
1:1000 aufgeschwemmt.

Agglutinat.- Titer	Pferd		Rind						
	1.	2.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
1:5	0	++	++	++	++	++	++	0	+
1:10	0	++	++	++	++	++	++	0	+
1:20	0	++	++	++	++	0	++	0	++
1:30	0	++	++	0	++	0	++	0	++
1:40	0	0	++	0	++	0	++	0	++
1:50	0	0	++	0	+	0	+	0	++
1:60	0	0	0	0	0	0	0	0	1:80 +
1:70	0	0	0	0	0	0	0	0	1:100 +

Agglutinat. Titer	Schwein								Schaf			
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	1.	2.	3.	4.
1:5	++	++	++	++	0	++	0	0	0	+	+	++
1:10	++	++	++	++	0	++	0	0	0	+	+	++
1:20	++	++	++	++	0	0	0	0	+	+	+	++
1:30	0	++	0	0	0	0	0	0	+	++	++	++
1:40	0	++	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++
1:50	0	++	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++
1:60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	+
1:70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Es war also bei einem Pferde die Reaktion negativ, während ein anderes noch bei 1:30 zu agglutinieren vermochte.

Von 7 Rindern zeigte 1 keine agglutinierende Wirkung, von den übrigen 6 Rindern agglutinierten je 1 bis 1:10 und 1:20, 3 bis 1:50, 1 bis 1:100.

Von 8 Schweinen agglutinierten 3 gar nicht; von den anderen 5 Schweinen zeigten 1 bis 1:10, 3 bis 1:20 und 1 bis 1:50 eine deutliche Reaktion.

Bei 4 Schafen erhielt ich in allen Fällen positive Resultate; der Agglutinationstiter betrug einmal 1:50, dreimal 1:60.

Wie ersichtlich ist, ergeben die Versuche mit dieser konzentrierten Testflüssigkeit im großen und ganzen analoge Resultate, wie die mit der verdünnteren Lösung. Jedoch war die Reaktion jetzt leicht und sicher zu erkennen, und ich kann auf Grund dieser Versuche dafür eintreten, daß es sich empfiehlt zur Agglutinationsprüfung der Sera großer Schlachttiere wenigstens die Kochsche Testflüssigkeit im Verhältnis 1:1000 zu benutzen. Daß letzteres eventuell sogar erforderlich ist, scheint mir aus folgendem hervorzugehen: Ich habe die Schafsera (No. 1, 2, 3) mit Flüssigkeit 1:10000 und 1:1000 untersucht und gebe diese Resultate mit der Bezeichnung meiner Originalprotokolle in folgender Tabelle wieder.

Diese beiden Tabellen zeigen, daß bei der Verdünnung der Testflüssigkeit 1:1000 die Agglutination deutlicher und der Agglutinationstiter auch höher werden kann als bei der Verdünnung 1:10000 (Schaf No. II, III). Ferner geht noch hervor, daß bei Anwendung der konzentrierten Testflüssigkeit im Serum eine agglutinierende Kraft zu Tage treten kann, die bei der verdünnten Kultur nicht zu erkennen war (Schaf No. I).

Agglutination von Tuberkelbacillen in Karbolkochsalzlösung  
aufgeschwemmt.

1:10000				1:1000			
Aggl.- Titer	Schaf I	Schaf II	Schaf III	Aggl.- Titer	Schaf I	Schaf II	Schaf III
1:5	0	Spur	Spur	1:5	0	Spur trüb	Spur trüb
1:10	0	"	"	1:10	0	" "	" "
1:20	0	"	"	1:20	Spur trüb	" "	" "
1:30	0	0	"	1:30	" "	deutlich trüb	deutlich klar
1:40	0	0	deutlich	1:40	deutlich klar	deutlich klar	" "
1:50	0	0	"	1:50	" 0 "	" "	" "
1:60	0	0	"	1:60	" 0 "	" "	" "
1:70	0	0	0	1:70	0	" 0 "	" 0 "

Weiter möchte ich noch auf folgenden Punkt aufmerksam machen: Es wird oft, wie mir scheint, die Agglutinationsprobe von Tuberkelbacillen nicht mit genügend hohen Serumverdünnungen angestellt. Häufig geben die Autoren an, daß ein Serum bei einer Verdünnung von 1:5 oder 1:10 Bakterien entweder gar nicht oder in Spuren agglutiniert hat, woraus man annehmen muß, daß sie in höheren Verdünnungen nicht weiter untersucht haben. Bei eintretender Agglutination sollte man nun annehmen, daß diese bei den schwächsten Verdünnungen, d. h. bei den stärksten Konzentrationen, stets zuerst und am stärksten auftreten würde. Dies ist aber nicht immer der Fall; viel mehr habe ich gefunden, daß die Erscheinungen der Agglutination oft deutlicher, bisweilen überhaupt erst sichtbar werden, wenn man zu höheren Serumverdünnungen übergeht.

Ueber derartige Hemmungserscheinungen bei Immuneris ist von verschiedenen Autoren berichtet worden; aber auch bei normalen Seris haben z. B. Lipstein (73), Volk und de Waele (105) und Scheller (96) gefunden, daß oft ganz frische Sera in höheren Konzentrationen schlechter agglutinieren, als bei mittleren Verdünnungen.

So sieht man z. B. auf der Tabelle Verdünnung 1:1000, daß beim Schaf No. III bis 1:20 nur Spuren von Agglutination nachweisbar waren, und daß erst in höheren Verdünnungen wie 1:30, 1:40 eine deutliche Agglutination zu Tage trat. In einem anderen Falle war bei Schaf No. I bis 1:10 keine Reaktion zu sehen; bei 1:20 zeigten sich Spuren von Agglutination und erst bei 1:40 wurden die Niederschläge voluminöser und deutlicher sichtbar.

Nach diesen Befunden glaube ich darauf hinweisen zu dürfen, daß zweifellos auf diese Verhältnisse bei der praktischen Anwendung der Agglutination von Tuberkelbacillen als Serodiagnostik Rücksicht zu nehmen ist und diese Möglichkeit einer „hemmenden“ Eigenschaft des Serums in starken Konzentrationen zu beachten ist, und daß man deshalb sich nicht mit geringen Verdünnungen wie 1:5 und 1:10 begnügen darf, sondern daß man auch höhere Verdünnungen prüfen muß.

### B. Hämagglutinine des normalen Tierserums.

Seit der Beobachtung Bordets (114), daß viele Blutsera normaler Tiere im stande sind, die Blutkörperchen anderer Tiergattungen in analoger Weise wie die Bakterien (Gruber und Durham) zu agglutinieren, hat das Agglutinationsphänomen auch nach dieser Richtung hin das Interesse der Beobachter beschäftigt, wenngleich die Arbeiten über Hämagglutinine bei weitem nicht so zahlreich sind wie die über

Bakterienagglutinine. — Vor allem liegen hier nur wenig systematische Arbeiten vor.

Die meisten Autoren stellten ihre Untersuchungen mit Immuneris an, wie wir es auch schon bei den Bakterienagglutininen gesehen haben; ferner wurden Fragen über Spezifität, Herkunft und Wirkungsweise der Agglutinine und über die gesamte Theorie des Agglutinationsphänomens behandelt, oder die Arbeiten befaßten sich mit dem Zusammenhang zwischen Agglutininen und Hämolytinen.

Außerst spärlich sind nun die Angaben in der Literatur, die speziell meine Versuche über Hämagglutinine betreffen. Meist sind die Sera von Ziegen, Hunden, kleinen Laboratoriumstieren neben denen des Pferdes untersucht worden, während die Sera anderer großer Tiere und die des Geflügels nur selten Gegenstand der Betrachtungen gewesen sind.

Wie meine späteren Tabellen zeigen, habe ich die normalen Sera von Pferd, Rind, Schaf, Schwein, Gans, Huhn, Ente, Taube nach einem einheitlichen Verfahren auf ihre Agglutinationsfähigkeit für 10 verschiedene Blutarten geprüft und habe diesbezügliche Angaben, soweit ich sie in der Literatur finden konnte, im nächsten Abschnitt systematisch zusammengestellt.

### Literatur.

Bei ihren ausführlichen Absorptionsversuchen von Hunde- und Schweineserum fanden Landsteiner und Sturli (126), daß normales Pferdeserum die Blutkörperchen der Taube sehr stark, die vom Menschen, Meerschweinchen, Kaninchen und von der Gans stark, ferner die vom Schwein deutlich zu agglutinieren vermag. Auch nach Lüdkes (127) Angaben agglutinierte normales Pferdeserum Kaninchenblutkörperchen im Verlaufe weniger Minuten; Hammelblutkörperchen wurden nur agglomeriert; nach  $\frac{1}{2}$ -stündiger Erhitzung auf  $55^{\circ}$  C war jede Einwirkung auf letztere geschwunden, auch die Agglutination der Kaninchenerythrocyten war schwächer ausgeprägt. Auf  $60^{\circ}$  C erhitzt, hatte das Serum auch keine Wirkung mehr auf die Blutzellen vom Kaninchen ausüben können.

Durch normales Rinderserum wurden nach den Beobachtungen von Bexheft (112) die Blutzellen vom Schweine agglutiniert. Lüdke (127) berichtet, daß frisch gewonnenes normales Ochsen Serum in einer Verdünnung 1:1 Kaninchen- wie Meerschweinchenblutkörperchen fast sofort zur Agglutination brachte. Selbst nach einer  $\frac{1}{2}$ -stündigen Erhitzung des Serums auf  $65$ — $70^{\circ}$  C war noch dicke Häufchenbildung beider Blutarten erkenntlich, wenn auch eine gewisse Abschwächung der Agglutinationsfähigkeit des Serums nachweisbar war. Desgleichen fanden Sachs (129), Ottolenghi und Mori (150) sowie Landsteiner und Jagić (124) eine positive Reaktion mit Kaninchenblut, letztere auch mit Gänseblut.

Bei normalem Schweineserum vermochte Wiener (131) keine agglutinierende Wirkung auf Schafblutzellen zu erkennen, ebensowenig wie normales Schafserum die Blutkörperchen vom Schwein agglutinierte.

Auch mit normalem Entenserum stellte Lüdke (127) Versuche an. In einer Verdünnung 1:1 brachte dasselbe Ochsen- und Hammelblutkörperchen fast sofort zur Agglutination; in Verdünnung 1:10 und 1:20 war nur Agglomeration zu beobachten. Bei einer  $\frac{1}{2}$ -stündigen Erhitzung auf  $60$ — $65^{\circ}$  C war die Agglutinationskraft für beide Blutarten

verschwunden. Nach demselben Autor brachte frisches Entenserum die Blutkörperchen vom Meerschweinchen und vom Kaninchen sehr schnell zur Agglutination; nach  $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen auf  $50-55^{\circ}$  C wurden erstere nur noch teilweise agglutiniert, teilweise agglomeriert; bei letzteren dagegen war sogar nach Erhitzen auf  $60-65^{\circ}$  die Agglutination in  $\frac{1}{2}$  Stunde vollständig. Menschenblutzellen wurden vom frischen Entenserum nur in Spuren zusammengeballt; war das Serum  $\frac{1}{2}$  Stunde auf  $50-55^{\circ}$  C erhitzt, so waren auch diese nicht vorhanden.

Frisches Hühnerserum brachte, wie Lüdke (127) weiter zeigen konnte, Kaninchenblutkörperchen prompt zur Agglutination, Menschenblutkörperchen wurden teils agglutiniert, teils agglomeriert. Nach  $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen des Serums auf  $55^{\circ}$  C war die Wirkung auf letztere nur noch sehr schwach ausgeprägt.

### Technik.

Im nachfolgenden Abschnitt will ich, bevor ich auf die Resultate meiner eigenen Versuche eingehe, einige Bemerkungen über die von mir angewandte Methodik vorausschicken.

Die Technik über Hämagglutination schließt sich eng an die von mir auf p. 12 bei der Bakterienagglutination ausführlich beschriebene an: Es wurde nur ganz frisches, defibriniertes Blut verwendet. Das Blut der großen Schlachttiere bezog ich aus dem hiesigen Schlachthause; das Blut der kleinen Schlachttiere wurde durch Verblutenlassen mehrerer artgleicher Tiere in ein Sammelgefäß gewonnen. Blut von erwachsenen Menschen wurde mir in lebenswürdiger Weise in der hiesigen Frauenklinik bei Geburten aufgefangen.

Vorversuche ergaben, daß sich eine 1-proz. Aufschwemmung der Blutkörperchen mit 0,85-proz. NaCl-Lösung am geeignetsten zur Agglutinationsprüfung erwies. Diese Blutkörperchen wurden vorher in 0,85-proz. NaCl-Lösung gewaschen, indem ich durch Waschen und Zentrifugieren jene Reste von Serum zu entfernen suchte, welche den Blutkörperchen noch anhafteten. Es ist bekannt, daß eine Aufschwemmung der Erythrocyten in ihrem eigenen Serum wegen verschiedener die Versuche störender Nebenwirkungen auf das zugesetzte Serum unzulässig ist.

Von diesen Aufschwemmungen wurden je 1,8 ccm in Röhrrchen abgefüllt und zu jedem Röhrrchen wieder 0,2 ccm Serumverdünnung zugesetzt und der Inhalt nun gut vermischt. Die Sera wurden vorher  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $56^{\circ}$  C im Wasserbade erhitzt und dadurch inaktiviert, d. h. es wurde die Wirkung der Lysine ausgeschaltet. Letztere verlieren, wie bekannt, ihre Wirkung schon durch dieses Erhitzen, während die Agglutinine widerstandsfähiger sind und durch Erhitzen auf  $56^{\circ}$  C nicht geschädigt werden.

Die Reaktion wurde nach 2-stündigem Verbleiben der Röhrrchen im Brutschrank zuerst makroskopisch mit Hilfe einer Lupe betrachtet und sodann das Ergebnis noch in der Weise kontrolliert, daß aus jedem Röhrrchen je 1 Oese des vorher gut durchgeschüttelten Inhaltes auf einen Objektträger gebracht wurde und diese Tropfen bei schwacher Vergrößerung betrachtet wurden. So ließ sich in kurzer Zeit sehr scharf die Grenze der Agglutinationsreaktion unter Berücksichtigung der Kontrolle feststellen. Die einzelnen Resultate sind aus den folgenden Tabellen ersichtlich.



Es bedeutet:

+! = starke Agglutination.

+ = Agglutination.

+ = Spuren von „

0 = keine „

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Pferdeserums auf 1-proz. Blut-aufschwemmung von														
	Mensch		Rind		Schwein		Schaf	Kanin-chen	Meer-schwein-chen		Gans	Ente	Huhn	Taube	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
1:10	+	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+	0	+!
1:20	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	+	0	+
1:30	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	+
1:40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	+
1:50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	+
1:60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	0	+
1:70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	+
1:80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+
1:90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+
1:100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+
1:200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+
1:300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+
1:400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Rinderserums bei 1-proz. Blut-aufschwemmung von										
	Mensch	Pferd	Schwein	Schaf	Kanin-chen	Meer-schwein-chen	Gans	Ente	Huhn	Taube	
							I II	I II	I II		
1:10	+	+	+	0	+!	+	++	++	++	+	
1:20	+	+	+	0	+	+	++	++	0+	+	
1:30	+	+	0	0	+	0	++	++	00	+	
1:40	+	+	0	0	+	0	++	++	00	0	
1:50	0	+	0	0	+	0	++	++	00	0	
1:60	0	+	0	0	+	0	++	++	00	0	
1:70	0	+	0	0	+	0	++	++	00	0	
1:80	0	+	0	0	+	0	00	++	00	0	
1:90	0	+	0	0	+	0	00	00	00	0	
1:100	0	+	0	0	+	0	00	00	00	0	
1:200	0	+	0	0	+	0	00	00	00	0	
1:300	0	+	0	0	+	0	00	00	00	0	
1:400	0	+	0	0	+	0	00	00	00	0	
1:500	0	+	0	0	+	0	00	00	00	0	
1:600	0	0	0	0	+	0	00	00	00	0	
1:700	0	0	0	0	0	0	00	00	00	0	

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Schweineserums auf 1-proz. Blut-aufschwemmung von										
	Mensch	Pferd	Rind	Schaf	Kanin-chen	Meer-schwein-chen	Gans	Ente	Huhn	Taube	
			I II				I II	I II	I II		
1:10	+	+	0 0	0	+	+	++	++	++	+!	
1:20	+	+	0 0	0	+	+	++	++	++	+	
1:30	+	+	0 0	0	+	+	++	++	0 0	+	
1:40	+	+	0 0	0	+	+	++	++	0 0	+	
1:50	+	+	0 0	0	+	0	++	+	0 0	+	

35\*

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Schweineserums auf 1-proz. Blut-aufschwemmung von													
	Mensch	Pferd	Rind		Schaf	Kanin-chen	Meer-schwein-chen	Gans		Ente		Huhn		Taube
			I	II				I	II	I	II	I	II	
1:60	0	+	0	0	0	+	0	0	+	+	0	0	+	
1:70	0	+	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0	+	
1:80	0	+	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0	+	
1:90	0	+	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0	+	
1:100	0	+	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0	+	
1:200	0	+	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	
1:300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1:400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1:600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1:700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Schafserums auf 1-proz. Blut-aufschwemmung von													
	Mensch	Pferd	Rind		Schwein	Kanin-chen	Meer-schwein-chen	Gans		Ente		Huhn		Taube
			I	II				I	II	I	II	I	II	
1:10	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+
1:20	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0
1:30	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0
1:40	+	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	0	0	0
1:50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Gänse-serums auf 1-proz. Blut-aufschwemmung von											
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Schaf	Kanin-chen	Meer-schwein-chen	Ente		Huhn		Taube
								I	II	I	II	
1:10	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+
1:20	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+
1:30	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0
1:40	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:50	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:60	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:70	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:80	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:90	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:100	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:200	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Gänseserums auf 1-proz. Blut-aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Schaf	Kanin-chen	Meer-schwein-chen	Ente	Huhn	Taube
1:400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Entenserums auf 1-proz. Blut-aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind I II	Schwein	Schaf I II	Kanin-chen	Meer-schwein-chen	Gans	Huhn	Taube
1:10	+	+	0 0	+	0 0	+!	+	+	0	+
1:20	+	+	0 0	+	0 0	+	+	+	0	+
1:30	+	+	0 0	+	0 0	+	+	+	0	+
1:40	0	+	0 0	+	0 0	+	0	0	0	0
1:50	0	+	0 0	+	0 0	+	0	0	0	0
1:60	0	+	0 0	0	0 0	+	0	0	0	0
1:70	0	0	0 0	0	0 0	+	0	0	0	0
1:80	0	0	0 0	0	0 0	+	0	0	0	0
1:90	0	0	0 0	0	0 0	+	0	0	0	0
1:100	0	0	0 0	0	0 0	+	0	0	0	0
1:200	0	0	0 0	0	0 0	+	0	0	0	0
1:300	0	0	0 0	0	0 0	0	0	0	0	0
1:400	0	0	0 0	0	0 0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0 0	0	0 0	0	0	0	0	0
1:600	0	0	0 0	0	0 0	0	0	0	0	0
1:700	0	0	0 0	0	0 0	0	0	0	0	0

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Hühnerserums auf 1-proz. Blut-aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Schaf	Kanin-chen	Meer-schwein-chen	Gans	Ente	Taube
1:10	+	+	0	+!	0	+!	+	+	+	+
1:20	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+
1:30	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+
1:40	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+
1:50	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+
1:60	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+
1:70	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+
1:80	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+
1:90	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+
1:100	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0
1:200	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0
1:300	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0
1:400	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aggl.-Titre	Agglutinierende Wirkung des normalen Taubenserums auf 1-proz. Blut-aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Schaf	Kanin-chen	Meer-schwein-chen	Gans	Ente	Huhn
1:10	+	+	0	0	0	+!	+	+	+	0
1:20	+	0	0	0	0	+	+	+	+	0
1:30	0	0	0	0	0	+	+	+	+	0
1:40	0	0	0	0	0	+	0	+	+	0
1:50	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0
1:60	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0
1:70	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0
1:80	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0
1:90	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
1:100	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
1:200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Art der Blut-körperchen	Agglutinierendes Serum mit höchstem Agglut.-Titer	Nicht agglutinierendes Serum	Art der Blut-körperchen	Agglutinierendes Serum mit höchstem Agglut.-Titer	Nicht agglutinierendes Serum
Mensch	Schwein 1:50 Huhn 1:50 Rind 1:40 Schaf 1:40 Ente 1:30 Pferd 1:30 Taube 1:20 Gans 1:10		Meerschwein-chen	Schwein 1:40 Schaf 1:30 Ente 1:30 Taube 1:30 Rind 1:20 Pferd 1:10 Huhn 1:10	Gans
Pferd	Rind 1:500 Schwein 1:200 Ente 1:60 Huhn 1:50 Gans 1:10 Taube 1:10	Schaf	Gans	Huhn 1:90 Taube 1:80 Rind 1:70 Pferd 1:60 Schwein 1:60 Schaf 1:40 Ente 1:20	
Rind		Pferd Schaf Schwein Gans Ente Huhn Taube	Huhn	Rind 1:20 Schwein 1:20 Gans 1:10	Pferd Schaf Ente Taube
Schwein	Huhn 1:400 Ente 1:50 Gans 1:30 Rind 1:20 Pferd 1:20	Schaf Taube	Ente	Pferd 1:200 Huhn 1:90 Rind 1:80 Schwein 1:80 Taube 1:40 Schaf 1:40 Gans 1:10	
Schaf	Gans 1:10	Pferd Rind Schwein Ente Huhn Taube	Taube	Pferd 1:100 Schwein 1:100 Huhn 1:90 Rind 1:30 Ente 1:30 Schaf 1:10 Gans 1:10	

Art der Blutkörperchen	Agglutinierendes Serum mit höchstem Agglut.-Titer	Nicht agglutinierendes Serum	Art der Blutkörperchen	Agglutinierendes Serum mit höchstem Agglut.-Titer	Nicht agglutinierendes Serum
Kaninchen	Rind 1:600 Huhn 1:300 Gans 1:200 Schwein 1:200 Ente 1:200 Taube 1:100	Pferd			

Aus diesen Tabellen ist ohne weiteres zu ersehen, daß das normale Serum einer Tierart auf die Blutkörperchen einer anderen Tierart einen verschiedenen agglutinierenden Einfluß ausüben kann.

Wenn ein Serum auch nicht alle von mir zur Prüfung benutzten Blutkörperchen zu agglutinieren vermochte, so war dies doch immer bei einigen der Fall.

Beziehen wir nun die Resultate auf die Blutkörperchen, wie ich es in der letzten Tabelle getan habe, so sehen wir, daß die Blutkörperchen einer Tierart von einem oder mehreren, bisweilen auch von allen Seris der übrigen Tierarten agglutiniert werden, mit Ausnahme der Blutkörperchen des Rindes, auf die kein Serum der anderen Tierarten einen agglutinierenden Einfluß ausübte.

#### Ueber die Vielheit der Agglutinine.

Angesichts dieser Mannigfaltigkeit der hämagglutinierenden Wirkung eines normalen Tierserums auf verschiedenen Arten von Blutkörperchen möchte ich im folgenden noch über einige Versuche berichten, welche einen Beitrag zu der Frage liefern sollen, ob es sich bei diesem Agglutinationsphänomen um die Wirkung verschiedener Substanzen und um spezifische Bindungsgesetze handelt, oder ob hierbei lediglich eine Verschiedenheit der Agglutininbindung in Betracht kommt.

Während man früher, entsprechend der Buchnerschen Anschauung, eine einheitliche Substanz für die verschiedenen Effekte verantwortlich machte, wird wohl jetzt der von Ehrlich zuerst vertretene pluralistische Standpunkt allgemein angenommen, besonders nachdem Malkoff (128) in gleicher Weise, wie Bordet (115) mittels der Ehrlich-Morgenrothschen Absorptionsmethode die Vielheit der Bakterienagglutinine nachgewiesen hatte, dasselbe auch für die Hämagglutinine bei seinen Untersuchungen über die Wirksamkeit des normalen Ziegenserums auf die Blutkörperchen von Mensch, Kaninchen und Taube dartun konnte.

Bei diesen Versuchen gestaltet sich die Technik in einigen Punkten etwas abweichend von der, die bisher bei den Untersuchungen über Hämagglutinine von mir angewandt ist: Es wurden in eine Reihe von Reagenzröhrchen je 0,2 ccm Serum resp. Serumverdünnung gebracht und diese durch Zusatz von Kochsalzlösung auf das gleiche Volumen von 2 ccm Flüssigkeit aufgefüllt. In jedes Röhrchen kamen dann als Reagens 0,02 ccm Blut, das vorher zur Entfernung anhaftender Serumpuren zweimal in 0,85-proz. Kochsalzlösung gewaschen und dann nach dem Zentrifugieren in einer dem ursprünglichen Blutquantum entsprechenden Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt war. Der weitere Verlauf war derselbe wie früher. Bei beiden Methoden der Versuchsanordnung ist

die Konzentration dieselbe geblieben: es sind gleiche Gesamtfliissigkeitsmengen vorhanden, und 0,02 ccm reinen, unverdünnten Blutes entsprechen 1 ccm einer 5-proz. Blutaufschwemmung. Es war aber bei diesen Versuchen nötig, normales Blut in Form eines Tropfens zuzusetzen, denn wenn man mit 5-proz. Blutaufschwemmungen die Versuche hätte anstellen wollen, wäre nach dem Abzentrifugieren der Blutzellen und abermaligen Zusatz der Blutaufschwemmung das Volumen der Flüssigkeit ein größeres geworden.

Nach dieser abgeänderten Methode wurde nun der Agglutinations-titer eines normalen Serums, z. B. des Schweineserums für die Blutkörperchen von Pferd, Kaninchen und Taube bestimmt. Handelt es sich nun um mehrere Arten von Agglutininen, so müssen nach Absättigung des Serums mit einer Blutart in der abzentrifugierten Flüssigkeit noch die Agglutinine für die beiden anderen Blutarten in ungeänderter Menge nachzuweisen sein, während die Agglutinine für die erste Blutart fehlen.

Es wurde deshalb das Röhrchen mit den agglutinierten Kaninchenblutzellen z. B. zentrifugiert, dann wurden zu dem abgeheberten Serum

Agglutinations-titer	Normales Pferdeserum agglutiniert Blutkörperchen von			Normales Rinderserum agglutiniert Blutkörperchen von		nach Absorption mit Pferd	Normales Schafserum agglutiniert Blutkörperchen von		
	Ente	Gans	nach Absorption mit Ente	Pferd	Kaninchen	Kaninchen	Ente	Gans	nach Absorption mit Ente
1:10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:30	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:40	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:50	+	+	+	+	+	+	0	0	0
1:60	+	+	+	+	+	+	0	0	0
1:70	+	0	0	+	+	+	0	0	0
1:80	+	0	0	+	+	+	0	0	0
1:90	+	0	0	+	+	+	0	0	0
1:100	+	0	0	+	+	+	0	0	0
1:200	0	0	0	+	+	+	0	0	0
1:300	0	0	0	+	0	0	0	0	0
1:400	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Agglutinations-titer	Normales Schweineserum agglutiniert Blutkörperchen von			nach Absorption mit			
	Pferd	Kaninchen	Taube	Pferd	Kaninchen	Taube	Pferd und Kaninchen
				Kaninchen	Taube	Pferd	Taube
1:10	+	+	+	+	+	+	+
1:20	+	+	+	+	+	+	+
1:30	+	+	+	+	+	+	+
1:40	+	+	+	+	+	+	+
1:50	+	+	+	+	+	+	+
1:60	+	+	+	+	+	+	+
1:70	+	+	+	+	+	+	+
1:80	+	+	+	+	+	+	+
1:90	+	+	+	+	+	+	+
1:100	+	+	+	+	+	+	+
1:200	+	+	0	0	0	+	0
1:300	0	0	0	0	0	0	0
1:400	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0

die Taubenblutkörperchen und nach deren Agglutination wieder zu dem Abguß die Pferdeblutzellen hinzugefügt. Analoge Absorptionsversuche stellte ich auch mit dem normalen Serum von Pferd, Rind und Schaf an, deren Resultate aus der vorstehenden Tabelle ersichtlich sind.

Es ergibt sich, daß nach Absorption eines Serums mit einer Blutart der eventuelle Agglutinationstiter dieses Serums für andere Blutarten derselbe bleibt.

Aus dieser elektiven Absorption müssen wir den Schluß ziehen, daß bei dem Phänomen der Agglutination nicht einheitliche Substanzen, sondern eine Reihe verschiedener Arten von Agglutininen in Aktion treten, die auf jede Blutkörperchenart spezifisch abgestimmt sind.

### Ueber Bindungsgesetze der Agglutinine.

Bei diesen eben mitgeteilten Untersuchungen wird unwillkürlich die Aufmerksamkeit auf die vielfach schon untersuchte Frage gelenkt, wie sich die Bindungsgesetze der Agglutinine im einzelnen gestalten. Im allgemeinen hat sich dabei das Grundgesetz herausgestellt, daß Zellen, seien es Bakterien- oder Blutzellen, im stande sind, sich mit Agglutininen zu übersättigen, d. h. ein vielfaches von derjenigen Agglutininmenge zu binden, welche zur Agglutination erforderlich ist.

Den Nachweis dieses Gesetzes suchte ich für die Sera der großen Schlachttiere durch die folgende Versuchsanordnung zu erbringen:

Es wurde wie im letzten Abschnitte z. B. beim normalen Pferdeserum der Agglutinationstiter für Taubenblutkörperchen bestimmt. Hierauf wurden die agglutinierten Blutkörperchen abzentrifugiert, und es wurde nun zu dem Abguß von neuem ein gleiches Quantum von Taubenblutkörperchen zugesetzt und wieder der Agglutinationstiter festgestellt.

Agglut.-Titer	Pferdeserum agglutiniert Blutkörperchen von				Rinderserum agglutiniert Blutkörperchen von			
	Tauben		Ente		Pferd		Kaninchen	
	1. Agglut.	2. Agglut.	1. Agglut.	2. Agglut.	1. Agglut.	2. Agglut.	1. Agglut.	2. Agglut.
1:10	+	+	+	+	+	+	+	+
1:20	+	+	+	0	+	+	+	+
1:30	+	+	+	0	+	+	+	0
1:40	+	0	+	0	+	+	+	0
1:50	+	0	+	0	+	0	+	0
1:60	+	0	+	0	+	0	+	0
1:70	+	0	+	0	+	0	+	0
1:80	+	0	+	0	+	0	+	0
1:90	+	0	+	0	+	0	+	0
1:100	+	0	+	0	+	0	+	0
1:200	0	0	+	0	+	0	+	0
1:300	0	0	0	0	+	0	+	0
1:400	0	0	0	0	0	0	+	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0

Agglut.-Titer	Schafserum agglutiniert Blutkörperchen von				Schweineserum agglutiniert			
	Kaninchen		Ente		Pferd		Kaninchen	
	1. Agglut.	2. Agglut.	1. Agglut.	2. Agglut.	1. Agglut.	2. Agglut.	1. Agglut.	2. Agglut.
1:10	+	0	+	0	+	+	+	+
1:20	+	0	+	0	+	0	+	0
1:30	+	0	+	0	+	0	+	0
1:40	+	0	0	0	+	0	+	0
1:50	0	0	0	0	+	0	+	0
1:60	0	0	0	0	+	0	+	0
1:70	0	0	0	0	+	0	+	0
1:80	0	0	0	0	+	0	+	0
1:90	0	0	0	0	+	0	+	0
1:100	0	0	0	0	+	0	+	0
1:200	0	0	0	0	0	0	0	0
1:300	0	0	0	0	0	0	0	0
1:400	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie aus der vorstehenden Tabelle hervorgeht, wurden im ersten Falle die Taubenblutkörperchen vom Pferdeserum in einer Verdünnung von 1:100 agglutiniert, während die Reaktion beim zweiten Versuch nur bis 1:30 nachweisbar war.

In einem anderen Falle war der Agglutinationstiter vom normalen Rinderserum für Kaninchenblutkörperchen das erste Mal 1:400, bei dem zweiten Versuch war er 1:20.

Wir sehen also aus diesen Versuchen, daß bei der ersten Agglutination die Blutzellen ein vielfaches derjenigen Agglutininmenge aufgebraucht haben, die überhaupt zur Agglutination erforderlich ist, und zwar vermochten nach meinen Untersuchungen die Zellen der verschiedenen Tiere das ca. 3- bis 40-fache zu binden.

Demnach fand ich also auch bei den Hämagglutininen der normalen Tiersera die in der Immunitätsforschung speziell bei den Immunsereis gewonnenen Resultate bestätigt.

### Ueber Iso- und Autoagglutinine.

Es ist weiter noch die Frage von Interesse, ob im normalen Tiereserum Auto- oder Isoagglutinine vorkommen können.

Ueber den Nachweis von Isoagglutininen im normalen Serum liegen einige Beobachtungen am menschlichen und tierischen Blute vor.

Es wurde von Landsteiner (122) gezeigt, daß bei gesunden Menschen häufig Isoagglutinine zu beobachten sind. Bei der Prüfung von 22 normalen menschlichen Seris fand er die Reaktion in allen Fällen vorhanden, allerdings nicht auf alle untersuchten Erythrocyten. In einer anderen Arbeit gibt Landsteiner mit Leiner zusammen (125) bekannt, daß sich diese Wirkung überhaupt nicht jedem Blute, sondern nur bestimmten Blutarten gegenüber geltend macht. Das Vorkommen von Isoagglutininen im normalen Blute wurde weiter von Decastello und Sturli (117), Schenk (130) und Ascoli (11) bestätigt. Nach Ascolis Befunden ist diese Fähigkeit variabel und gewöhnlich nur schwach ausgeprägt, so daß sie bei 1:20 kaum hervortritt. Dagegen fand Biffi (113) Isoagglutinine im normalen Serum in beträchtlichen Mengen; Landsteiner und Leiner (125) sahen sie bei Erwachsenen und Kindern selbst noch bei 1:100.



Entgegen diesen positiven Resultaten kam Eisenberg (118), der unter 10 untersuchten normalen Seris nur einmal ein aktives fand, zu der Meinung, daß das Vorkommen von Isoagglutininen bei normalen Individuen bis auf weiteres als Ausnahmefall betrachtet werden müsse. Auch Camus und Pagniez (116) hatten stets ein negatives Resultat.

Ueber einschlägige Prüfungen an Pferdeseris hat Klein (119) berichtet: Er fand, daß die Sera von zwei gegen Diphtherie immunisierten Pferden die Erythrocyten von 4 normalen Pferden in wenigen Minuten zum Teil kräftig agglutinierten. Daß dies nicht als eine Folgeerscheinung der Immunisierung anzusehen war, glaubt derselbe Autor deshalb annehmen zu können, weil die Kontrollprüfung von Seris dreier normaler Pferde zeigte, daß auch diese untereinander agglutinierend wirkten. Weiter fanden auch Kraus und Ludwig (120) bei der Prüfung der Sera von 17 normalen Pferden auf Isoagglutinine, daß ein Serum im Verhältnis 1:1 die Blutkörperchen des einen Pferdes zu agglutinieren vermag, während dasselbe Serum die eines anderen Pferdes unbeeinflusst läßt. Andererseits ergaben weitere Untersuchungen derselben Autoren mit Seris von Pferden, die mit Tetanustoxin oder verschiedenen Bakterien wie Coli, Cholera, Typhus und Pest vorbehandelt waren, in allen Fällen ein völlig negatives Resultat.

Auch Klein (119) konnte nachweisen, daß die Sera von normalen Meerschweinchen und hauptsächlich von normalen Kaninchen (18) bei mehrfachen Prüfungen mit Blutkörperchen verschiedener Kaninchen sich in jeder Weise vollständig inaktiv verhielten. Dasselbe konnten auch Kraus und Ludwig (120) vollauf bestätigen, ja, es scheint nach ihnen das Kaninchen überhaupt unfähig, Isoagglutinine zu bilden, da es ihnen nicht gelang, durch Injektionen von Kaninchenblut solche erzeugen.

Es finden sich aber in der Literatur auch Angaben, daß Normalsera auch die „eigenen“ roten Blutkörperchen agglutinieren können.

Es berichten über derartige Autoagglutinationen beim gesunden Menschen Landois (121) und Ascoli (111); auch hier fand Ascoli wie bei den Isoagglutininen des menschlichen Serums die Reaktion gewöhnlich nur schwach ausgeprägt und bei 1:20 kaum hervortretend. Die meisten Untersucher halten es für selbstverständlich, daß die roten Blutkörperchen im eigenen Serum nicht agglutiniert werden. So fanden Landsteiner (123) und Eisenberg (118) das Serum eines Individuums vollkommen inaktiv gegenüber den zugehörigen Erythrocyten.

Wie Klein (119) angibt, hat er bei 3 normalen Pferden untereinander Autoagglutination gesehen, doch meint auch er, daß die Agglutinine im normalen Pferdeserum häufig nur in geringen Mengen vorhanden sind.

Auch im normalen Kaninchenserum beobachtete Ascoli (111) über eine Verdünnung von 1:20 hinaus keine Agglutination mehr. Landsteiner (123) hat Untersuchungen über diese Agglutination an mehreren Tierarten angestellt und will sie in den Seris von Pferd, Rind, Hund, Kaninchen, Meerschweinchen und Huhn nachgewiesen haben.

Im Anschluß an diese Beobachtungen habe ich nun auch Untersuchungen über Iso- und Autoagglutination angestellt. Nach dem von mir schon oft zitierten Verfahren habe ich 2 Pferde, 5 Rinder und 6 Schweine untersucht, indem ich die Sera der einzelnen Tiere mit

den eigenen Blutkörperchen sowie mit denen derselben Art geprüft habe.

Ich habe somit über Isoagglutination beim Pferde 2, beim Rinde 20 und beim Schwein 30 Modifikationen ausgeführt, zu denen noch beim Pferde 2, beim Rinde 8 und beim Schwein 6 Versuche über Autoagglutination kommen.

In allen diesen Fällen ließ sich bei einer Verdünnung von 1:5—1:30 weder Iso- noch Autoagglutination nachweisen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Précipitation et déviation de l'alexine.

Comparaison entre les deux méthodes biologiques de détermination de la nature du sang.

[Institut bactériologique de Liège. Prof. Malvoz.]

Par Boleslas Zebrowski (Varsovie).

A l'heure actuelle on dispose de deux méthodes biologiques permettant de déterminer la nature d'un sang donné: dans l'une on observe la formation d'un précipité spécifique, dans l'autre la suppression de l'hémolyse dans un système hémolytique par le complexe: sérum précipitant + sérum précipitable.

Cette deuxième méthode est basée sur les observations de Gengou<sup>1)</sup> et Moreschi<sup>2)</sup>; elle a été introduite dans la pratique par Neisser et Sachs<sup>3)</sup>.

Ces auteurs demontrent que l'inactivation de l'alexine d'un système hémolytique par le complexe: sérum précipitant + sérum précipitable s'effectue en présence de quantités minimes du sérum précipitable, quantités qui ne donnent plus de précipité avec le sérum spécifique.

Friedberger<sup>4)</sup> trouve aussi que la méthode de la déviation de l'alexine est beaucoup plus sensible que la simple méthode de précipitation; le même sérum spécifique qui ne donne plus de précipité dans les dilutions du sérum normal à  $\frac{1}{1000}$ , provoque la déviation de l'alexine quand il est mélangé avec une solution à  $\frac{1}{1000000000}$  du sérum normal. Les mêmes résultats quant à la sensibilité de la méthode de déviation de l'alexine ont été obtenus par Schütze<sup>5)</sup>.

Uhlenhuth<sup>6)</sup> trouve au contraire que la méthode de précipitation est aussi sensible que la méthode de déviation de l'alexine, à condition

1) Gengou, Sur les sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuminoïdes. (Ann. Pasteur. 1902. p. 734.)

2) Moreschi, Zur Lehre von den Antikomplementen. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 37.)

3) Neisser u. Sachs, Ein Verfahren zum forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 44.) — Die forensische Blutdifferenzierung durch antihämolytische Wirkung. (Ibid. 1906. No. 3.)

4) Friedberger, Zur forensischen Eiweißdifferenzierung auf Grund der hämolytischen Methode mittels Komplementablenkung. (Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 15.)

5) Schütze, Ueber den forensischen Wert des Neisser-Sachs'schen Verfahrens der Komplementablenkung. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 52.)

6) Uhlenhuth, Komplementablenkung und Bluteiweißdifferenzierung. (Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 31.)

seulement que l'on compte avec les plus petits précipités qui se forment dans les fortes dilutions du sérum normal.

L'opinion de Uhlenhuth est partagée par Ganghofner et Langer<sup>7)</sup>. La méthode de la déviation de l'alexine — encore nouvelle — exige d'être vérifiée sur le plus grand nombre de cas possible: aussi nous avons comparé sa valeur et sa sensibilité avec celles de la méthode de précipitation en choisissant deux systèmes hémolytiques non employés encore par les auteurs cités plus haut.

Les sensibilisatrices de ces deux systèmes hémolytiques étaient représentées, l'une par le sérum de lapin traité par les globules de vache lavés, l'autre par le sérum de chien injecté des mêmes globules. Le sérum frais du cobaye nous servait comme alexine. Les globules de vache débarrassés du sérum par des lavages répétés étaient employés toujours dans une dilution à 5%. Les deux sérums hémolytiques: lapin-vache et chien-vache inactivés à 56° pris en quantités variables étaient mélangés avec 0,1 c.c. d'alexine et 1 c.c. du sang de vache (quantités totales de liquide dans les tubes 2 c.c.). La quantité minime de sérum spécifique, qui provoquait dans ces conditions l'hémolyse complète après 2 heures d'étuve, était égale:

à 0,0025 pour le sérum lapin-vache et à 0,005 pour le sérum chien-vache. Ce sont „les unités sensibilisantes“ (Amboceptoreinheit) de nos sérums. D'un autre côté nous avons obtenu de lapins immunisés par la voie intraveineuse trois sérums précipitants: sérum lapin-cheval, sérum lapin-poule et sérum lapin-chien.

La technique de nos expériences était la suivante:

I. Dans une série de petits tubes on disposait des quantités variables d'un sérum normal, dissoutes dans 0,9 c.c. de la solution physiologique. Dans chaque tube on ajoutait 0,1 c.c. du sérum précipitant correspondant et on notait les résultats de la précipitation après 10 minutes, 30 minutes; après quoi on mettait les tubes dans la glacière pour noter les résultats après 18 heures.

II. L'autre série de tubes était remplie des mêmes quantités du sérum normal, dissoutes dans 0,8 c.c. de la solution physiologique. Dans chaque tube on ajoutait 0,1 c.c. d'alexine de cobaye, puis 0,1 c.c. du sérum précipitant correspondant et on laissait une heure à l'étuve pour laisser s'effectuer la réaction de l'absorption d'alexine. Après quoi on introduisait dans chaque tube 1 c.c. d'émulsion de globules de vache

Sérum normal du cheval	Sérum précipitant lapin-cheval	Sérum normal du lapin	Précipitation			Alexine du cobaye	Sang de la vache	Hémolyse du sang sensibilisé avec le sérum hémolytique	
			10'	30'	18 <sup>h</sup>			chien-vache	lapin-vache
0,001	0,1	0	+	+	+	0,1	1 c.c.	0	0
0,00025	0,1	0	+	+	+	0,1	1 "	0	0
0,0001	0,1	0	0	0	+	0,1	1 "	traces	0
0,00005	0,1	0	0	0	+	0,1	1 "	moyenne	traces
0,000025	0,1	0	0	0	0	0,1	1 "	forte	moyenne
0,00001	0,1	0	0	0	0	0,1	1 "	complète	forte
0,001	0	0,1	0	0	0	0,1	1 "	"	complète
0	0,1	0	0	0	0	0,1	1 "	"	"

7) Ganghofner und Langer, Ueber die Verwertbarkeit des Phänomens der Komplementablenkung zum Nachweis von artfremdem Eiweiß im Blute. (Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 47.)

qui étaient additionnés de deux unités hémolytiques une heure auparavant. On mettait le tout de nouveau à 37° pendant deux heures et enfin dans la glacière. Le lendemain-après 18<sup>h</sup> on notait les résultats d'hémolyse.

Voici une expérience type (Tabl. p. 557).

Voici une autre expérience avec le sérum normal du chien, sérum précipitant lapin-chien et sérum hémolytique lapin-vache.

Sérum normal du chien	Sérum précipitant	Sérum normal du lapin	Précipitation après			Alexine du cobaye	Sang de la vache	Hémolyse
			10'	30'	18 <sup>h</sup>			
0,01	0,1	0	+	+	+	0,1	1 c. c.	0
0,005	0,1	0	+	+	+	0,1	1 "	0
0,0025	0,1	0	+	+	+	0,1	1 "	0
0,001	0,1	0	0	0	+	0,1	1 "	0
0,0005	0,1	0	0	0	+	0,1	1 "	traces
0,00025	0,1	0	0	0	0	0,1	1 "	moyenne
0,0001	0,1	0	0	0	0	0,1	1 "	pr. complète
0,00005	0,1	0	0	0	0	0,1	1 "	complète
0,01	0	0,1	0	0	0	0,1	1 "	"
0	0,2	0	0	0	0	0,1	1 "	"

Nous avons obtenu des résultats analogues avec le sérum précipitant lapin-poule, sérum normal de la poule et les deux sérums hémolytiques: lapin-vache et chien-vache.

En analysant nos protocoles dont les deux tables citées plus haut sont les types, nous trouvons que la suppression partielle d'hémolyse s'effectue encore dans les solutions des sérums normaux qui ne donnent plus de précipité avec les sérums précipitants correspondants. Si l'on compte avec ces réactions incomplètes où l'hémolyse est partielle, on obtient parfois des résultats assez discordants si, au lieu de prendre 0,1 c. c. d'alexine, on en met une dose plus petite, par exemple 0,001, ou bien si on emploie le sang lavé après la sensibilisation. Les résultats sont beaucoup plus constants si comme limite de la réaction de la déviation d'alexine nous prenons la dose minima du sérum normal, en présence de laquelle l'hémolyse est abolie complètement. Les résultats — très rapprochés alors même pour les doses variables d'alexine — se rapprochent en même temps des résultats obtenus par la méthode de précipitation après 18 heures.

Dans ces conditions, quand on ne compte qu'avec la suppression totale de l'hémolyse, la méthode de précipitation nous a donné parfois des résultats positifs là où la méthode de la déviation d'alexine n'a fourni que les résultats partiels. Notamment, le sérum précipitant lapin-cheval, cité plus haut, employé à la dose de 0,03, donnait toujours la précipitation, tandis que la suppression de l'hémolyse en présence de 0,1 c. c. d'alexine du cobaye n'était que partielle.

En nous rappelant les résultats obtenus par les auteurs cités plus haut, nous voyons que la sensibilité de la méthode de la déviation d'alexine varie beaucoup dans les expériences de divers auteurs. Il est difficile de croire, que les quantités changeantes du sérum précipitant et de l'alexine en soient la cause, puisque — dans les expériences de divers auteurs — ces quantités varient peu. Probablement la structure très compliquée et diverse des sérums actifs provoque ces discordances.

Gengou, Neisser, Sachs et Wassermann supposent que la déviation de l'alexine est provoquée non pas par le complexe: précipi-

tine + sérum normal, mais par une sensibilisatrice des substances albuminoïdes du sérum, sensibilisatrice qui se forme au cours de l'immunisation à côté de la précipitine. En se plaçant à ce point de vue, on peut expliquer les résultats obtenus par Neisser et Sachs, Friedberger, Schütze par ce fait que leurs sérums contenaient peu de précipitines et beaucoup de sensibilisatrices pour les substances albuminoïdes. La question est très clairement analysée par Liefmann<sup>1)</sup> quoique elle ne soit pas résolue définitivement. Dans quelques expériences que nous avons instituées dans cet ordre d'idées, nous avons trouvé toujours que le précipité qui se forme dans le mélange du sérum actif avec le sérum normal est doué d'une grande force d'absorption pour l'alexine, parfois aussi grande que le mélange total. Mais même dans ce dernier cas on trouve que le liquide centrifugé absorbe aussi l'alexine, faiblement il est vrai. Voici une expérience de cette série.

On mélange: 1,0 du sérum précipitant lapin-cheval + 0,01 du sérum normal du cheval + eau physiologique ad 10,0. On laisse le mélange 18 heures à la glacière. Le lendemain on centrifuge le mélange et on obtient un liquide clair et un précipité qu'on lave avec de grandes quantités d'eau physiologique; on émulsionne soigneusement ce précipité dans 10 c. c. d'eau physiologique. Enfin, comme contrôle, on prend la solution de 1,0 du sérum précipitant lapin-cheval dans 9,0 d'eau physiologique. On obtient en somme quatre liquides, que nous nommons: A mélange du sérum actif avec le sérum normal; B précipité lavé et émulsionné; C liquide résultant de la centrifugation du mélange A; D contrôle.

On mélange 0,1 d'alexine du cobaye avec des quantités variables de chaque liquide et on laisse une heure à l'étuve. Après cela on ajoute dans chaque tube du sang de la vache sensibilisé avec deux unités du sérum lapin-vache. Les résultats sont notés après 2 heures à l'étuve et 16 heures à la glacière.

Quantités des liquides essayés	Hémolyse dans le liquide			
	A	B	C	D
1,0	petites traces	traces	moyenne	complète
0,8	" "	" "	forte	" "
0,6	traces	" "	" "	" "
0,4	faible	faible	complète	" "
0,2	très forte	très forte	" "	" "
0,1	complète	complète	" "	" "

Hâtons nous d'ajouter que la centrifugeuse dont nous disposions n'était pas d'une grande force rotatoire (2000 rotations par minute). Cela explique peut-être les résultats de la colonne C.

En mélangeant nos sérums précipitants lapin-cheval, lapin-chien, lapin-poule avec un excès du sérum normal correspondant (0,1 par exemple) nous n'avons obtenu que la suppression partielle de l'hémolyse. Le mélange du sérum lapin-cheval à 0,1 avec le sérum normal du cheval à 0,1 (quantité totale de liquide 1 c. c.) était même tout à fait neutre: l'alexine du cobaye restait libre dans ce mélange et provoquait l'hémolyse complète du sang sensibilisé.

1) Liefmann, Ueber die Komplementablenkung durch Präzipitationsvorgänge. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 15.)

La chose se passe autrement si l'on mélange l'alexine avec le précipité déjà formé et lavé, qu'on redissout ultérieurement dans l'excès du précipitinogène. Nous n'avons pas pu réactiver d'une telle manière l'alexine une fois accaparée par le précipité. En cela nos expériences concordent avec celles de Liefmann.

Liège, Avril 1907.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Geschichte der Typhusschutzimpfung des Menschen.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute Königsberg i. Pr. (Direktor: Geheimrat R. Pfeiffer).]

Von E. Friedberger.

In der Literatur über Typhusschutzimpfung des Menschen findet sich fast stets die Angabe, daß das Verfahren zuerst von Wright angewandt worden sei oder daß dieser Autor doch unabhängig von Pfeiffer und Kolle seine Resultate gewonnen und mitgeteilt habe.

Gelegentlich von Literaturstudien über die Schutzimpfung hat sich mir jedoch bei der Durchsicht der älteren Wrightschen Originalarbeiten ein anderer Sachverhalt ergeben. Die Autoren, die die Tatsachen im obenerwähnten Sinn darstellen, stützen sich gewöhnlich auf eine Angabe, die Wright in seinem Werke „Kurze Abhandlung über Antityphusinokulation“ [Jena (Fischer) 1906] macht, wo er p. 17, nachdem er auf die Gefahren einer Schutzimpfung nach dem Pasteurschen Schema mit lebenden Kulturen gerade für Typhus hinweist, schreibt: „Damals war der Erfolg einer Impfung mit sterilisierten Kulturen noch nicht vorauszusehen. Diese ungünstige Lage wurde mit einem Schlage verändert, als ich im Verlaufe einer Unterhaltung mit R. Pfeiffer erfuhr, daß dieser Forscher durch subkutane Injektion erhitzter Typhuskulturen bei Menschen die spezifische Agglutinationsreaktion erhalten hatte. Die Pfeiffersche Beobachtung deutete darauf hin, daß auch in der erhitzten Typhuskultur die vaccinierenden Elemente ihre Wirksamkeit beibehalten, und hiermit war die Grundlage für das von mir eingeführte<sup>1)</sup> Immunisierungsverfahren mit erhitzten Typhuskulturen geschaffen.“

Hier folgt eine Fußnote (p. 16/17), welche lautet: „Auch Professor Pfeiffer erkannte, daß durch seine Beobachtungen hinsichtlich der Produktion von Agglutininen bei Injektion sterilisierter Kulturen der richtige Weg zur Typhusimmunisierung eröffnet sei. Kurz nach Erscheinen einer Publikation, in der ich über zwei Fälle von Typhusimmunisierung beim Menschen berichtete<sup>2)</sup> (Lancet. 1896. 14. Sept.), veröffentlichte auch Pfeiffer in Gemeinschaft mit Kolle (Dtsche med. Wochenschr. 1896. 12. Nov.) zwei gleichartige Versuche.“

Weiter heißt es im Literaturverzeichnis bei der Aufführung der oben zitierten Arbeit (l. c. p. 72): „In dieser Arbeit, welche die lokale Wirkung bei Typhusimpfungen inter alia behandelt, sind die zwei ersten Versuche von Antityphusinokulationen am Menschen veröffentlicht.“

1) Im Original nicht gesperrt.

2) Im Original nicht gesperrt.

Die Lektüre der Wrightschen Arbeit (Lancet. 1896. Vol. II. No. 12. p. 807. 14. Sept.) zeigt leider, daß diese Angaben ungenau sind und über die Priorität in der Frage der Typhusschutzimpfung falsche Vorstellungen erwecken können. Die zitierte Arbeit „On the association of serous haemorrhages with conditions of defective blood-coagulability“ beschäftigt sich, wie der Titel sagt, mit dem Zusammenhang zwischen serösen Hämorrhagieen und Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes. Es werden in dieser Arbeit die serösen Exsudationen bei Urticaria, Frostbeulen, gewissen Diarrhöeformen etc. in ihrer Beziehung zur Gerinnungsfähigkeit des Blutes behandelt und es wird gezeigt, daß durch innerliche Darreichung von Chlorcalcium die bei den oben erwähnten Zuständen vorhandene verminderte Gerinnungsfähigkeit des Blutes wieder erhöht und damit die Neigung zu serösen Hämorrhagieen beseitigt wird.

Als ein Mittel zur Erzeugung subkutaner seröser Hämorrhagieen mit Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes erwähnt Wright dabei die subkutane Injektion von Typhusbacillen.

Es wird gezeigt, daß bei einem Pferd (subkutane Injektion lebender Bakterien) und bei 2 Versuchspersonen (subkutane Injektion abgetöteter Typhuskeime) die Darreichung von Chlorcalcium die gesunkene Gerinnungsfähigkeit wieder hebt und die Ausbildung von Oedemen zurückhält.

l. c. p. 809 Mitte: „As an example of what can be done in controlling serous haemorrhage I may subjoin the following protocols of experiments, which show that the serous haemorrhage, which is associated with the hypodermic inoculation of typhoid bacilli can be controlled by the exhibition of calcium chloride.“

Irgend einer Beziehung derartiger Injektionen zur Schutzimpfung wird von Wright auch nicht mit einem Wort Erwähnung getan.

Es ist deshalb nicht recht verständlich, wieso Wright in seinem Buche diese beiden Versuche als „zwei Fälle von Typhusimmunsierung beim Menschen“ anführt und auf Grund dessen die Priorität in der Frage der Typhusschutzimpfung beansprucht, um so weniger, als wie er selbst erwähnt, er erst durch R. Pfeiffer veranlaßt wurde, tote Typhusbacillen zu injizieren.

Die Tatsache, daß er zu irgend welchen Zwecken, die mit der Immunsierung resp. Schutzimpfung absolut nichts zu tun haben, tote Typhusbacillen Menschen subkutan injizierte, berechtigt keineswegs zu dieser Auffassung<sup>1)</sup>. Von Antityphusimmunsierung kann vielmehr erst dann die Rede sein, wenn die Injektion in der Absicht erfolgte, dem betreffenden Individuum durch diese Prozedur einen Schutz zu verleihen, und namentlich dann, wenn noch als Folge der Injektion das gehäufte Auftreten jener spezifischen Substanzen im Blutserum konstatiert wurde, die auch in der Rekonvaleszenz bei Typhuskranken auftreten.

Die ersten, welche die subkutane Injektion von Typhusbacillen ausgesprochen zum Zwecke der Typhusschutzimpfung ausführten, waren Pfeiffer und Kolle, wie das schon der Titel ihrer Arbeit „Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Schutzimpfung des Menschen gegen Typhus abdominalis“ (Dtsche med. Wochenschr. 1896. No. 46. 12. Nov.) besagt.

1) Die subkutane Typhusbacilleninjektion war damals übrigens bereits kein Novum mehr, denn schon 12 Jahre zuvor hat sie Fraenkel in Hamburg zu therapeutischen Zwecken bei Typhuskranken angewandt.

Das ergibt sich auch aus einigen wenigen Zitaten dieser Arbeit zur Evidenz.

„Da die Versuche, eine künstliche Immunisierung des Menschen gegen die Cholera herbeizuführen, ein so unerwartet günstiges Resultat ergeben hatten, so lag es nahe, zu untersuchen, wie der Mensch sich gegen die subkutane Einverleibung einer kleinen Dosis abgetöteter Typhusbacillen verhalten würde“ (S.-A. p. 3).

Es wurden zwei Versuchspersonen mit abgetöteten Typhusbakterien subkutan behandelt und ihr Blutserum wurde vor und zu verschiedenen Zeiten nach der Behandlung auf den Gehalt spezifischer Antikörper untersucht.

„Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die einmalige Injektion einer minimalen Menge abgetöteter Typhuskultur beim Menschen eine spezifische Blutveränderung herbeiführt, welche schon nach 6 Tagen nachweisbar ist und mindestens denselben Grad erreicht, wie wir sie früher bei Typhusrekonvaleszenten nachgewiesen haben.“

„. . . .“, so müssen wir erwarten, daß unsere prophylaktischen Schutzimpfungen mit abgetöteten Typhuskulturen im stande sind, eine Immunität von gleicher Höhe und Dauer zu erzeugen, wie sie nach dem Ueberstehen der natürlichen Typhusinfektion zurückbleibt.“

Zu Anfang des auf diese Publikation folgenden Jahres (1897) berichtet dann auch Wright in Gemeinschaft mit Semple über Typhusimmunisierungen beim Menschen [Wright and Semple, „Remarks on vaccination against typhoid fever“ (Brit. med. Journ. 1897. No. 1883. p. 256. 30. Jan.)].

Bereits in dieser Arbeit stellt Wright seine früher mitgeteilten 2 Fälle von subkutaner Typhusbacilleninjektion an Menschen als „vaccinations against typhoid“ hin und würde damit die Priorität haben.

Er schreibt: „Our first vaccination against typhoid were undertaken in the month of July and August of last year. These vaccinations were put on record by one of us in the Lancet of September 19<sup>th</sup> 1896. In a paper with dealt primarily with the question of serous haemorrhage. A reprint of this paper was sent among others to Professor Pfeiffer.“

Nach dem, was ich oben über den Inhalt der Arbeit im Lancet. 1906 mitgeteilt habe, beschäftigte sich diese Abhandlung nicht hauptsächlich (primarily), sondern ausschließlich mit der Frage der serösen Hämorrhagie und es ist zu bedauern, daß die Darstellung Wrights zu einer falschen Auffassung in der Prioritätsfrage für jeden, dem der Lancetartikel nicht zugänglich war, führen mußte.

Durch meine Darlegungen ist die Priorität Pfeiffers und Kolles in der Frage der Typhusschutzimpfung des Menschen wohl unzweideutig erwiesen.

Durch diese Feststellung des objektiven Tatbestandes sollen im übrigen die großen Verdienste, die sich Wright durch die Einführung der Typhusvaccination in der englischen Armee, durch zahlreiche interessante Beobachtungen auf diesem Gebiet, durch seine unausgesetzten Bemühungen um Gewinnung eines ausgedehnten statistischen Materials erworben hat, nicht geschmälert werden.



*Nachdruck verboten.*

## Experimentelle Untersuchungen über das monogene Streptokokkenimmunserum.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.]

Von Dr. F. B. Simon.

Unter einem monogenen Streptokokkenimmunserum verstehe ich ein solches, welches durch Immunisierung eines Tieres mit einem einzigen Streptokokkenstamm gewonnen wird. Dementsprechend sind die Immunsera von Tieren, welche mit mehreren Streptokokkenstämmen behandelt wurden, durch das Beiwort polygen zu charakterisieren. Ein Immunserum, welches im Tierversuch nur gegenüber einem Streptokokkenstamm wirksam ist, bezeichne ich als univalent und ein solches, auf welches im Experiment mehrere Stämme reagieren, als multivalent. Es beziehen sich also die Ausdrücke monogen und polygen lediglich auf die Herkunft des betreffenden Immunserums, während durch die Bezeichnungen univalent und multivalent die Wirkung im Tierversuch definiert wird.

Die bisher übliche Unterscheidung der Immunsera in monovalente und polyvalente basiert auf der Voraussetzung, daß die mit einem Stamm hergestellten Immunsera nur auf den eignen Stamm im Tierversuch wirken, und daß nur solche Sera, welche durch Immunisierung mit mehreren Stämmen gewonnen werden, dann auch verschiedene Stämme im Tierversuch beeinflussen, denn die Bezeichnungen monovalent und polyvalent werden gleichmäßig sowohl für die Herkunft wie für das Verhalten eines Immunserums im Tierversuch gebraucht. Daß jene Voraussetzung aber keineswegs immer zutreffend ist, zeigen u. a. die Untersuchungen von Kolle, Hetsch und Otto<sup>1)</sup> über das Pestserum. Diese Autoren wiesen nach, daß ein mit einem Peststamm hergestelltes Immunserum auch auf andere Peststämme im Tierversuch wirkt, also nach der jetzt gebräuchlichen Bezeichnung zugleich monovalent und polyvalent ist. Es ist daher angezeigt, durch eine schärfere Begriffstrennung die mit dem bisher üblichen Sprachgebrauch notwendig verbundene Unklarheit zu beseitigen. —

Die Serumtherapie der Streptokokkeninfektionen hat während der kurzen Zeit ihres Bestehens größere Wandlungen durchgemacht als irgend eine andere unter den serumtherapeutischen Bestrebungen der Gegenwart. Marmorek (1) und nach ihm Aronson (2) immunisierten anfangs mit einem durch zahlreiche Tierpassagen hochvirulent gemachten Streptococcus. Im Jahr 1897 stellte van de Velde (3) die Forde-

1) Kolle, Hetsch und Otto, Weitere Untersuchungen über Pest, im besonderen über Pestimmunität. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVIII. 1904.) In dieser Arbeit haben die Autoren zuerst die Bezeichnungen: univalent und multivalent an Stelle von monovalent und polyvalent eingeführt, indem sie mit Recht diese bisher üblichen Benennungen als sprachlich inkorrekt verwerfen. Doch gebrauchen sie die Ausdrücke univalent und multivalent in der gleichen Bedeutung wie die bisherigen monovalent und polyvalent, unterscheiden also nicht zwischen Herkunft und Wirkungsart des Immunserums. So schreiben sie z. B.: „Das mit einem Peststamm hergestellte univalente Serum hat multivalente Eigenschaften, indem es auf alle Stämme gleichmäßig wirkt.“ Wie soll man nun das Pestserum bezeichnen, als univalent oder als multivalent? Nach der oben vorgeschlagenen neuen Terminologie würde man kurz sagen: Das monogene Pestserum ist multivalent.

rung auf, daß man mit mehreren Stämmen immunisieren müsse, da er aus seinen Tierversuchen den Schluß zog, daß ein monogenes Immuneserum hauptsächlich nur gegen den eignen Stamm schütze. Tavel (4), welcher sich wie die anderen Autoren der Ausschauung van de Veldes anschloß, ging noch weiter, indem er verlangte, daß man nur mit Streptokokken, welche direkt vom Menschen stammen, immunisiere, weil die durch Passagen „tierpathogen“ gewordenen Stämme ungeeignet seien zur Erzeugung eines Immuneserums, das gegenüber den Streptokokkeninfektionen des Menschen wirksam sein solle. Seine Auffassung fand allgemeine Anerkennung, und die gegenwärtig im Handel befindlichen Antistreptokokkenserum (Moser, Menzer, F. Meyer, Besredka, Aronson etc.) sind sämtlich nach der Vorschrift Tavel's hergestellt mit menschenpathogenen Streptokokken, welche kein Tier passiert haben.

Die beiden Hauptfragen, welche dieser völligen Umwälzung der Ansichten zu Grunde liegen, sind also: 1) Wirkt ein mit Passagestamm erzeugtes Immuneserum nur auf den eigenen Stamm und nicht auf andere Stämme? 2) Ist ein Streptococcus, welcher Tiere passiert hat, außer stande, ein Immuneserum zu liefern, das gegen menschenpathogene Streptokokken schützt?

In der vorliegenden Arbeit habe ich mir die Aufgabe gestellt, diese beiden Fragen experimentell zu untersuchen. Was die erste Frage anbelangt, so sind schon seit einiger Zeit von verschiedenen Autoren, wie Aronson, Sommerfeld (5), Neufeld (6) u. A., Beobachtungen mitgeteilt worden, nach welchen der pluralistische Standpunkt van de Veldes, soweit tiervirulente Stämme in Betracht kommen, nicht mehr aufrecht zu erhalten ist. So gelang es z. B. Neufeld, mit dem Immuneserum seines Passagestamms F im Tierversuch gegen die fremden Passagestämme Marmorek und Aronson zu schützen. Da meine diesbezüglichen Untersuchungen zu dem gleichen Resultat führten, werde ich über dieselben im ersten Teil dieser Arbeit nur möglichst kurz referieren.

Um so ausführlicher werde ich im zweiten Teil die andere Frage behandeln, die Frage nach den Beziehungen der Passagestämme zu den menschenpathogenen Streptokokken, welche meines Wissens bisher überhaupt noch keine eingehende experimentelle Untersuchung erfahren hat, obwohl sie für die Serumtherapie beim Menschen noch wichtiger ist als die erste Frage.

### I.

Zur Serumgewinnung wurden ausschließlich Kaninchen verwendet, und zwar wurden nacheinander im ganzen 22 Tiere immunisiert. Für den ersten Teil der Arbeit bediente ich mich nur solcher Streptokokkenstämme, die durch zahlreiche Tierpassagen stark virulent gemacht worden waren. Es waren dies die 5 Stämme B, C, M, P und S. Die Stämme C und S waren gewonnen aus dem Blut zweier tödlich verlaufener Sepsisfälle, der Stamm M aus dem Eiter einer puerperalen Mastitis; die Stämme B und P sind unbekannter Provenienz und kamen schon als Passagestämme in meine Hände. B, C, M und P hatten nur Kaninchenpassagen durchgemacht, während der Stamm S ausschließlich durch Meer-schweinchen geschickt worden war.

Ein jedes Kaninchen wurde immer nur mit je einem Streptokokkenstamm immunisiert. Da ich bereits vorher die Erfahrung gemacht hatte, daß mit der bisher üblichen Methode der subkutanen Injektion steigender Dosen virulenter Kulturen ein genügend starkes Immuneserum nicht zu

erzielen war, war ich gezwungen, eine neue Art der Kaninchenimmunisierung anzuwenden. Ich gab die subkutane Immunisierung vollständig auf und behandelte die Kaninchen nur noch mit intravenösen Injektionen. Es ist bekanntlich nicht leicht, diese gegen Streptokokken so empfindlichen Tiere auf subkutanem Wege zu immunisieren, um so aussichtsloser erschien zunächst der Versuch, durch intravenöse Impfung zum Ziel zu kommen. Neufeld leitet zwar die Immunisierung der Kaninchen durch eine intravenöse Injektion abgetöteter Streptokokken ein, aber weiterhin impft er das lebende Kokkenmaterial subkutan. Ich habe schließlich die folgende Methode als die sicherste für die intravenöse Immunisierung der Kaninchen erprobt. Es wurden zuerst dem Tier intravenös 10 ccm Bouillonkultur und 3—4 Agarkulturen, die bei 65° abgetötet waren, intravenös injiziert. 8—14 Tage nachher erhielt das Kaninchen ebenfalls intravenös die gleiche Dosis Streptokokkenkultur, die aber nur 1—1½ Stunden auf 55° erwärmt, also nur abgeschwächt war. Nach Abklingen der Reaktion wurde dem Tier die gleiche Dosis, doch nur auf 50° erwärmt, intravenös injiziert. Das war die Vorbehandlung der Immuntiere. Erst dann wurden sie intravenös mit vollvirulentem Material behandelt; sie erhielten auch nach dieser Vorbehandlung niemals mehr als die 10-fache tödliche Dosis.

Die Hauptgefahr beim Uebergang von der Vorbehandlung zur Behandlung mit vollvirulenten Kulturen auf intravenösem Wege ist die Embolie, an welcher ich anfangs eine Anzahl Tiere verlor. Man kann diese Gefahr zwar nicht ganz verhüten, aber doch erheblich einschränken, wenn man die betreffende Kultur vorher mit Bouillon im Verhältnis von 1:10 verdünnt und dann durch ein steriles, nicht zu dickes Papierfilter schiebt.

Die so erhaltenen Immunsera wurden nunmehr im Tierversuch an Mäusen auf ihre Wirkung gegenüber den heterologen Streptokokkenstämmen geprüft. Bei diesen Versuchen wurde nach einem einheitlichen Schema verfahren. Das Versuchstier erhielt stets 1 ccm des angegebenen Immuserums, das Kontrolltier 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan. Gleichzeitig wurde an einer anderen Körperstelle den Tieren eine subkutane Injektion mit virulenter Streptokokkenkultur gemacht. Ich habe hier also nicht, wie bisher üblich, das Immuserum 24 Stunden vor der Streptokokkeninfektion injiziert, sondern ich habe diese an sich günstigere Versuchsanordnung deshalb vermieden, weil mir darauf ankam, zu erfahren, ob eine eventuelle Wirkung der monogenen Immunsera auf andere Stämme nicht nur prophylaktisch, sondern auch therapeutisch in Betracht komme.

## Immuserum B.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier	Kontrolltier
Str. M 0,0002 ccm (Dosis letal. simpl. < 0,0001)	bleibt gesund	tot nach 24 Stunden
Str. P 0,0004 ccm (Dosis letal. simpl. = 0,0002)	„ „	„ „ 48 „
Str. S 0,0002 ccm (Dosis letal. simpl. < 0,00001)	„ „	„ „ 12 „
Str. C 0,0005 ccm (Dosis letal. simpl. < 0,0001)	„ „	„ „ 24 „
Str. C 0,001 ccm	tot nach 36 Stunden	„ „ 36 „

Es seien hier nur diejenigen Versuche mit den Sera B und M angeführt, welche zeigen, bis zu welcher Dosis der betreffenden heterologen Stämme jene beiden Sera schützten. Der Buchstabe, mit dem das Immunserum bezeichnet ist, bezieht sich auf den Streptokokkenstamm, der zur Immunisierung diente.

## Immunserum M.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier	Kontrolltier
Str. B 0,0002 ccm (Dosis letal. simpl. < 0,0001)	bleibt gesund	tot nach 18 Stunden
Str. P 0,0004 ccm	" "	" " 48 "
Str. S 0,0002 ccm	" "	" " 12 "
Str. C 0,001 ccm	" "	" " 36 "

Hieraus geht hervor, daß sowohl das mit dem Stamm B wie das mit dem Stamm M hergestellte Immunserum im Tierversuch gegen die vier anderen Passagestämme schützte. Das mit einem Passagestamm erzeugte monogene Streptokokkenimmunserum ist also auch gegenüber fremden Passagestämmen wirksam, ist also multivalent. Interessant ist, daß die Schutzwirkung dieser beiden Immunsere gegen die heterologen Stämme ungefähr gleich war; eine Ausnahme macht nur der Stamm C, der von dem Serum M stärker beeinflusst wurde als von dem Serum B. Dahingegen reagierten die einzelnen Streptokokkenstämme sehr ungleichartig auf die beiden Sera; während Serum B nur gegen die zweifache tödliche Dosis des Str. M. und des Str. P, und Serum M ebenfalls nur gegen die doppelte tödliche Dosis des Str. B und des Str. P schützte, waren beide Sera gegen die mehr als 20-fache tödliche Dosis des Str. S wirksam, obwohl die Virulenz dieses Stammes mehr als 10mal höher war als die der Str. B und M und mehr als 20mal höher als die des Str. P. Dieser Befund ist um so merkwürdiger, als, wie bereits erwähnt, der Stamm S ausschließlich durch Meerschweinchen geschickt worden war, während die Str. M und B nur Kaninchen passiert hatten. Es wirkt also ein mit einem Passagestamm hergestelltes Streptokokkenimmunserum im Tierversuch auf einen anderen Passagestamm auch dann, wenn die beiden Stämme von Anfang an durch zwei verschiedene Tierspecies geschickt worden sind.

Was die Wertigkeit der einzelnen monogenen Immunsere anbelangt, so zeigte es sich, daß ausnahmslos diejenigen Immuntiere das wirksamste Serum lieferten, welche bei der Immunisierung am stärksten reagiert hatten. Oft genügte eine einzige starke Reaktion, um ein hochwertiges Immunserum zu erzeugen. Dabei verloren die Tiere zuweilen  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{4}$  des Körpergewichts und erholten sich erst nach mehreren Wochen wieder. Bei zweien meiner Immuntiere trat eine so schwere Reaktion ein, daß die Tiere sich nicht mehr erholten, sondern nach einiger Zeit unter den Erscheinungen der Streptokokkenkachexie mit sterilem Blut und sterilen Organen zu Grunde gingen.

Das eine dieser beiden Tiere war ein Jahr lang mit dem Str. M immunisiert worden. Zuletzt hatte es die 50-fache tödliche Dosis virulenter Kultur intravenös erhalten, ohne erheblich zu reagieren. Danach wurde dem Tier Blut entzogen, und das Serum im Tierversuch geprüft. Es zeigte sich jetzt, daß das Serum nur gegen den eigenen Stamm schützte

aber nicht gegen einen der anderen Stämme. Nun wurde dem Tier die 100-fache tödliche Dosis virulenter Kultur intravenös injiziert. Es magerte danach rapid ab, von 3400 g bis auf 2300 g im Verlauf von 4 Wochen, und wurde bereits moribund getötet. Blut und Organe waren steril. Das Serum dieses Tieres, welches vor der letzten tödlich verlaufenen Injektion nur gegenüber dem eigenen Stamm wirksam war, schützte nunmehr auch gegen die vier anderen Stämme und erwies sich überhaupt als das stärkste unter allen Immunsera meiner Passagestämme. Es ist das Serum M, von dem in der vorstehenden Tabelle berichtet wird.

Aus dieser Beobachtung geht hervor, daß die These: je stärker die Reaktion, desto hochwertiger das Immunserum, selbst dann ihre Gültigkeit behält, wenn die Schwere der Reaktion zum Tode des Immuntiers führt. Auch bei dem anderen Immuntier, welches kachektisch zu Grunde ging, war das Resultat das gleiche, wie weiter unten gezeigt werden wird.

Ferner lehrt jene Beobachtung, daß das monogene Streptokokkenimmunserum nur gegen den eigenen Stamm schützt, solange es noch nicht hochwertig ist, und daß es erst dann multivalent wird, wenn die Immunisierung hochgetrieben wird. Das Auftreten der Multivalenz in dem monogenen Immunserum kann demnach nicht als etwas qualitativ Neues betrachtet werden, sondern nur als eine quantitative Steigerung, als eine Vermehrung der bereits erzeugten spezifischen Antikörper.

Um ein monogenes multivalentes Streptokokkenimmunserum zu gewinnen, ist es also notwendig, möglichst starke Reaktionen bei dem Immuntier auszulösen. Die Stärke der Reaktion bei der intravenösen Immunisierung von Kaninchen mit einem Passagestamm ist nach meinen Beobachtungen von drei Faktoren abhängig: 1) von der Virulenz des Streptokokkenstammes, 2) von der Spannung der aufeinanderfolgenden Dosen, welche bei der Immunisierung injiziert werden, und 3) von der individuellen Empfindlichkeit des Immuntiers.

Der 1. und 3. Punkt bedürfen keiner Erläuterung. Auch die Frage der Dosierung wird an einem konkreten Beispiel sofort klar. Gesetzt, man immunisiert zwei Kaninchen A und B von gleicher Empfindlichkeit mit demselben Streptokokkenstamm. Nach gleichmäßiger Vorbehandlung mit abgeschwächten Kulturen wird beiden Tieren je 0,05 ccm vollvirulenter Kultur intravenös injiziert. Danach erhält Kaninchen A in bestimmten Zeitintervallen, je nach Abklingen der Reaktion, successive 0,06 ccm, dann 0,07 ccm, 0,08 ccm, 0,09 ccm und schließlich 0,1 ccm virulenter Kultur. Dem Kaninchen B dagegen wird, nachdem es die Reaktion auf die zuerst injizierten 0,05 ccm überwunden hat, sogleich 0,1 ccm eingespritzt. Es werden bei Kaninchen A nacheinander fünf leichtere Reaktionen eintreten, bei Kaninchen B nur eine einzige, aber schwere Reaktion. Nach den bei meinen Immuntieren gewonnenen Erfahrungen wird Kaninchen A ein wenig wirksames, wahrscheinlich nur univalentes Serum, Kaninchen B ein hochwertiges multivalentes Serum liefern, obwohl Kaninchen A im ganzen 0,45 ccm, Kaninchen B nur 0,15 ccm virulenter Kultur erhalten hat. Wenn also die Wertigkeit eines Streptokokkenimmunserums einerseits abhängt von der Stärke der Reaktion des Immuntiers, so ist sie andererseits völlig unabhängig von der Menge des injizierten Kokkenmaterials.

## II.

Für die Untersuchung der Frage, ob die Immunsera von Passagestämmen menschenpathogene Streptokokken, die noch kein Tier passierten, im Tierversuch beeinflussen können, bediente ich mich der beiden Stämme C und K. Diese beiden Stämme waren ohne vorhergegangene Passage virulent für Tiere, und zwar betrug die einfache tödliche Dosis der Originalkultur des Str. C (mit CO bezeichnet) für Mäuse 0,005 ccm, die einfache tödliche Dosis der Originalkultur des Str. K (KO) 0,001 ccm. Der Str. C, welcher, wie bereits oben erwähnt, aus dem Blut eines Sepsiskranken gewonnen worden war, wurde auch durch eine Anzahl Kaninchen geschickt und ist daher schon im I. Teil unter den Passagestämmen aufgeführt worden. Hier wurde natürlich nur die Originalkultur verwendet. Der Str. K stammt von einem scharlachkranken Kind aus dem Züricher Kinderspital; bei diesem Patienten traten im Verlauf des Scharlachs multiple Abscesse am Körper auf, welche Streptokokken in Reinkultur enthielten. Dieser Eiter lieferte den Stamm K.

Die beiden Stämme CO und KO wurden hauptsächlich zu den Tierversuchen mit den Immunsera der Passagestämmen B und S verwendet. Zur Prüfung des Serum M benützte ich außerdem den Eiter aus einem Absceß eines Erysipelatösen, in welchem ebenfalls, sowohl mikroskopisch als kulturell, ausschließlich Streptokokken nachzuweisen waren. Die einfache tödliche Dosis dieses Eiters für Mäuse war 0,01 ccm; als Impfmateriale diente die durch Zentrifugieren des Eiters erhaltene seröse Flüssigkeit.

## Immunserum B.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum B)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. CO (0,02 ccm)	tot nach 48 Stunden	tot nach 4 Tagen
Str. CO (0,03 ccm)	bleibt leben	" " 9 "
Str. KO (0,0015 ccm)	tot nach 3 $\frac{1}{2}$ Tagen	" " 3 $\frac{1}{2}$ "
Str. KO (0,0025 ccm)	" " 2 $\frac{1}{2}$ "	" " 3 $\frac{1}{2}$ "
Str. KO (0,005 ccm)	" " 2 $\frac{1}{2}$ "	" " 36 Stunden

## Immunserum S.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum S)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. CO (0,02 ccm)	tot nach 3 $\frac{1}{2}$ Tagen	tot nach 3 $\frac{1}{2}$ Tagen
Str. CO (0,04 ccm)	" " 3 "	" " 36 Stunden
Str. CO (0,04 ccm) die Kultur war mehrere Tage alt	" " 11 "	" " 22 Tagen
Str. KO (0,0015 ccm)	" " 36 Stunden	" " 4 "
Str. KO (0,0025 ccm)	" " 3 $\frac{1}{2}$ Tagen	" " 3 $\frac{1}{2}$ "
Str. KO (0,005 ccm)	" " 3 $\frac{1}{2}$ "	" " 36 Stunden

## Immunserum M.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum M)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. CO (0,05 ccm)	tot nach 5 Tagen	tot nach 36 Stunden
Erysipeleiter (0,05 ccm)	" " 24 Stunden	" " 24 "
Erysipeleiter (0,05 ccm)	bleibt leben	" " 7 Tagen
Erysipeleiter (0,05 ccm)	tot nach 48 Stunden	" " 36 Stunden

Aus diesen 15 Versuchen ergibt sich zur Evidenz, daß die Sera der Passagestämme B, S und M gegenüber den drei menschenpathogenen Stämmen, welche hier zur Anwendung kamen, unwirksam sind. An diesem Resultat können selbsverständlich die zwei scheinbar positiv ausfallenden Versuche der Sera B und M nichts ändern. Das Ueberleben des Versuchstiers in diesen beiden Fällen ist nur Sache des Zufalls und vermutlich der größeren individuellen Widerstandskraft des betreffenden Tieres gegenüber menschenpathogenen Streptokokken zuzuschreiben, ein Faktor, der bei Versuchen mit diesen eine so große Rolle spielt, daß man hier nur aus größeren Versuchsreihen Schlüsse ziehen darf. (Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## **Wie verhalten sich die nach dem v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfungsverfahren immunisierten Rinder gegenüber einer wiederholten verstärkten natürlichen Infektion, und wie bewährt sich das Schutzimpfungsverfahren bei der praktischen Bekämpfung der Rindertuberkulose?**

[Aus dem Veterinärinstitute der Universität Leipzig.]

Von Prof. Dr. A. Eber, Institutsdirektor <sup>1)</sup>.

(Schluß.)

### **I. Infektionsversuch.**

Der erste Infektionsversuch begann Anfang Mai 1905 und endete Ende November 1905. Wir betrachten zunächst das Verhalten der Rinder der Gruppe I.

Als Infektionstier für diese Gruppe diente ein am 5. April 1905 auf dem Leipziger Schlachthof angekauft, 4 Monate altes, auf Tuberkulin nicht reagierendes weibliches Rind (Rd. 30), welches in entsprechenden Zwischenräumen, abwechselnd an der rechten und linken Halsseite, subkutan teils mit frischem Perlsuchtmaterial von Schlachtrindern, teils mit tuberkulösen Organen von Meerschweinchen, die mit Rindertuberkulose infiziert waren, geimpft wurde. An der Impfstelle entwickelte sich allmählich eine anfangs derbe, später fluktuierende Geschwulst, welche in der Regel 2–3 Wochen nach der Impfung von selbst durchbrach oder zur Erleichterung des Durchbruchs gespalten wurde. Eine Behandlung des tuberkulösen Abscesses fand nicht statt. Der Tuberkelbacillengehalt des Ausflusses wurde in geeigneten Zwischenräumen durch Färbung bzw. Meerschweinchenimpfung kontrolliert. Die Abheilung der tuberkulösen Abscesse erfolgte meist innerhalb 4 bis 6 Wochen. Eine ernstere Allgemeinerkrankung trat bei Rd. 30 nur im Anschluß an die zweite Infektion, später aber niemals mehr ein, so daß dieses Rind während der ganzen Dauer des Versuches als Infektionstier beibehalten werden konnte (vergl. das völlig abweichende Verhalten der Infektionstiere der Gruppe II).

Während der ganzen Dauer des Versuches stand Rd. 30 mitten zwischen den Versuchstieren der Gruppe I. So oft sich ein tuberkulöser Absceß öffnete, wurden in entsprechenden Zwischenräumen Umstellungen

der Versuchstiere vorgenommen, so daß alle Tiere der Reihe nach annähernd die gleiche Zeit hindurch in unmittelbarer Nähe des tuberkulösen Abscesses zu stehen kamen. Eine gründliche Reinigung des Stalles, namentlich in der Umgebung der Krippen, wurde während der ganzen Dauer des Versuches unterlassen. Die Aufstellung der Tiere und ihre Dauer wurde jedesmal genau notiert.

Folgende 5 Infektionen wurden bei Rd. 30 ausgeführt:

1) Am 10. April 1905 an der rechten Halsseite mit 1 g Perlknoten vom Bauchfell eines Schlachtrindes, verrieben mit 10 ccm Bouillon. Es entwickelte sich weder ein Absceß noch überhaupt eine Anschwellung an der Impfstelle; vorübergehende Temperatursteigerung ( $39,9^{\circ}\text{C}$ ) am 10. Tage.

2) Am 1. Mai 1905 an der linken Halsseite mit 5 g Perlknoten vom Brustfell eines Schlachtrindes, mit 15 ccm Bouillon verrieben. An der Impfstelle entwickelte sich eine kindskopfgröße Anschwellung; beide Bugdrüsen geschwollen; Fiebererscheinungen, Husten; Aufbrechen des tuberkulösen Abscesses am 23. Mai 1905; Abheilung Anfang Juli. Ein Meerschweinchen, welches am 27. Mai 1905 mit einem ca. linsengroßen Stück der Absceßwand subkutan infiziert wurde, starb 47 Tage nach der Infektion an generalisierter Tuberkulose.

3) Am 7. Juni 1905 an der rechten Halsseite mit Milz und Bronchialdrüse eines mit Rindertuberkulose infizierten Meerschweinchens, verrieben mit 12 ccm Bouillon. An der Impfstelle entwickelte sich eine faustgroße Anschwellung; Aufbruch des tuberkulösen Abscesses am 24. Juni 1905; Abheilung Mitte Juli. Ein Meerschweinchen, welches am 1. Juli 1905 mit einer kleinen (linsengroßen) Menge des Ausflusses subkutan infiziert wurde, starb 67 Tage nach der Infektion an generalisierter Tuberkulose.

4) Am 17. Juli 1905 an der linken Halsseite nahe am Trierl mit walnußgroßem Lungenstück eines an Miliartuberkulose verendeten Versuchskalbes, verrieben mit 10 ccm Bouillon; Aufbruch des tuberkulösen Abscesses am 31. Juli 1905; Abheilung Ende August. Ein Meerschweinchen, welches am 1. Aug. 1905 mit linsengroßer Menge des Eiters subkutan infiziert wurde, starb 67 Tage nach der Infektion an generalisierter Tuberkulose.

5) Am 1. Sept. 1905 an der rechten Halsseite mit Milz und Bronchialdrüse eines mit Rindertuberkulose infizierten Meerschweinchens, verrieben mit 15 ccm Bouillon. Es kam nicht mehr zur Ausbildung eines Abscesses.

Um über den Erfolg dieser verstärkten natürlichen Infektion bei den Versuchstieren ein Urteil zu gewinnen, wurden in geeigneten Zwischenräumen Tuberkulinproben (im ganzen 3mal) bei sämtlichen Versuchstieren vorgenommen.

Die erste Tuberkulinprobe fand am 7. Juli 1905 statt (0,5 ccm Tuberkulin):

Rd. 32 reagierte typisch ( $38,9-41,1^{\circ}\text{C}$ ).

Rd. 18 und Rd. 23 reagierten nicht ( $38,9-38,9^{\circ}\text{C}$  bzw.  $38,6-38,9^{\circ}\text{C}$ ).

Die zweite Tuberkulinprobe fand am 8. Sept. 1905 statt:

Rd. 32 reagierte typisch ( $39,4-40,7^{\circ}\text{C}$ ).

Rd. 18 und Rd. 23 reagierten nicht ( $39,8-39,4^{\circ}\text{C}$  bzw.  $39,0-39,2^{\circ}\text{C}$ ).

Die dritte Tuberkulinprobe fand am 11. Nov. 1905 statt:

Rd. 32 reagierte wie früher positiv ( $38,8-40,7^{\circ}\text{C}$ ).

Rd. 18 und Rd. 23 reagierten nicht ( $38,9-39,2^{\circ}\text{C}$  bzw.  $38,7-39,0^{\circ}\text{C}$ ).

Krankheitserscheinungen wurden bei keinem Versuchstier während der Beobachtungszeit festgestellt. Die Gewichtszunahme entsprach der Fütterung. Am 20. Sept. 1905 wog Rd. 18: 317 kg, Rd. 23: 397 kg, Rd. 32: 347 kg. Rd. 32 brachte am 16. Sept. 1905 ein kleines, aber sonst normal entwickeltes Kalb zur Welt. Am 21. Nov. 1905 wurden alle 3 Versuchstiere und das auf Tuberkulin reagierende, aber sonst anscheinend gesunde Rd. 30 zur bequemeren Ueberwinterung nach Rittergut Mühlbach übergeführt.

Betrachten wir nunmehr das Verhalten der Rinder der Gruppe II:



Als Infektionstiere für diese Gruppe dienten nacheinander 4 auf dem Schlachthof in Leipzig gekaufte, 3—4 Monate alte Rinder und 1 ca. 5 Jahre altes Rind, welche in gleicher Weise wie Rd. 30 bei Gruppe I teils an der rechten, teils an der linken Halsseite mit vom Rinde stammendem tuberkulösen Materiale subkutan infiziert und mitten zwischen die Versuchstiere gestellt wurden. Sobald ein tuberkulöser Absceß sich öffnete, wurden, genau wie bei Gruppe I, regelmäßige Umstellungen der Versuchstiere vorgenommen, so daß allen Tieren nacheinander annähernd die gleiche Gelegenheit zur Infektion geboten wurde. Drei Infektionsrinder, welche sich sämtlich weniger widerstandsfähig als Rd. 30 in Gruppe I erwiesen, verendeten mitten zwischen den Versuchstieren, zwei wurden schwerkrank getötet. Auch hier unterblieb eine gründliche Reinigung des Versuchsstalles während der ganzen Dauer des Versuches. Die jeweilige Aufstellung der Tiere und ihre Dauer wurde ebenfalls genau notiert. Folgende 5 Rinder dienten nacheinander als Infektionstiere:

1) Rd. 34, weiblich, ca. 3 Monate alt, auf Tuberkulin nicht reagierend, erhielt am 25. Mai 1905 an der rechten und linken Halsseite je  $2\frac{1}{2}$  g Perlsuchtmaterial von einem abgemagerten Schlachtrinde, verrieben mit je 6 ccm Bouillon, subkutan injiziert. An der Impfstelle traten beiderseits faustgroße derbe Anschwellungen auf, welche jedoch nicht aufbrachen. Unter hohem Fieber und Atemnot verendete das Tier am 26. Juni 1905 (32 Tage nach der Infektion) an akuter Miliartuberkulose. Um das Material auszunutzen, erhielt jedes der 4 im Versuch stehenden Rinder 50 ccm von dem im ganzen 200 ccm betragenden Inhalte beider noch nicht zum Durchbruch gelangter tuberkulöser Abscesse, gemischt mit je 1 l Milch, in einem Eimer Kleientrank vorgesetzt. Sämtliche Tiere nahmen den Trank in 24 Stunden auf.

2) Rd. 35, weiblich, ca. 3 Monate alt, auf Tuberkulin nicht reagierend, erhielt am 25. Mai 1905 genau wie Rd. 34 rechterseits und linkerseits am Halse je  $2\frac{1}{2}$  g von demselben Perlsuchtmaterial mit je 6 ccm Bouillon verrieben, subkutan injiziert. Fauststarke Anschwellung an beiden Impfstellen, Anschwellung der zugehörigen Lymphdrüsen, Fiebererscheinungen und Husten; Aufbruch eines tuberkulösen Abscesses linkerseits am 7. Juni 1905. Ein mit einer linsengroßen Menge des Eiters subkutan infiziertes Meerschweinchen starb 57 Tage nach der Infektion an generalisierter Tuberkulose. Am 1. Juli 1905 wurde ein zweiter Absceß links oberhalb des ersten gespalten; hochgradige Abmagerung. Unter zunehmender Atemnot und Husten verendete das Tier am 16. Juli 1905 (52 Tage nach der Infektion) an generalisierter Tuberkulose.

3) Rd. 36, weiblich, ca. 4 Monate alt, am 29. Juni 1905 an der linken Halsseite subkutan infiziert mit Milz, Portal- und Bronchialdrüse von tuberkulösem Meerschweinchen (Rindertuberkulose), verrieben mit 15 ccm Bouillon; infiziert am 17. Juli 1905 subkutan an der rechten Halsseite mit einem ca. haselnußgroßen Lungenstück von Rd. 35, verrieben mit etwas Bouillon; am 8. Aug. 1905 Aufbruch eines faustgroßen tuberkulösen Abscesses an der linken Halsseite. Ein mit ca. linsengroßer Menge des Absceßinhalts subkutan infiziertes Meerschweinchen starb 53 Tage nach der Infektion an generalisierter Tuberkulose. Unter hohem Fieber und Atemnot verendete das Rind am 22. Aug. 1905 (54 Tage nach der Infektion) an akuter Miliartuberkulose.

4) Rd. 38, weiblich, 5 Jahre alt, mit chronischer, nicht tuberkulöser Euterentzündung behaftet, am 27. Juli 1905 subkutan an der linken Halsseite infiziert mit Milz, Portal- und Bronchialdrüse eines tuberkulösen Meerschweinchens (Rindertuberkulose). Es entwickelte sich an der Impfstelle allmählich eine über manneskopfgroße Anschwellung, welche am 21. Sept. 1905 aufbrach. Ein mit einer linsengroßen Menge Absceßinhalt subkutan infiziertes Meerschweinchen starb 23 Tage nach der Infektion an generalisierter Tuberkulose. Am 3. Okt. 1905 wurde dasselbe Rind subkutan an der rechten Halsseite infiziert mit zwei halben Milzen zweier tuberkulöser Meerschweinchchen (Rindertuberkulose). Es entstand eine derbe Anschwellung an der Impfstelle, die nicht mehr zum Aufbruch kam. Kuh lag viel; Fiebererscheinungen, Husten, Atemnot; am 26. Okt. 1905 wurde sie in schwerkrankem Zustande getötet. Die Sektion ergab generalisierte Tuberkulose.

5) Rd. 39, weiblich, ca. 3 Monate alt, am 1. Sept. 1905 subkutan an der rechten Halsseite infiziert mit der Milz eines tuberkulösen Meerschweinchens (Rindertuberkulose). Es entstand eine hühnereigroße derbe Anschwellung; Fiebererscheinungen. Am 3. Okt. 1905 wurde dasselbe Rind subkutan an der linken Halsseite infiziert mit zwei halben Milzen zweier tuberkulöser Meerschweinchchen (Rindertuberkulose) (vergl. Rd. 38). Es entwickelte sich eine anfangs derbe, später fluktuierende Anschwellung

an der Impfstelle, welche am 9. Nov. 1905 gespalten wurde. Ein mit einer linsengroßen Menge Absceßinhalt subkutan infiziertes Meerschweinchen starb 54 Tage nach der Infektion an generalisierter Tuberkulose. Am 29. Nov. 1905 wurde das Rind in schwerkrankem Zustande getötet. Der Absceß war noch offen. Die Sektion ergab generalisierte Tuberkulose.

Um den Erfolg dieser verstärkten natürlichen Infektion bei den Versuchsrindern zu kontrollieren, wurden auch bei den Versuchstieren der Gruppe II in geeigneten Zwischenräumen Tuberkulinproben (im ganzen 3mal) vorgenommen.

Die erste Tuberkulinprobe fand am 7. Juli 1905 statt (0,5 Tuberkulin).

Rd. 33 reagierte typisch (38,7—40,2° C).

Rd. 17 und 20 zeigten ebenfalls eine wenn auch weniger deutliche positive Reaktion (38,9—39,8° C bzw. 38,8—39,8° C).

Rd. 31 reagierte nicht (38,4—38,8° C).

Die zweite Tuberkulinprobe fand am 8. Sept. 1905 statt:

Rd. 33 reagierte wiederum typisch (39,3—40,2° C).

Rd. 17, Rd. 20, Rd. 31 reagierten nicht (39,4—39,5° C, bzw. 39,1—39,3° C, bzw. 39,5—39,5° C).

Die dritte Tuberkulinprobe fand am 11. Nov. 1905 statt:

Rd. 31 und Rd. 33 reagierten positiv (39,1—40,3° C bzw. 38,7—41,5° C).

Rd. 17 und Rd. 20 reagierten nicht (38,9—38,9° C bzw. 38,5—38,9° C).

Krankheitserscheinungen wurden während der Beobachtungszeit bei keinem Versuchstiere festgestellt. Die Gewichtszunahme entsprach der Fütterung. Am 20. Sept. 1905 wog Rd. 17: 376 kg, Rd. 20: 337 kg, Rd. 31: 399 kg, Rd. 33: 310 kg. Am 21. Nov. 1905 wurden alle 4 Versuchsrinder wie die der Gruppe I zur bequemeren Ueberwinterung nach Rittergut Mühlbach übergeführt.

Als Ergebnis dieses ersten verstärkten natürlichen Infektionsversuches läßt sich somit die Tatsache verzeichnen, daß die drei nicht immunisierten, bei Beginn des Versuches auf Tuberkulin nicht reagierenden Rinder am Ende des Versuchs eine typische Tuberkulinreaktion zeigten, während die 4 unter den gleichen Bedingungen gehaltenen immunisierten Rinder auf die gleiche Tuberkulindosis nicht reagierten.

## II. Infektionsversuch.

Am 31. März 1906 wurden sämtliche Versuchstiere von Mühlbach wieder in das Veterinärinstitut übergeführt. Die sofort nach der Ankunft vorgenommene genaue klinische Untersuchung ergab nichts Besonderes. Rd. 17 wog 439 kg, Rd. 18: 433 kg, Rd. 20: 429 kg, Rd. 23: 456 kg; Rd. 31: 501 kg, Rd. 32: 392 kg, Rd. 33: 432 kg.

Bei der am 7. April 1906 vorgenommenen Tuberkulinprobe reagierte nur noch Rd. 31 (38,9—41,2° C) und das Infektionsrind 30. Bei allen übrigen Rindern fiel die Tuberkulinprobe negativ aus. Die Verteilung der Rinder auf die beiden Versuchsstallungen war die gleiche wie beim ersten Versuch.

Wir betrachten zunächst wieder das Verhalten der Versuchsrinder der Gruppe I (immunisierte Rinder 18 und 23, nicht immunisiertes Kontrollrind 32).

Als Infektionsrind für diese Gruppe diente wiederum Rd. 30, welches wie beim ersten Versuche abwechselnd an der rechten und

linken Halsseite subkutan mit frischem Perlsuchtmaterial vom Rinde oder mit Organen tuberkulöser Meerschweinchen (Rindertuberkulose) infiziert wurde. Bei dem durch die früheren Infektionen wie durch Schutzimpfung gegen schwere Allgemeininfektionen geschützten Rinde entwickelten sich die Abscesse stets sicher in 3—4 Wochen und blieben lange genug offen, um eine ergiebige Ausstreuung des infektiösen Materials zu bewirken. Tuberkelbacillen wurden im Ausfluß der Abscesse stets zahlreich nachgewiesen. So oft sich ein tuberkulöser Absceß öffnete, wurden die Versuchstiere meist in 3—4-tägigen Zwischenräumen umgestellt, so daß wiederum alle Tiere der Reihe nach annähernd die gleiche Zeit hindurch der Infektion ausgesetzt waren. Auch sonst wurde genau wie beim ersten Infektionsversuch verfahren.

Folgende 6 Infektionen wurden bei Rd. 30 ausgeführt:

1) Am 17. April 1906 an der rechten Halsseite mit 10 ccm einer Emulsion, bestehend aus 2 Milzen tuberkulöser Meerschweinchen und 30 ccm Bouillon; Aufbrechen des tuberkulösen Abscesses am 15. Mai 1906; Abheilung Ende Mai.

2) Am 7. Mai 1906 an der linken Halsseite mit einer Emulsion, bestehend aus 3 g Perlknoten von einem Schlachtrinde und 20 ccm Bouillon; 19. Juni 1906 Absceß gespalten, Mitte Juli geschlossen.

3) Am 10. Juli 1906 an der linken Halsseite weiter oben mit 2 g Perlknoten, verrieben mit 20 ccm Bouillon. Absceß öffnet sich am 28. Juli 1906; Ende August geschlossen.

4) Am 23. Aug. 1906 an der rechten Halsseite mit 2 g Perlknoten, verrieben mit 20 ccm Bouillon; Absceß gespalten am 14. Sept. 1906; Anfang Oktober geschlossen.

5) Am 6. Okt. 1906 an der rechten und linken Halsseite mit je 5 g Perlknoten, verrieben mit je 50 ccm Bouillon. Absceß rechts öffnet sich am 27. Okt. 1906, links am 1. Nov. 1906; Mitte Nov. rechter Absceß geschlossen, linker beinahe geheilt.

6) Am 19. Nov. 1906 an der rechten und linken Halsseite subkutan infiziert mit je 3 g Perlknoten, verrieben mit je 25 ccm Bouillon. Es kamen keine Abszesse mehr zur Entwicklung.

Um über den Erfolg der Infektion ein Urteil zu gewinnen, wurden auch dieses Mal in geeigneten Zwischenräumen Tuberkulinproben (2mal) bei sämtlichen Versuchstieren ausgeführt.

Die erste Tuberkulinprobe (0,5 Tuberkulin) fand am 2. Aug. 1906 statt:

Rd. 32 reagierte positiv, wenn auch nicht so typisch wie die früheren Male (38,8—39,8° C).

Rd. 18 und Rd. 23 reagierten nicht (38,5—39,3° C bzw. 39,4—39,2° C).

Die zweite Tuberkulinprobe (0,5 Tuberkulin) fand am 23. Nov. 1906 statt:

Rd. 32 reagierte positiv (38,8—40,2° C).

Rd. 18 und Rd. 23 reagierten nicht (38,6—39,0° C bzw. 38,9—38,9° C).

Krankheitserscheinungen wurden auch während dieser 7½-monatigen Beobachtungszeit bei den Versuchstieren nicht festgestellt. Rd. 32 kalbte am 6. Okt. 1906, Rd. 23 am 9. Nov. 1906. Die Gewichtszunahme entsprach der Fütterung. Am 15. Nov. 1906 wog Rd. 18: 463 kg, Rd. 23: 487 kg, Rd. 32: 416 kg.

Betrachten wir nunmehr das Verhalten der Rinder der Gruppe II (immunisierte Rinder 17 und 20, nicht immunisierte Rinder 31 und 33).

Als Infektionstiere dienten 5 nacheinander auf dem Schlachthofe in Leipzig gekaufte, 3—4 Monate alte Rinder, welche in gleicher Weise wie bei dem ersten Infektionsversuche teils an der rechten, teils an der linken Halsseite mit vom Rinde stammendem tuberkulösen Materiale subkutan infiziert und mitten zwischen die Versuchstiere ge-

stellt wurden. Jedesmal wenn sich ein tuberkulöser Absceß öffnete, fanden, meist in 3—4-tägigen Zwischenräumen, Umstellungen der Versuchstiere statt derart, daß allen Tieren nach und nach in annähernd gleicher Weise Gelegenheit zur Aufnahme virulenten Materials geboten wurde. 3 Infektionstiere verendeten während des Versuchs. Auch sonst entsprach die Versuchsanordnung völlig der des ersten Infektionsversuches.

Folgende 5 Rinder dienten nacheinander als Infektionstiere:

1) Rd. 45, weiblich, ca. 3 Monate alt, am 17. April 1906 an der rechten Halsseite subkutan infiziert mit 10 ccm einer Emulsion, bestehend aus den Milzen zweier tuberkulöser Meerschweinchen (Rindertuberkulose) und 30 ccm Bouillon. Es entwickelte sich eine faustgroße Anschwellung an der Impfstelle; Fiebererscheinungen, Husten. Unter zunehmender Schwäche und Atemnot verendete das Tier am 28. Mai 1906 (41 Tage nach der Infektion). Die Sektion ergab akute Miliartuberkulose der Lungen.

2) Rd. 46, weiblich, ca. 3 Monate alt, am 17. April 1906 an der rechten Halsseite subkutan infiziert mit 10 ccm der bei Rd. 45 verwendeten Emulsion. Es entwickelte sich eine handtellergröße flache Anschwellung an der Impfstelle. Am 7. Mai 1906 an der linken Halsseite subkutan infiziert mit 2 g Perlknoten von einem Schlachtrinde, verrieben mit 15 ccm Bouillon. An der Impfstelle entwickelte sich ein doppelfaustgroßer tuberkulöser Absceß, welcher am 19. Juni 1906 gespalten wurde; Abheilung Mitte Juli. Am 10. Juli 1906 an rechter Halsseite subkutan infiziert mit 2 g Perlknoten von einem Schlachtrinde, verrieben mit 20 ccm Bouillon. Es entwickelte sich ein über faustgroßer tuberkulöser Absceß an der Impfstelle, der am 5. Aug. 1906 gespalten wurde; Abheilung Mitte August. Am 27. August 1906 an linker Halsseite subkutan infiziert mit 2 g Perlknoten von einem Schlachtrinde, verrieben mit 15 ccm Bouillon. Der sich an der Impfstelle entwickelnde über faustgroße tuberkulöse Absceß wurde am 15. Sept. 1906 gespalten; Abheilung Anfang Oktober. Am 5. Okt. 1906 an rechter und linker Halsseite subkutan infiziert mit je 3 g Perlknoten von einem Schlachtrinde, verrieben mit 30 ccm Bouillon. An der rechten Halsseite entwickelte sich ein über faustgroßer tuberkulöser Absceß, der am 27. Okt. 1906 von selbst aufbrach; Abheilung Mitte November. Auch an der linken Halsseite bildete sich allmählich ein faustgroßer Absceß aus, der am 24. Nov. 1906 gespalten wurde; Abheilung Mitte Dezember. Das Rind findet noch als Infektionstier beim dritten Infektionsversuch Verwendung.

3) Rd. 47, weiblich, ca. 3 Monate alt, am 1. Juni 1906 an der linken Halsseite subkutan infiziert mit einer Emulsion, bestehend aus Milz, einer halben Lunge und den Kniefaltenlymphdrüsen eines tuberkulösen Meerschweinchens (Rindertuberkulose) und 20 ccm Bouillon. An der Impfstelle entwickelte sich ein doppelfaustgroßer tuberkulöser Absceß, welcher am 19. Juni 1906 gespalten wurde; Abheilung Anfang Juli. Am 10. Juli 1906 an der rechten Halsseite subkutan infiziert mit 2 g Perlknoten von einem Schlachtrinde, verrieben mit 20 ccm Bouillon. An der Impfstelle entwickelte sich ein überfaustgroßer tuberkulöser Absceß; Fiebererscheinungen, Husten; am 5. Aug. 1906 wurde der Absceß gespalten. Unter zunehmender Atemnot verendete das Tier am 13. Aug. 1906. Die Sektion ergab generalisierte Tuberkulose.

4) Rd. 51, weiblich, ca. 3 Monate alt, am 27. Aug. 1906 an der linken Halsseite subkutan infiziert mit 2 g Perlknoten von einem Schlachtrinde, verrieben mit 15 ccm Bouillon. Der sich entwickelnde doppelfaustgroße tuberkulöse Absceß wurde am 15. Sept. 1906 gespalten; Fiebererscheinungen, Husten. Am 14. Okt. 1906 verendete das Rind unter zunehmender Atemnot und Herzschwäche. Die Sektion ergab akute Miliartuberkulose der Lungen.

5) Rd. 52, weiblich, ca. 3 Monate alt, am 15. Okt. 1906 an der rechten und linken Halsseite subkutan infiziert mit je 1 g Perlknoten vom Schlachtrind, verrieben mit 10 ccm Bouillon. Es entwickelte sich jederseits am Halse eine flache nicht fluktuierende Anschwellung, welche sich allmählich wieder zurückbildete. Am 5. Nov. 1906 wiederum beiderseits am Halse subkutan infiziert mit je 2 g Perlknoten von einem Schlachtrinde, verrieben mit je 20 ccm Bouillon. Es entwickelte sich an jeder Halsseite ein über faustgroßer tuberkulöser Absceß, die beide am 24. Nov. gespalten wurden; Abheilung Mitte Dezember.

Um den Erfolg der Infektion zu kontrollieren, wurden auch bei den Versuchstieren der Gruppe II in geeigneten Zwischenräumen Tuberkulinproben (im ganzen 2mal) vorgenommen.

Die erste Tuberkulinprobe (0,5 ccm Tuberkulin) fand am 2. Aug. 1906 statt:

Rd. 31 und Rd. 33 reagierten positiv, wenn auch nicht so typisch wie früher (39,3—39,9° C bzw. 38,7—39,9° C).

Rd. 17 und Rd. 20 reagierten nicht (39,1—39,0° C bzw. 39,0—39,3° C).

Die zweite Tuberkulinprobe (0,5 ccm Tuberkulin) fand am 23. Nov. 1906 statt:

Rd. 33 reagierte positiv (38,8—39,9° C).

Rd. 20 reagierte zweifelhaft (38,9—39,7° C).

Rd. 17 und Rd. 31 reagierten nicht (39,1—38,9° C bzw. 38,7—38,9° C).

Krankheitserscheinungen wurden während dieser 7 $\frac{1}{2}$ -monatigen Beobachtungszeit bei den Versuchstieren nicht festgestellt. Rd. 33 kalbte am 22. Okt. 1906, Rd. 20 am 26. Nov. 1906. Die Gewichtszunahme entsprach der Fütterung. Am 15. Nov. 1906 wog Rd. 17: 507 kg, Rd. 20: 467 kg, Rd. 31: 547 kg, Rd. 33: 429 kg.

Das Ergebnis dieses zweiten verstärkten natürlichen Infektionsversuches entsprach somit nicht ganz den gehegten Erwartungen, indem von den 3 nicht immunisierten Rindern am Ende des Versuchs nur 2 eine positive Reaktion zeigten, während von den 4 immunisierten Rindern 3 negativ und 1 zweifelhaft reagierte. Es wurde daher beschlossen, sofort noch einen dritten Infektionsversuch anzuschließen.

### III. Infektionsversuch.

Dieser Versuch dauerte von Mitte Dezember 1906 bis Ende Februar 1907. Er wurde in der Weise durchgeführt, daß nunmehr alle 7 Versuchstiere (Rd. 17, 18, 20, 23, 31, 32, 33) mit ihren 4 Kälbern unangebunden in den größeren der beiden zur Verfügung stehenden Versuchsställe nach Entfernung aller beweglichen Gegenstände eingestellt und zusammen mit 3 Infektionstieren sich selbst überlassen wurden. Die Tiere waren anfangs sehr unruhig und demolierten, was nicht absolut niet- und nagelfest war. Allmählich beruhigten sie sich jedoch. Die Luft war stets sehr warm, feucht und kohlenstoffreich. Der Stall mußte nach Beendigung des Versuchs völlig neu vorgerichtet werden, so sehr war alles durch den hohen Feuchtigkeits- und Ammoniakgehalt der Luft verquollen und angegriffen. Wir hofften aber, auf diese Weise die eventuell vorhandenen tuberkulösen Herde zur schnelleren Entwicklung zu bringen und auch im übrigen die gleichen günstigen Infektionsbedingungen für das Tuberkulosevirus zu schaffen, wie sie in dicht besetzten, schlecht ventilierten Viehstallungen bestehen.

Als Infektionstiere dienten zu gleicher Zeit 3 Rinder:

1) Rd. 30, welches für die Tiere der Gruppe I beim ersten und zweiten Infektionsversuch bereits als Infektionstier gedient hatte. Es wurde am 15. Dez. 1906 an der linken und rechten Halsseite subkutan infiziert mit je 5 g tuberkulösen Materials vom Uterus einer Kuh, verrieben mit je 50 ccm Bouillon. Es entwickelte sich jederseits ein kindskopfgroßer tuberkulöser Absceß. Beide Abscesse wurden am 20. Jan. 1907 gespalten; Abheilung Mitte Februar.

2) Rd. 46, welches für die Tiere der Gruppe II beim 2. Infektionsversuch bereits als Infektionstier gedient hatte. Es wurde am 15. Dez. 1906 an der linken und rechten Halsseite subkutan infiziert mit je 2 g des auch bei Rd. 30 verwendeten tuberkulösen Materials aus dem Uterus einer Kuh, verrieben mit je 20 ccm Bouillon. Es entwickelte sich jederseits ein über faustgroßer tuberkulöser Absceß; Fiebererscheinungen, Husten. Der Absceß rechts brach am 2. Jan. 1907 von selbst auf, der linksseitige

wurde am gleichen Tage gespalten. Am 5. Jan. 1907 wurde Rd. 46 in schwerkrankem Zustande getötet. Die Sektion ergab generalisierte Tuberkulose.

3) Rd. 52, welches für die Tiere der Gruppe II beim 2. Infektionsversuche bereits als Infektionstier gedient hatte. Es wurde am 15. Dez. 1906 in gleicher Weise wie Rd. 46 an der rechten und linken Halsseite subkutan infiziert. Es entwickelten sich starke Anschwellungen an den Impfstellen; Fiebererscheinungen, Husten. Am 22. Dez. 1906 verendete Rd. 52 unter zunehmender Atemnot und Herzschwäche. Die Sektion ergab generalisierte Tuberkulose.

Am 19. Febr. 1907 wurden sämtliche Versuchstiere einer Tuberkulinprobe (0,5 ccm Tuberkulin) unterworfen.

Rd. 17 und Rd. 31 reagierten positiv (38,8—40,4° C, bzw. 38,7 bis 40,3° C).

Rd. 18, Rd. 20, Rd. 23, Rd. 32, Rd. 33 reagierten nicht: (38,6 bis 39,2° C, 38,4—39,4° C, 38,7—39,5° C, 39,0—39,3° C, 38,9—39,4° C).

Von den 4 Kälbern, von denen vor Einstellung in den gemeinsamen Stall keines reagiert hatte, reagierte eins (das Kalb von Rd. 32).

Krankheitserscheinungen wurden bei keinem der 7 Versuchsrinder festgestellt. Die Gewichtszunahme entsprach der Fütterung. Am 10. Febr. 1907 wog Rd. 17: 531 kg, Rd. 18: 489 kg, Rd. 20: 471 kg, Rd. 23: 507 kg, Rd. 31: 561 kg, Rd. 32: 432 kg, Rd. 33: 440 kg.

Zur endgültigen Feststellung des Versuchsergebnisses wurde die Schlachtung sämtlicher Versuchstiere einschließlich des Infektionstieres Rd. 30 und der 4 Kälber beschlossen.

#### Die Schlachtung der Versuchstiere.

Die Schlachtung der 4 immunisierten und 3 nichtimmunisierten Versuchsrinder sowie des Infektionstieres (Rd. 30) wurde mit Genehmigung des Herrn Direktor Hengst im Polizeischlachthause des Leipziger Schlachthofes und zwar in 2 Abteilungen vorgenommen. Die Schlachttiere blieben bis nach Beendigung der in der sorgfältigsten Weise durch die Herrn Amtstierärzte Dr. Käppel und Dr. Schmidtchen in Gegenwart des Institutsassistenten Dr. Fischer und des Berichtstatters ausgeführten Untersuchung aller Organe sowie sämtlicher Organ- und Körperlymphdrüsen Eigentum des Instituts.

Zuerst wurden die 3 nicht immunisierten Kontrollrinder (Rd. 31, 32, 33) und das Infektionstier (Rd. 30) geschlachtet und in der angegebenen Weise untersucht (22. Febr. 1907). Das Ergebnis war folgendes:

Rd. 31: Umschriebene tuberkulöse Hyperplasie einer Mesenteriallymphdrüse mit Verkäsung und beginnender Verkalkung (1 walnußgroßer, 1 haselnußgroßer und 2 linsengroße käsige Herde mit spärlichen Kalk-einlagerungen in einer Mesenteriallymphdrüse; Fleisch als bankwürdig verkauft). Im Abstrich der käsigen Herde sind spärliche Tuberkelbacillen durch Färbung nachweisbar. Von 4 mit ca. linsengroßer Käsemasse subkutan geimpften Meerschweinchen starben zwei 28 bzw. 31 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose, zwei wurden 28 Tage nach der Infektion getötet und ebenfalls mit generalisierter Tuberkulose behaftet gefunden.

Rd. 32: Lobuläre, käsige, tuberkulöse Bronchopneumonie, tuberkulöse Hyperplasie der bronchialen Lymphdrüsen mit beginnender Verkäsung; tuberkulöse Hyperplasie einer Portallymphdrüse mit kleinsten Verkäsungsherden (klein-walnußgroßer derber Knoten in der rechten Lunge, bestehend aus einem graurötlichen feuchten Grundgewebe mit zahlreichen käsigen Einsprengungen von Hirsekorn- bis Linsengröße und einem

Käseherd von Bohnengröße; fünf linsengroße, gelbweiße Einsprengungen in den etwas geschwollenen Bronchiallymphdrüsen ohne Verkalkung; ca. fünf hirsekorn- bis linsengroße opake Einsprengungen in einer Portallymphdrüse; Fleisch als bankwürdig verkauft). Im Abstrich sämtlicher käsiger Herde sind spärliche Tuberkelbacillen durch Färbung nachweisbar. Zwei mit ca. linsengroßem Stück von Lungenknoten subkutan infizierte Meerschweinchen starben 29 bzw. 34 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose; desgleichen zwei mit ca. linsengroßem Stück der Bronchiallymphdrüse subkutan geimpfte Meerschweinchen 22 bzw. 43 Tage nach der Infektion und zwei mit ca. linsengroßem Stück der Portallymphdrüse subkutan infizierte Meerschweinchen 33 bzw. 40 Tage nach der Infektion.

Rd. 33: Multiple, lobuläre, käsige, tuberkulöse Bronchopneumonie, tuberkulöse Hyperplasie der mediastinalen Lymphdrüsen mit Verkäsung und Verkalkung; tuberkulöse Hyperplasie einer Mesenteriallymphdrüse mit zahlreichen Verkäsungsherden (fünf erbsen- bis haselnußgroße Knoten in der Lunge verteilt, bestehend aus einem graurötlichen saftigen Grundgewebe mit zahlreichen gelben käsigen Einlagerungen; in der vergrößerten Mediastinaldrüse ein erbsengroßer verkalkter und ein linsengroßer nicht verkalkter Herd; in einer Mesenteriallymphdrüse ein walnußgroßer graugelber Knoten mit zahlreichen miliaren käsigen Einsprengungen; Fleisch als bankwürdig verkauft). Im Abstrich sämtlicher Käseherde Tuberkelbacillen sehr spärlich durch Färbung nachweisbar. Ein mit ca. linsengroßem Stück von einem Lungenknoten subkutan infiziertes Meerschweinchen zeigte bei der 28 Tage nach der Infektion erfolgten Tötung generalisierte, von der Impfstelle ausgehende Tuberkulose; desgleichen ein mit einem linsengroßen Stück der Mesenteriallymphdrüse subkutan infiziertes Meerschweinchen.

Rd. 30 (Infektionstier): An der linken Halsseite (Impfstelle) ein in der Abheilung begriffenes tuberkulöses Geschwür, in dessen weiterer Umgebung das Unterhautzellgewebe diffus verhärtet erscheint; an der rechten Halsseite (Impfstelle) etwa bohnen großer, gut abgekapselter, tuberkulöser Absceß, in dessen Umgebung das Unterhautzellgewebe in handteller großer Ausdehnung verhärtet ist und alte strangförmige Narben aufweist; diffuse, tuberkulöse Hyperplasie der beiderseitigen Buglymphdrüsen mit deutlichen Verkäsungsherden und beginnender Verkalkung. Die inneren Organe und sämtliche übrigen Körper- und Organlymphdrüsen erwiesen sich frei von tuberkulösen Veränderungen. Tuberkelbacillen im Abstrich der Buglymphdrüsen in spärlicher Menge durch Färbung nachweisbar. Ein mit linsengroßem Stück der Absceßwand subkutan infiziertes Meerschweinchen starb 33 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose.

Sodann wurden auch die 4 immunisierten Rinder (Rd. 17, 18, 20, 23) geschlachtet und in der angegebenen Weise untersucht (26. Febr. 1907). Das Ergebnis war folgendes:

Rd. 17: Lobuläre, käsige, tuberkulöse Bronchopneumonie der linken Lunge, ausgedehnte tuberkulöse Hyperplasie der beiderseitigen bronchialen und der mediastinalen Lymphdrüsen mit umfangreicher Verkäsung und Verkalkung (hühnereigroßer, derber Knoten in der linken Lunge, welcher sich auf dem Durchschnitt aus einem taubeneigroßen, zentralen und mehreren peripher gelegenen erbsen- bis haselnußgroßen Verkäsungsherden zusammengesetzt erweist; Mediastinaldrüsen stellen ein armstarkes

Tabellarische Uebersicht über die Versuchsergebnisse.

Lfd. No.	Versuchstier	Tuberkulinimpfung vor der Schutzimpfung	Erste Schutzimpfung (Alter der Impflinge)	Reaktionsgrad	Zweite Schutzimpfung	Alter und Gewicht bei Beginn d. Infektionversuchs	Tuberkulinimpfung vor d. Infektionsversuch	Spätere Tuberkulinprüfungen					Schlachtung (Alter und Gewicht)	Sektionsergebnisse
								I. Infektionsversuch	II. Infektionsversuch	III. Infektionsversuch	IV. Infektionsversuch	V. Infektionsversuch		
1	Rd. 17 männlich (kastriert) Angler Kreuzung	3. III. 1904 +	26. III. 1904 (3 M.)	0	VII. 16. 1904	1 J. 4 M. 280 kg	12. V. 1905	7. VII. 1905 8. IX. 1905 11. XI. 1905 7. IV. 1906	2. VIII. 1906	23. XI. 1906	29. II. 1907	+	26. II. 1907 3 J. 531 kg	Lunge: ein hühneregroßer, käsiger Knoten im linken Hauptlappen. Bronchiallymphdrüsen linksseitig fauststark, verkäst, mit Kalkeinlagerungen; rechtsseitig zwei erbsengroße Kalkeinlagerungen. Mediastinallymphdrüsen: ein 20 cm langes, armstarkes Konglomerat verkäster, z. T. verkalkter Knoten bildend. Meerschweinchenimpfung von allen Teilen positiv.
2	Rd. 18 männlich (kastriert) Voigtländer Kreuzung	3. III. 1904 —	26. III. 1904 (6 W.)	0	VII. 16. 1904	1 J. 3 M. 210 kg	12. V. 1905	7. VII. 1905 8. IX. 1905 11. XI. 1905 7. IV. 1906	2. VIII. 1906	23. XI. 1906	29. II. 1907	—	26. II. 1907 3 J. 489 kg	Lunge: ein hühneregroßer, käsiger Knoten im rechten Hauptlappen, z. T. eingekapselt. Drei erbsengroße und mehrere kleinere käsige Herde mit Kalkeinlagerungen in einer vergrößerten Bronchiallymphdrüse. Meerschweinchenimpfung von allen Teilen positiv.
3	Rd. 20 weiblich Oestfrieser	3. III. 1904 ÷	14. VI. 1904 (5 1/2 Mon.)	II	VII. 7. 1904	1 J. 4 M. 240 kg	12. V. 1905	7. VII. 1905 8. IX. 1905 11. XI. 1905 7. IV. 1906	2. VIII. 1906	23. XI. 1906	29. II. 1907	—	26. II. 1907 3 Jahr 471 kg	Lunge: frei von tuberkulösen Veränderungen. 2 M. Zahlreiche hirsekornt- bis linsengroße käsige Herde in einer walnußgroßen Bronchiallymphdrüse mit kleinsten Verkalkungsherden in der Peripherie. Ein linsengroßer Verkalkungsherd in einer Mediastinallymphdrüse. Meerschweinchenimpfung von allen Teilen positiv.



4	Rd. 23 weiblich Ostfriesen	÷	4. J. I 1904 (4 W.)	7. V. 1904	1 J. 5 M. 285 kg	12. V. 1905	—	—	—	—	—	—	—	26. II. 1907 3 J. 3 M. 507 kg	Lunge: frei von tuberkulösen Veränderungen. Hintere Mediastinallymphdrüse hüthnerig groß mit käsiger erweichtem Zentrum. Meerschweinchenimpfung positiv.
---	----------------------------------	---	---------------------------	---------------	---------------------	----------------	---	---	---	---	---	---	---	---	--

B. Nicht immunisierte Rinder (Kontrollrinder)

5	Rd. 31 männlich (kastriert) Voigtländer Kreuzung	÷	÷	÷	1 J. 3 M. 285 kg	5. V. 1905	—	—	—	—	—	—	—	22. II. 1907 3 J. 1 M. 561 kg	Lunge: frei von tuberkulösen Veränderungen. Ein walnußgroßer, ein haselnußgroßer und zwei linsengroße käsige Herde mit spärlichen Kalkeinlagerungen in einer Mesenteriallymphdrüse. Meerschweinchenimpfung positiv.
6	Rd. 32 weiblich Voigtländer Kreuzung	÷	÷	÷	1 J. 3 M. 260 kg	5. V. 1905	+	+	—	+	+	—	—	22. II. 1907 3 J. 1 M. 432 kg	Lunge: ein kleinwalnußgroßer käsiger Knoten. Fünf linsengroße käsige Herde in den etwas vergrößerten Bronchiallymphdrüsen. Fünf hirsekorn- bis linsengroße käsige Herde in den Portallymphdrüsen. Meerschweinchenimpfung von allen Teilen positiv.
7	Rd. 33 weiblich Voigtländer Kreuzung	÷	÷	÷	1 J. 2 M. 200 kg	5. V. 1905	+	+	—	+	+	—	—	22. II. 1907 3 J. 440 kg	Lunge: fünf erbsen- bis haselnußgroße käsige Knoten. Ein erbsengroßer verkalkter und ein linsengroßer käsiger Herd in den vergrößerten Mediastinallymphdrüsen. Ein walnußgroßer käsiger Knoten in einer Mesenteriallymphdrüse. Meerschweinchenimpfung von allen Teilen positiv.

20 cm langes Konglomerat verkäster Knoten mit erheblichen Kalkeinlagerungen dar; die linken Bronchialdrüsen bilden ein fauststarkes, käsige erweichtes Drüsenpaket mit zahlreichen Kalkeinlagerungen, die rechten Bronchialdrüsen enthalten zwei erbsengroße Kalkeinlagerungen; Fleisch als bankwürdig verkauft). Tuberkelbacillen sind im Abstrich der mediastinalen und bronchialen Lymphdrüsen in mäßiger Menge, im Abstrich des Lungenknotens nur vereinzelt durch Färbung nachweisbar. Zwei mit ca. linsengroßem Stück des Lungenknotens subkutan infizierte Meerschweine starben 37 bzw. 59 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose; desgleichen ein mit linsengroßem Stück von Mediastinaldrüse infiziertes Meerschweinchen 52 Tage nach der Infektion.

Rd. 18: Lobuläre, käsige, tuberkulöse Bronchopneumonie der rechten Lunge, tuberkulöse Hyperplasie der rechtseitigen bronchialen Lymphdrüsen mit Verkalkung (hühnereigroßes Konglomerat von erbsen- bis walnußgroßen Verkäsungsherden in der rechten Lunge, welches sich ziemlich scharf gegen die Umgebung absetzt und zum Teil von einer bis 2 mm starken grauen, bindegewebigen Kapsel eingeschlossen ist; rechte obere Bronchialdrüse walnußgroß mit drei erbsengroßen und mehreren kleineren in Verkalkung begriffenen Verkäsungsherden; Fleisch als bankwürdig verkauft). Tuberkelbacillen sind im Abstrich der Bronchialdrüse in mäßiger Anzahl, im Abstrich des Lungenknotens nur vereinzelt nachweisbar. Ein mit ca. linsengroßem Stück der Bronchialdrüse subkutan infiziertes Meerschweinchen starb 32 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose, desgleichen ein mit ca. linsengroßem Stück von Lungenknoten infiziertes 63 Tage nach der Infektion.

Rd. 20: Tuberkulöse Hyperplasie der rechten oberen Bronchiallymphdrüse und einer Mediastinallymphdrüse mit kleinen Verkäsungs- und Verkalkungsherden (rechte obere Bronchiallymphdrüse walnußgroß mit zahlreichen hirsekorn- bis linsengroßen, graugelben, käsigen Knötchen, in der Peripherie kleinste Kalkeinlagerungen; ein linsengroßer Verkalkungsherd in einer Mediastinallymphdrüse; Fleisch als bankwürdig verkauft). Im Abstrich von der verkästen Bronchiallymphdrüse sind Tuberkelbacillen reichlich durch Färbung nachweisbar, im Abstrich von dem verkästen Herde der Mediastinaldrüse nur spärlich. Zwei mit linsengroßem Stück der bronchialen bzw. mediastinalen Lymphdrüse subkutan infizierte Meerschweinchen starben 54 bzw. 49 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose.

Rd. 23: Tuberkulöse Hyperplasie der hinteren mediastinalen Lymphdrüse mit Verkäsung (hintere Mediastinaldrüse hühnereigroß mit käsige erweichtem Zentrum, keine Verkalkung nachweisbar; Fleisch als bankwürdig verkauft). Tuberkelbacillen sind im käsige erweichten Material der Mediastinaldrüse vereinzelt durch Färbung nachweisbar. Ein mit ca. linsengroßer Masse des käsigen Materials subkutan infiziertes Meerschweinchen starb 31 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose.

Am 14. März 1907 wurden auch noch die 4 Kälber geschlachtet, welche im Laufe des 2. Infektionsversuches geboren waren und gewissermaßen als Kontrolltiere für die Infektionsgefahr während des 3. Infektionsversuches angesehen werden können. Sie erwiesen sich sämtlich frei von tuberkulösen Herderkrankungen.

### **Was lehrt nun dieser nach Möglichkeit im Rahmen der natürlichen Verhältnisse gehaltene Infektionsversuch?**

Wie die Schlachtung der drei nicht immunisierten Kontrollrinder und die Schlachtung der 4 Kälber aus dem letzten Infektionsversuche ergeben hat, war die Gelegenheit zur Ansteckung trotz des großen Aufwandes an Infektionstieren nur eine verhältnismäßig geringe; denn wie aus der auf p. 16 u. 17 gegebenen tabellarischen Zusammenstellung der Versuchsergebnisse hervorgeht, war es nur in 2 Fällen (Rd. 32 und Rd. 33) zur Entwicklung käsig-pneumonischer Lungenherde von wenig erheblicher Ausdehnung bei den Kontrolltieren gekommen, während sich im 3. Falle (Rd. 31) nur in einer Mesenterialdrüse tuberkulöse Herderkrankungen von Walnuß- bzw. Haselnußgröße ausgebildet hatten. Das Fehlen tuberkulöser Herderkrankungen bei den 4 Kälbern läßt weiterhin den Schluß zu, daß auch die beim 3. Infektionsversuch gewählte Versuchsanordnung die Ansteckungsgefahr für die Versuchstiere nicht sonderlich erhöht hat. Es lehren obige Versuche aufs neue, wie schwierig es ist, die vielgestaltigen Verhältnisse der Praxis in einem Versuche künstlich nachzuahmen, zumal wir gegenwärtig noch gar nicht einmal in der Lage sind, alle für die natürliche Infektion in Betracht kommenden Faktoren zu übersehen und ihrer Bedeutung nach richtig einzuschätzen.

Um so mehr muß es überraschen, daß auch die immunisierten Rinder sämtlich tuberkulöse Herderkrankungen und zwar durchweg von etwas größerem Umfange als die nicht immunisierten erworben haben. Am relativ unbedeutendsten erscheinen noch die tuberkulösen Veränderungen bei Rd. 23 und Rd. 20, die sich auf die mediastinalen bzw. bronchialen und mediastinalen Lymphdrüsen beschränken, während bei Rd. 18 neben einer an sich nicht erheblichen Bronchialdrüsentuberkulose ein hühnereigroßer, käsig-pneumonischer Lungenherd und bei Rd. 17 neben einem eben solchen Lungenherde eine armstarke tuberkulöse Hyperplasie der Mediastinaldrüsen zugegen war.

Von Interesse ist hierbei weiterhin die Feststellung, daß gerade dasjenige Versuchsrind (Rd. 20), bei welchem die Immunisierung nach der von v. Behring gegenwärtig vertretenen Auffassung nicht ganz einwandfrei (vergl. die Ausführungen auf p. 5) durchgeführt wurde, noch relativ am besten abgeschnitten hat, während ein anderes (Rd. 18), welches nicht nur vorschriftsmäßig in sehr jungem Alter immunisiert war, sondern dessen Tuberkulosefreiheit auch noch durch eine Tuberkulinprobe vor der Schutzimpfung ausdrücklich festgestellt worden war, eine weit umfangreichere tuberkulöse Erkrankung erworben hatte (vergl. die tabellarische Uebersicht).

Am umfangreichsten erwiesen sich die bei Rd. 17 ermittelten tuberkulösen Veränderungen. Wenn es auch schwer sein dürfte, den Anteil nachträglich noch zu bestimmen, welchen die bereits vor Ausführung der Schutzimpfung durch die positiv ausgefallene Tuberkulinprobe angezeigte tuberkulöse Herderkrankung an diesen Veränderungen trägt, so beweist der Ausgang des Versuchs doch andererseits, daß von einer günstigen Einwirkung der Schutzimpfung auf den schon vorhandenen tuberkulösen Herd nicht die Rede sein kann.

Dagegen ist die Annahme nicht ganz von der Hand zu weisen, daß bei den immunisierten Tieren wenigstens zur Zeit des 1. Infektionsver-

suches (Frühjahr bis Herbst 1905) noch ein gewisser erhöhter Schutz gegenüber der natürlichen Ansteckung bestanden hat. Hierfür spricht in erster Linie der Ausfall der am Ende des 1. Infektionsversuches zur Ausführung gelangten Tuberkulinprobe (s. die tabellarische Uebersicht). Weniger beweisend ist das Fehlen älterer tuberkulöser Herde wenigstens bei den Rindern 18, 20 und 23, da auch bei den nichtimmunisierten Rindern keine Veränderungen gefunden wurden, die mit Sicherheit auf den 1. Infektionsversuch zurückgeführt werden könnten. Mag es daher auch unentschieden bleiben, ob bei Schlachtung der Versuchstiere unmittelbar nach Abschluß des 1. Infektionsversuches ein für die Beurteilung der Schutzimpfung günstigeres Ergebnis erzielt wäre, darüber kann kein Zweifel sein, daß nach Abschluß des ganzen durch zwei Jahre fortgesetzten Versuches eine erhöhte Widerstandsfähigkeit der immunisierten Tiere, wie überhaupt ein merkbarer Unterschied in dem Verhalten der immunisierten und nichtimmunisierten Rinder gegenüber einer keineswegs besonders hochgradigen natürlichen Tuberkuloseansteckung nicht zu konstatieren war.

Von besonderem Interesse ist endlich noch das Verhalten des Infektionstieres (Rd. 30), welches trotz 12maliger subkutaner Infektion mit virulentem vom Rinde stammenden tuberkulösen Materiale bei der Schlachtung lediglich lokale Veränderungen an den Impfstellen und den benachbarten Lymphdrüsen aufwies, ein weiteres Beispiel dafür, daß Rinder auch durch Vorbehandlung mit vom Rinde stammendem schwachvirulenten tuberkulösen Materiale eine erhöhte Widerstandskraft gegenüber späteren künstlichen Infektionen mit hochvirulentem Materiale erwerben können.

## II.

### Wie bewährt sich das Schutzimpfungsverfahren bei der praktischen Bekämpfung der Rindertuberkulose?

Bereits in der Einleitung habe ich darauf hingewiesen, daß es im gegenwärtigen Augenblicke bei der Kürze der seit Einführung des v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfungsverfahrens in die Praxis verflossenen Zeit noch nicht möglich ist, ein abschließendes Urteil über den Wert des Verfahrens für die praktische Bekämpfung der Rindertuberkulose abzugeben. Wenn ich es trotzdem unternehme, im Anschluß an den im ersten Teile näher beschriebenen verstärkten natürlichen Infektionsversuch auch über unsere in der Praxis mit dem obigen Verfahren gesammelten Erfahrungen zu berichten, so geschieht es, weil auch hier ein auffallendes Mißverhältnis zwischen den erwarteten und den tatsächlich festzustellenden Erfolgen schon jetzt hervorgetreten ist.

Wir haben Anfang Januar 1904 mit den Tuberkuloseschutzimpfungen in der Praxis begonnen. Die Impfungen waren für die Tierbesitzer völlig kostenlos. Als einzige Gegenleistung verlangten wir die vorgeschriebenen Temperaturmessungen 2 Tage vor und 5 Tage nach der Schutzimpfung, regelmäßige Wägung der Impflinge, wenn möglich in 14-tägigen Zwischenräumen, und umgehende Benachrichtigung, wenn eines der geimpften Tiere verendete oder zur Schlachtung kam. Die Kontrolle der Sektionen bezw. Schlachtungen war ebenfalls für die Besitzer kostenfrei.

Wir begannen unsere Versuche auf zwei größeren Zuchtwirtschaften

in der Altmark und dehnten sie allmählich auf insgesamt 8 Güter aus, von denen die Mehrzahl im Königreich Sachsen (Kreishauptmannschaft Leipzig) gelegen ist. Es kam uns bei der Auswahl der Güter besonders darauf an, verschiedene wirtschaftliche Verhältnisse zu berücksichtigen. Es finden sich daher unter den Versuchsgütern neben reinen Zucht-wirtschaften auch Wirtschaften mit nur teilweiser eigener Nachzucht und unter diesen wieder solche mit und ohne Weidebetrieb bzw. Jungviehweiden. Auch haben wir nach Möglichkeit solche Güter bevorzugt, bei denen wir der verständnisvollen Mitarbeit der Besitzer oder ihrer Stellvertreter von vornherein sicher sein konnten. Es sind daher die nachstehenden Versuche überwiegend unter Verhältnissen durchgeführt, wie man sie bei einer allgemeinen Einführung der Schutzimpfung tatsächlich nur in Ausnahmefällen antrifft. Der Wert unserer praktischen Schutzimpfungen liegt daher auch weniger in der Zahl der Einzelimpfungen, als vielmehr in der sorgfältigen Ueberwachung der Impflinge, in den wiederholt zur Ausführung gelangten Tuberkulinnachprüfungen und in der gewissenhaften Kontrolle des Sektionsbefundes bei Schlachtungen und Todesfällen.

Was nun des weiteren die Ausführung der Schutzimpfung selbst anbetrifft, so bedarf es wohl kaum eines besonderen Hinweises, daß dieselbe stets auf das genaueste nach der von v. Behring selbst erteilten Anweisung erfolgte.

Der Impfstoff wurde in allen Fällen frisch vom Behringwerk-Marburg a. L. bezogen. Anfangs haben wir unter Benutzung des für diese Fälle sehr praktischen, aber nicht unbedingt erforderlichen Marburger Instrumentenkastens die Verreibung des Impfstoffes am Orte der Verwendung vorgenommen. Nachdem wir uns aber wiederholt mit Hilfe des Plattenkulturverfahrens überzeugt hatten, daß der unter aseptischen Kautelen im Laboratorium gebrauchsfertig gemachte Impfstoff sich mindestens 24 Stunden fast absolut keimfrei erhält, haben wir den Impfstoff stets in gebrauchsfertigem Zustande vom Institut mitgenommen. Das mitzuführende Instrumentarium wurde dadurch nicht unwesentlich vereinfacht und das Verfahren an Ort und Stelle in wünschenswerter Weise abgekürzt. Zur Erlangung einer möglichst gleichmäßigen Emulsion haben wir den vorschriftsmäßig verriebenen und mit 1-proz. Kochsalzlösung versetzten Impfstoff noch 15—30 Minuten unter entsprechenden Kautelen in einen Schüttelapparat gestellt. In jedem Falle wurde der Impfstoff noch am Tage der Verarbeitung verbraucht.

Zur Einspritzung bedienen wir uns in der Regel der dem Marburger Impfkasten beigegebenen Asbeststempelspritze. Die schon vorher mit Lysol gründlich gereinigte Spritze wird unmittelbar vor dem Gebrauch nochmals mit Alkohol gereinigt und durch wiederholtes Ausspritzen mit 1-proz. Kochsalzlösung von dem anhaltenden Spiritus befreit. Hierauf saugt man mit der mit Kanüle versehenen Spritze die für die erste Impfung erforderliche Menge aus der zuvor kräftig geschüttelten Vorratsflasche auf. Nach Abnahme der nur zur bequemeren Aufsaugung dienenden Kanüle empfiehlt es sich, die in der Spritze etwa vorhandenen Luftblasen durch vorsichtiges Nachschieben des Stempels zu entfernen, wobei man zweckmäßig einen kleinen Wattebausch gegen die Spitze der Spritze drückt, um etwaige ablaufende Flüssigkeit aufzufangen. Der infizierte Wattebausch wird in ein bereitstehendes Gefäß mit 2-proz. Lysollösung geworfen.

Die Einspritzung selbst nehmen wir jetzt stets, um unnötige Beunruhigungen zu vermeiden, am Standorte des Impflings vor. Zur Hilfeleistung sind 2 Personen nötig, eine, die den Kopf des zu impfenden Tieres gut gestreckt hält, und eine andere, welche sich hinter das Tier stellt und durch Umlegen eines Strickes um die untere Partie des Halses die Jugularvenen komprimiert, gleichzeitig aber auch ein Zurücktreten des Tieres sowie das seitliche Ausweichen zu verhindern sucht. Der Impfarzt fixiert nun, an der linken oder, wenn das bequemer erscheint, an der rechten Seite des Tieres stehend, mit dem Daumen der linken Hand die linke (bzw. rechte) Jugularis, nachdem er selbst oder eine dritte, sonst unbeteiligte Person (meistens der Besitzer oder Gutsinspektor) zuvor die betreffende Hautpartie mit einem in Lysolwasser eingetauchten Wattebausch angefeuchtet hat, und sticht die Kanüle dicht oberhalb des Daumens

schräg von unten nach oben in die Vene ein. Sobald ein gleichmäßig fließender Blutstrom anzeigt, daß die Kanüle sicher in der Vene steckt, wird die mit dem Impfstoff gefüllte Spritze fest auf die Kanüle aufgesetzt und der Stempel mit der rechten Hand kräftig vorgeschoben, während Kanüle und Spritze mit der linken Hand gehalten werden. Gleichzeitig läßt die Person, welche mittels des Strickes die Venen komprimiert hat, etwas nach, wodurch die gleichmäßige Entleerung der Spritze noch unterstützt wird. Nach vollständiger Entleerung der Spritze wird mit Daumen und Zeigefinger die Haut an der Einstichstelle fest auf ihre Unterlage gedrückt und die Kanüle samt Spritze wieder entfernt. Die Impfstelle wird zum Schluß nochmals mit einem in Lysolwasser getauchten Wattebausch abgetupft.

Um eine einigermaßen gleichmäßige Dosierung des Impfstoffes zu bewirken, darf immer nur eine einzelne Injektionsdosis der jedesmal sorgfältig umzuschüttelnden Vorratsflasche entnommen werden. Aus demselben Grunde empfiehlt es sich, die Spritze nach Füllung bis zum Gebrauch von einer zuverlässigen Person (Besitzer oder Gutsinspektor) mit der Spitze nach abwärts halten zu lassen und bei der Entleerung zum Schluß den Stempel noch etwas kräftiger zu bewegen. Man ist dann sicher, mit der Flüssigkeit auch zugleich die suspendierten Bacillen ziemlich vollständig aus der Spritze herauszubefördern.

Die Kanüle ist nach jedesmaligem Gebrauch durch Ausspritzen mit 1-proz. Kochsalzlösung von etwaigen Blutgerinnseln und von Impfstoffresten zu befreien. Für die Aufsaugung des Impfstoffes ist eine besondere Kanüle zu reservieren, die nicht zur Einspritzung in die Vene benutzt werden darf, da sonst mit dem ausfließenden Blutstrahle leicht tuberkulöses Material in den Stall verstreut werden könnte. In der kalten Jahreszeit wird der Impfstoff durch Einstellen der Vorratsflasche in Wasser von ca. 35° C etwas angewärmt.

Den Schluß des Impfstoffes bildet die Kennzeichnung der Tiere. Wir haben alle Markierungen der Reihe nach durchprobiert und sind zu der Ueberzeugung gelangt, daß keine der bisher angebotenen Ohrmarken eine sichere, über Jahr und Tag haltbare Kennzeichnung gewährleistet. Wir sind daher zu der zwar primitiven, aber zuverlässigen Kennzeichnung durch einfache Ohrkerben in bestimmter Anordnung zurückgekehrt. Natürlich wird stets noch das genaue Signalement sowie die Kennzeichnung, die der Besitzer für sich vornimmt, notiert, so daß wir auch in den Fällen, in denen die verloren gegangenen Ohrmarken nicht gleich wieder erneuert waren, die einzelnen Tiere sicher identifizieren konnten.

Die von den Besitzern in fast allen Fällen gewissenhaft aufgenommenen Temperaturen und alle sonstigen Beobachtungen über das weitere Verhalten der Impflinge, Gewichtszunahme etc. wurden im Institut nach der von v. Behring gegebenen Anleitung zu Kurventabellen und Sammellisten verarbeitet, die ein anschauliches Bild von dem Verhalten jedes einzelnen Impflings geben, zumal auch etwaige vor der Schutzimpfung oder später ausgeführte Tuberkulinproben stets mit eingezeichnet wurden.

Auf diese Unterlagen stützt sich die nachfolgende Uebersicht über unsere mit dem v. Behringschen Schutzimpfungsverfahren seit Anfang 1904 in der Praxis gesammelten Erfahrungen. Alle Einzelheiten, soweit sie als Unterlagen für die nachfolgenden Betrachtungen gedient haben, finden sich im Anhang (s. weiter unten) übersichtlich zusammengestellt. Dort sind auch die besonderen wirtschaftlichen Verhältnisse der Versuchsgüter und alle sonstigen für die Beurteilung der Sachlage wichtigen Daten mitgeteilt.

Wie schon erwähnt, kommen insgesamt 8 Güter in Betracht, auf denen während der 3 Berichtsjahre (1904—1906) Schutzimpfungen mit Bovovaccin vorgenommen wurden. 2 Güter (I und II), in der Altmark gelegen, sind reine Zuchtwirtschaften mit Weidegang für das gesamte Vieh; 3 Güter (III, VII, VIII) sind Milchwirtschaften mit eigener Nachzucht und Weidegang nur für das Jungvieh; 3 Güter (IV, V, VI) endlich sind Milchwirtschaften mit nur teilweiser Nachzucht und ohne jeden Weidegang.

Auf 7 Gütern war es möglich, die Tuberkuloseverseuchung

vor Beginn der Schutzimpfung durch die Tuberkulinprobe genau zahlenmäßig festzulegen.

Es reagierten auf Versuchsgut

IV	von 16	über 6	Monate	alten	Rindern	7 =	43,8	Proz.
II	"	25	"	6	"	"	15 =	60,0
I	"	42	"	6	"	"	26 =	61,9
III	"	49	"	6	"	"	36 =	73,5
V	"	37	"	6	"	"	36 =	97,3
VII	"	79	"	6	"	"	77 =	97,5
VI	"	47	"	6	"	"	47 =	100,0

Es entspricht dieses einer durchschnittlichen Verseuchung von 82,7 Proz. bei insgesamt 295 mit Tuberkulin geprüften, über 6 Monate alten Rindern. Im übrigen bestätigt diese Tabelle die bekannte Tatsache, daß die kleinsten Bestände (IV) und unter den größeren Beständen wiederum die Zuchtwirtschaften mit Weidegang für das gesamte Vieh (I und II) die kleinsten Tuberkuloseziffern aufweisen.

Auf einem Versuchsgute (VIII) konnten nur 24  $\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{4}$  Jahre alte Jungrinder geprüft werden. Von diesen reagierten 9 = 37,5 Proz.

Insgesamt wurden in dem angegebenen Zeitraume 213 Rinder mit Bovovaccin geimpft, und zwar fand die erste Schutzimpfung statt:

	bei 40	Tieren	im	Alter	bis	zu	1	Monat,
"	66	"	"	"	"	"	2	Monaten,
"	59	"	"	"	"	"	3	"
"	13	"	"	"	"	"	4	"
"	4	"	"	"	"	"	5	"
"	8	"	"	"	"	"	6	"
"	5	"	"	"	"	"	7	"
"	2	"	"	"	"	"	8	"
"	2	"	"	"	"	"	9	"
"	12	"	"	"	"	"	von 1	Jahre,
"	1	"	"	"	"	"	1 $\frac{1}{2}$	Jahren,
"	1	"	"	"	"	"	2	"

Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, wurden versuchsweise (auf ausdrücklichen Wunsch der Besitzer) auch einige ältere, zur schnelleren Ergänzung des Bestandes angekaufte, auf Tuberkulin nicht reagierende Rinder immunisiert. Die ersten Veröffentlichungen v. Behrings ließen dieses Verfahren zwar gerechtfertigt erscheinen, doch haben wir uns mehr und mehr davon überzeugt, daß es zweckmäßig ist, die Schutzimpfung auf die ersten Lebensmonate zu beschränken, was ja auch in den neueren Mitteilungen v. Behrings stets nachdrücklich betont wird.

Bei 203 Rindern wurde die Schutzimpfung vorschriftsmäßig zu Ende geführt. 10 Rinder starben vor Ausführung der zweiten Impfung. Ueber die im Anschluß an die erste bzw. zweite Schutzimpfung ermittelten Reaktionen ist nachfolgendes zu bemerken:

Von den 213 erstmalig schutzgeimpften Rindern zeigten 104 = 48,8 Proz. keinerlei Temperaturerhöhung oder sonstige Erscheinungen nach der Einspritzung (Reaktionsgrad 0), 61 = 28,7 Proz. eine kurzdauernde und mäßig hohe Fieberreaktion (Reaktionsgrad I), 42 = 19,7 Proz. eine 2—4 Tage anhaltende Temperatursteigerung mit geringgradiger Störung des Allgemeinbefindens (Reaktionsgrad II) und 6 = 2,8 Proz. eine 5—8 Tage anhaltende starke Fieberreaktion, verbunden mit Husten, Appetitmangel, Gewichtsverlust etc. (Reaktionsgrad III).

Von den 203 zum zweiten Male schutzgeimpften Rindern zeigten

75 = 36,9 Proz. keinerlei Reaktionserscheinungen (Reaktionsgrad 0), 81 = 39,9 Proz. den Reaktionsgrad I, 46 = 22,7 Proz. den Reaktionsgrad II und 1 = 0,5 Proz. den Reaktionsgrad III.

Interessant ist auch ein Vergleich zwischen den nach der ersten Schutzimpfung und den nach der zweiten Schutzimpfung auftretenden Reaktionsgraden.

Von 101 nach der ersten Schutzimpfung keine Reaktion zeigenden Rindern zeigten 47 = 46,5 Proz. auch nach der zweiten Schutzimpfung keine Reaktion, während 31 = 30,7 Proz. den Reaktionsgrad I und 23 = 22,8 Proz. den Reaktionsgrad II bei der zweiten Schutzimpfung erreichten.

Von 57 Rindern mit dem Reaktionsgrad I nach der ersten Schutzimpfung zeigten 16 = 28,1 Proz. nach der zweiten Schutzimpfung keine Reaktion, 29 = 50,9 Proz. den Reaktionsgrad I, 11 = 19,3 Proz. den Reaktionsgrad II und 1 = 1,7 Proz. den Reaktionsgrad III.

Von 39 Rindern mit dem Reaktionsgrad II nach der ersten Schutzimpfung zeigten 9 = 23,1 Proz. nach der zweiten Schutzimpfung keine Reaktion, 19 = 48,7 Proz. den Reaktionsgrad I und 11 = 28,2 Proz. den Reaktionsgrad II.

Von 6 Rindern mit dem Reaktionsgrad III nach der ersten Schutzimpfung zeigten 3 = 50 Proz. nach der zweiten Schutzimpfung den Reaktionsgrad 0, 2 = 33,3 Proz. den Reaktionsgrad I und 1 = 16,7 Proz. den Reaktionsgrad II.

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, daß zwar im allgemeinen die Reaktion nach der zweiten Schutzimpfung entweder schwächer oder von gleicher Stärke zu sein pflegt wie nach der ersten Impfung, daß aber nicht selten auch ein höherer Reaktionsgrad zu verzeichnen ist, namentlich dann, wenn im Anfang gar keine oder nur eine geringe Reaktion zur Beobachtung kommt.

Zur Prüfung der Frage, ob der Ausfall der auf die erste Schutzimpfung folgenden Reaktionen dieselbe Deutung zuläßt wie der Ausfall der Reaktion bei der Tuberkulinprobe, standen 43 Beobachtungen an mit Tuberkulin vorgeprüften Tieren zur Verfügung. Von 42 auf Tuberkulin nicht reagierenden Rindern reagierten 33 = 78,6 Proz. nicht bei der 2—6 Wochen nach der Tuberkulinprüfung folgenden ersten Schutzimpfung, 3 = 7,1 Proz. zeigten den Reaktionsgrad I, 5 = 11,9 Proz. den Reaktionsgrad II und 1 = 2,4 Proz. den Reaktionsgrad III.

Das einzige trotz positiver Tuberkulinreaktion schutzgeimpfte Rind (Rd. 17 des verstärkten natürlichen Infektionsversuches) zeigte eine starke Impfreaktion (Reaktionsgrad II).

Wenn auch die kleine Zahl von Beobachtungen kein endgültiges Urteil über die Bedeutung der Impfreaktion für die Beurteilung der Tuberkulosefreiheit der Impflinge gestattet, so steht sie andererseits aber auch nicht in Widerspruch mit der Ansicht v. Behrings, daß die Impfreaktion bis zu einem gewissen Grade wenigstens der Tuberkulinreaktion gleichzustellen ist. Es gilt dieses in erster Linie von den starken Reaktionen (Reaktionsgrad II und III), welche den Verdacht auf tuberkulöse Herderkrankungen nahelegen und auch von uns gerade in den stark verseuchten Beständen besonders häufig festgestellt werden konnten.

Von den 10 Rindern, welche vor Ausführung der zweiten Schutzimpfung verendeten, wurden 6 seziert. Die Sektion ergab 3mal Darmentzündung, 2mal Lungenentzündung und 1mal Leukämie. Tuberkulöse Veränderungen wurden bei keinem Tiere festgestellt. In den 4 nicht sezieren Fällen haben die Besitzer Darmentzündung als Todesursache angezeigt.

Nur in einem Falle von Lungenentzündung konnte der Tod des



Impflings in ursächlichen Zusammenhang mit der unmittelbar vorausgegangenen Schutzimpfung gebracht werden. Es war dieses zugleich das einzige Mal, wo wir die Schutzimpfung in einem mit Kälberpneumonie infizierten Bestande vorgenommen haben und üble Folgen im Anschluß an die Schutzimpfung auftreten sahen. Der Fall war für uns in mehr als einer Beziehung lehrreich.

Es handelte sich um insgesamt 11 Kälber (Versuchsgut VII) im Alter von 3 Wochen bis zu 3 Monaten, von denen 6 mit Tauruman und 5 erstmalig mit Bovovaccin geimpft werden sollten. Die zur Verfügung stehende Zeit war etwas knapp bemessen. Da das Personal gut eingearbeitet war, so wurde das Impfgeschäft trotz der Kürze der Zeit glatt erledigt. Erst jetzt fiel es uns auf, daß die Kälber länger als sonst stärker mit den Flanken schlugen und weniger munter waren. Der Verwalter erzählte nun, daß fast alle geimpften Kälber seit mehreren Tagen gehustet und etwas höhere Mastdarmtemperatur als sonst (39,8—40,1° C) gehabt hätten. Er habe den Erscheinungen aber keine besondere Bedeutung beigelegt. Bei 7 Kälbern stellte sich noch am Abend desselben Tages hohes Fieber, verbunden mit starker Atemnot, ein. Ein mit Tauruman geimpftes 8 Wochen altes Kalb starb 36 Stunden nach der Impfung und ein mit Bovovaccin geimpftes 10 Wochen altes Kalb 4 Tage nach der Impfung. Beide Tiere wurden im Veterinärinstitut sezirt. Die Sektion ergab die typischen Veränderungen der ansteckenden Kälberpneumonie (frische Hepatisation fast der gesamten Lunge mit unzähligen kleinen, grauweißen, nekrotischen Herden). Weder durch Färbung noch durch den Tierversuch (Meerschweinchen) konnten Tuberkelbacillen in den erkrankten Lungen nachgewiesen werden. Da die ansteckende Kälberpneumonie in der Umgebung von Leipzig selten vorkommt, so haben wir uns, um in der Diagnose ganz sicher zu gehen, einwandfreies Material von nicht geimpften Kälbern von auswärts schicken lassen und mit unserem Material verglichen. Die histologische Untersuchung ergab die völlige Uebereinstimmung der pathologischen Veränderungen.

Bei den übrigen Impflingen gingen die Erscheinungen der Lungenentzündung zwar wieder zurück, doch sind noch drei im Laufe der nächsten 2 Monate an Darmentzündung gestorben. Wir haben uns seitdem stets bemüht, vor Ausführung der Schutzimpfung nach Möglichkeit aus eigener Anschauung ein Urteil über den Gesundheitszustand der Impflinge zu gewinnen.

Die Entwicklung der Impflinge nach der Schutzimpfung war fast ausnahmslos eine gute. Einzelne Besitzer erklärten sogar bestimmt, daß seit Einführung der Schutzimpfung das Aussehen des Jungviehes wie überhaupt der Gesundheitszustand des selbstgezogenen Nachwuchses erheblich besser geworden sei. Die Gewichtszunahme wurde von den meisten Besitzern durch regelmäßige Wägungen kontrolliert.

In zwei Fällen wurde auf Wunsch des Besitzers (Versuchsgut III) die zweite Impfung wegen mangelhafter Entwicklung der Impflinge bis zum nächstfolgenden Impftermin (6 Monate nach der ersten Schutzimpfung) hinausgeschoben, doch war auch in diesen Fällen die spätere Entwicklung der Impflinge eine normale. In allen übrigen Fällen fand die zweite Impfung vorschriftsmäßig 3 Monate nach der ersten statt.

Um möglichst zahlreiche Unterlagen für die Beurteilung der eventuellen Schädlichkeit des Impfverfahrens zu erlangen, haben wir die Besitzer der Versuchsgüter wiederholt gebeten, uns von jedem einzelnen Falle Kenntnis zu geben, in dem nach ihrer Meinung ein Impfling in der Entwicklung hinter seinen Altersgenossen zurückbleibt. Es fanden aus diesem Anlaß insgesamt 5mal Erhebungen statt:

Zunächst seien hier die beiden Rinder genannt, bezüglich deren der Besitzer (Versuchsgut III) wegen mangelhafter Entwicklung eine Hinausschiebung des zweiten Impftermines wünschte. Sie hatten in unserer Sammelliste die Ohrmarkennummern 19 und 118.

Rind No. 19 wurde am 14. Juni 1904 im Alter von 10 Wochen zum ersten Male geimpft, nachdem es bei einer 6 Wochen zuvor vorgenommenen Tuberkulinprobe keine Reaktion gezeigt hatte. Die Körpertemperatur stieg bei der ersten Schutzimpfung noch

am Abend auf 40,9° C und erreichte am Abend des 3. Tages mit 41,9° C den höchsten Stand. Dabei bestand hochgradige Atemnot und Appetitmangel. Nach weiteren 3 Tagen kehrte die Körpertemperatur zur Norm zurück, doch blieb die hohe Atemfrequenz noch wochenlang bestehen. Auch war die Gewichtszunahme infolge mangelhafter Futteraufnahme gering. Am 26. Nov. 1904 wurde das Rind vom Veterinärinstitut angekauft. Bei der am 29. Nov. 1904 im Institut vorgenommenen Tuberkulinprobe reagierte es nicht. Am 16. Dez. wurde die zweite Schutzimpfung ausgeführt. Die Reaktion war gering (40,2° C) und schnell vorübergehend. Am 7. Jan. 1905 wurde noch eine dritte Impfung mit der gleichen Dosis wie das zweite Mal vorgenommen. Die Reaktion war wiederum nur mäßig stark (40,5° C) und schnell vorübergehend. Bis April 1905 verblieb das Rind im Veterinärinstitut und wurde alsdann wieder von seinem früheren Besitzer in Pflege genommen. Die Gewichtszunahme und das Allgemeinverhalten des Tieres ließen jetzt nichts mehr zu wünschen übrig. Es unterschied sich bald in keiner Weise mehr von seinen Altersgenossen, so daß der Besitzer das Tier gern zurückgekauft hätte. Im November 1905 wurde es wieder in den Stall des Veterinärinstituts übergeführt und bis zum Frühjahr 1906 im ganzen noch 5mal mit Tuberkulin geprüft, ohne jemals zu reagieren. Am 16. März 1906 (1½ Jahre nach der letzten Schutzimpfung) wurde das 2 Jahre alte, 370 kg schwere Rind im Polizeischlachthause des Leipziger Schlachthofes geschlachtet und völlig frei von tuberkulösen Veränderungen gefunden. Die genaue Untersuchung aller Organe und Lymphdrüsen wurde von Herrn Amtstierarzt Dr. Käppel und Assistent Dr. Fischer vom Veterinärinstitut ausgeführt. Das Fleisch wurde als vollwertig verkauft.

Rind No. 118 hatte im Gegensatz zu Rind No. 19 überhaupt keine Temperaturerhöhung bei der ersten im Alter von 3 Monaten ausgeführten Schutzimpfung gezeigt, trotzdem wollte es sich nicht entwickeln wie seine Altersgenossen. Fast 6 Monate nach der ersten Impfung wurde die zweite Impfung ausgeführt, welche eine deutliche (40,4° C), aber schnell vorübergehende Reaktion auslöste. Futteraufnahme und Gewichtszunahme ließen in der Folgezeit nichts mehr zu wünschen übrig, so daß der Besitzer sich nicht entschließen konnte, das im übrigen schön gewachsene Tier zum Schlachten zu verkaufen. Bei der 1 Jahr nach der zweiten Schutzimpfung ausgeführten Tuberkulinprobe reagierte das Rind nicht. Es unterschied sich in keiner Weise mehr von seinen Altersgenossen.

Das dritte Rind, um dessentwillen Verhandlungen wegen Ankaufs stattfanden, war ein ca. 1½ Jahre alter, im August bzw. Dezember 1904 von uns vorschriftsmäßig immunisierter Bulle von Versuchsgut I mit Ohrmarke No. 36, welcher sich angeblich nicht in gleich vorteilhafter Weise wie seine Altersgenossen entwickelt hatte. Der Ankauf erfolgte im November 1905, obwohl zu diesem Zeitpunkte der Unterschied in der Entwicklung sich schon ziemlich wieder ausgeglichen hatte. Der Bulle wog bei der Uebergabe 400 kg. Er mußte alsbald nach der Ankunft im Veterinärinstitut kastriert werden und zeigte während der nun folgenden 5-monatigen Beobachtungszeit niemals irgendwelche Krankheitserscheinungen. Er wurde im ganzen 5mal mit Tuberkulin geprüft und reagierte niemals. Am 16. März 1906 (ca. 1 Jahr 4 Monate nach der letzten Schutzimpfung) wurde der ca. 2 Jahre alte, 460 kg schwere Ochse im Polizeischlachthause des Leipziger Schlachthofes geschlachtet und bis auf eine erbsengroße und mehrere stecknadelkopfgroße Kalkeinlagerungen in einer Mesenteriallymphdrüse frei von tuberkulösen Veränderungen gefunden. Die genaue Untersuchung aller Organe und Lymphdrüsen wurde von Herrn Amtstierarzt Dr. Käppel und Assistent Dr. Fischer ausgeführt. Das Fleisch wurde als vollwertig verkauft. Zwei mit den Kalkkonkrementen subkutan infizierte Meerschweinchen starben 45 bzw. 77 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose.

Von Interesse war weiterhin auch der Befund, welcher bei dem vierten Tiere, einem ebenfalls im November 1905, und zwar von Versuchsgut VII angekauften 8 Monate alten Rinde (Ohrmarke No. 82) erhoben wurde. Dieses Tier war im Alter von 2 Wochen erstmalig und 3 Monate später vorschriftsmäßig zum zweiten Male schutzgeimpft. Es

blieb in der Entwicklung offensichtlich hinter seinen Altersgenossen zurück. Die klinische Untersuchung ergab keinerlei Anhaltspunkte über die Natur des Leidens. Die Körpertemperatur war im ganzen etwas hoch (39,0—39,5° C). Von 5 Tuberkulinproben fielen 3 positiv aus; doch war die Reaktion wenig deutlich (39,5—40,2° C; 39,3—40,3° C). Der Ernährungszustand des Rindes besserte sich mit der Zeit etwas. Am 16. März 1906,  $\frac{3}{4}$  Jahre nach der zweiten Schutzimpfung, wurde das nunmehr 1 Jahr alte, 200 kg schwere Rind im Polizeischlachthause des Leipziger Schlachthofes geschlachtet und völlig frei von tuberkulösen Veränderungen gefunden. Als Krankheitsursache wurde in der rechten Lendengegend ein doppelfaustgroßer, mit übelriechendem Eiter prall gefüllter Absceß ermittelt, welcher als Ueberbleibsel einer in frühester Jugend erfolgten Nabelinfektion aufzufassen sein dürfte. Die genaue Untersuchung aller Organe und Lymphdrüsen wurde von Herrn Amtstierarzt Dr. Käppel und Assistent Dr. Fischer ausgeführt. Ein mit dem Absceßinhalt und Teilen der Absceßwand subkutan infiziertes Meerschweinchen wurde 77 Tage nach der Infektion getötet und frei von Tuberkulose gefunden.

Der fünfte Fall endlich, in welchem Klagen über das spätere Verhalten eines Impflings einliefen, betrifft ein Mitte Mai 1905 im Alter von 4 Wochen erstmalig,  $3\frac{1}{2}$  Monate später zum zweiten Male immunisiertes Rind (Ohrmarke No. 100), welches Ende Oktober unter den Erscheinungen der Bronchitis erkrankte und vom Veterinärinstitut zu Versuchszwecken angekauft wurde. Leider verendete das Tier noch vor der Ankunft in Leipzig. Die im Veterinärinstitut ausgeführte Sektion ergab als Krankheitsursache eitrig Bronchitis und Bronchopneumonie. Zwei mit Teilen der erkrankten Lunge subkutan infizierte Meerschweinchen wurden 59 Tage nach der Infektion getötet und frei von tuberkulösen Veränderungen gefunden. Inzwischen waren auch noch mehrere nicht immunisierte Jungrinder desselben Besitzers unter den gleichen Erscheinungen erkrankt. Ein Rind verendete und ein anderes wurde geschlachtet. Die Lungen beider Rinder wurden dem Veterinärinstitut zur Untersuchung überlassen. Es wurde der gleiche pathologisch-anatomische Befund (eitrig Bronchitis und Bronchopneumonie) wie oben erhoben. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen der offenbar durch das naßkalte Herbstwetter veranlaßten Lungenerkrankung und der 2 Monate zuvor ausgeführten Schutzimpfung kann hiernach nicht wohl konstruiert werden.

### **Was lehren die Tuberkulinprüfungen über die Wirksamkeit des Schutzimpfungsverfahrens?**

Um ein Urteil über die Wirksamkeit der Schutzimpfung zu erlangen, wurden Ende 1906 bzw. Anfang 1907 auf den Versuchsgütern Tuberkulinprüfungen bei den noch vorhandenen vorschriftsmäßig immunisierten Rindern ausgeführt. Es wurden insgesamt 148 Rinder mit Tuberkulin geprüft. Von diesen reagierten 56 = 37,8 Proz.

Als Reaktion haben wir, entsprechend dem vom Ref. auf dem VIII. internationalen tierärztlichen Kongresse in Budapest erstatteten Referate, jede 40° C überschreitende Erhöhung der Körpertemperatur aufgefaßt und den Reaktionen noch alle Temperaturerhöhungen über 39,5° C bis 40° C zugezählt, bei denen die Gesamterhebung gegenüber der höchsten Temperatur von der Injektion mindestens 1° C beträgt.

Auf die verschiedenen Altersklassen verteilen sich die reagierenden Tiere, wie folgt:

von 70 Rindern im Alter von	$\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$ Jahren	reagierten	19 = 27,1 Proz.
" 49	" " " "	$1\frac{1}{2}$ —2	" " 22 = 44,9 "
" 26	" " " "	2— $3\frac{1}{2}$	" " 15 = 57,7 "
" 3	" " " "	$3\frac{1}{2}$ — $4\frac{1}{2}$	" " 0 = 0 "

Bilden wir, entsprechend der Nutzung der Rinder, nur zwei Altersklassen, nämlich eine für die Rinder im Alter von  $\frac{1}{2}$ —2 Jahren und eine für die über 2 Jahre alten Rinder, so reagierten von 119 bis 2 Jahre alten Rindern 41 = 34,5 Proz. und von 29 über 2 Jahre alten Rindern 15 = 51,7 Proz.

Bei 81 Rindern war mindestens 1 Jahr nach der letzten Schutzimpfung verflossen. Von diesen reagierten 37 = 45,7 Proz. Bei 67 Rindern waren erst 2—9 Monate nach der letzten Schutzimpfung verflossen. Es reagierten von ihnen 19 = 28,4 Proz.

Diese Zahlen entsprechen durchaus den Verseuchungsprozenten, die man auch ohne Anwendung des Schutzimpfungsverfahrens in stark tuberkulösen Rinderbeständen anzutreffen pflegt. Es ist daher die Schutzimpfung ohne erkennbaren Einfluß auf die mit dem Alter und der gesteigerten wirtschaftlichen Ausnutzung zunehmende Tuberkuloseverseuchung des Nachwuchses geblieben.

Angesichts dieses Ergebnisses war selbstverständlich eine Nachprüfung der Frage nötig, ob die Tuberkulinprobe auch bei den schutzgeimpften Rindern ein einigermaßen sicheres Hilfsmittel zur Feststellung der Tuberkuloseverseuchung ist.

Bereits in meiner ersten Veröffentlichung über die Nachprüfung des v. Behringschen Tuberkuloseimmunisierungsverfahrens habe ich darauf aufmerksam gemacht, daß der negative Ausfall der Tuberkulinprobe bei den mit abgeschwächten Rinder- bzw. Menschentuberkelbacillen vorbehandelten Rindern kein zuverlässiges Beweismittel für das Freisein von tuberkulösen Veränderungen ist, denn bei beiden damals im Versuch stehenden immunisierten Rindern war die Tuberkulinprobe völlig negativ ausgefallen, obwohl sie tuberkulöse Herderkrankungen im Laufe des Versuches davongetragen hatten. Die gleiche Erfahrung konnten wir bei dem im ersten Teil dieser Abhandlung mitgeteilten verstärkten natürlichen Infektionsversuche machen. Auch hier erwarben sämtliche immunisierten Rinder tuberkulöse Herderkrankungen, ohne daß zugleich die sonst in der Regel nicht ausbleibende Tuberkulinüberempfindlichkeit nachzuweisen war.

Wir vermuteten daher von vornherein, daß auch bei den in der Praxis ausgeführten Schlachtungen schutzgeimpfter Tiere gelegentlich einmal trotz negativer Reaktion tuberkulöse Veränderungen nachzuweisen sein würden. Wie aus der p. 41 mitgeteilten Uebersicht über die im Laufe der letzten 3 Jahre kontrollierten Schlachtungen und Sektionen hervorgeht, hatten nur 3 Rinder (Fall 1, 3, 6) bei einer kurze Zeit vor der Schlachtung ausgeführten Tuberkulinprobe keine Reaktion gezeigt, und von diesen wiederum erwies sich nur eins (Fall 6) tatsächlich frei von tuberkulösen Veränderungen, während zwei (Fall 1 und 3) trotz negativer Tuberkulinprobe mit Tuberkulose behaftet waren.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bezüglich der Bewertung der positiven Tuberkulinreaktion als Beweismittel für das Vor-

handensein tuberkulöser Herderkrankungen. Hier können wir v. Behring und seinen Mitarbeitern völlig beipflichten, wenn sie das Tuberkulin, vorausgesetzt, daß es frühestens 1 Jahr (nach unseren Erfahrungen schon  $\frac{3}{4}$  Jahr) nach der letzten Schutzimpfung angewandt wird, als ein brauchbares Hilfsmittel zur Ermittlung des Imperfolges empfehlen.

In der bereits erwähnten Zusammenstellung der Schlacht- bzw. Sektionsergebnisse sind 5 Fälle (Fall 7, 11, 12, 16, 17) verzeichnet, in denen die betreffenden Rinder kurz vor dem Tode einer Tuberkulinprobe, und zwar mit positivem Ergebnis unterworfen wurden. Nur in einem Falle (Fall 17) fand sich keine tuberkulöse Herderkrankung, sondern ein doppelfauststarker Absceß in der rechten Lendengegend, während in sämtlichen übrigen Fällen die Sektion die mit Hilfe der Tuberkulinprobe gestellte Diagnose bestätigte. Fehldiagnosen dieser Art werden bekanntlich auch bei nicht schutzgeimpften Rindern gelegentlich beobachtet.

Mein Urteil über den Wert der Tuberkulinprobe für die Prüfung schutzgeimpfter Rinder auf Tuberkulose möchte ich dahin zusammenfassen, daß der positive Ausfall einer mindestens  $\frac{3}{4}$  Jahre nach der letzten Schutzimpfung ausgeführten Tuberkulinprobe mit der gleichen Sicherheit wie bei nicht schutzgeimpften Tieren für eine tuberkulöse Herderkrankung spricht, während der negative Ausfall der Tuberkulinprobe nicht ohne weiteres als Beweis für das Fehlen tuberkulöser Herderkrankungen angesehen werden kann.

Es sind daher auch die oben mitgeteilten Prozente nur als Mindestzahlen für die tatsächliche Tuberkuloseverseuchung des Nachwuchses anzusehen, da sich zweifellos auch ein Teil der nicht reagierenden Tiere bei der Schlachtung als tuberkulös erweisen würde. Jedenfalls wird hierdurch die kleine Zahl von reagierenden tuberkulosefreien Tieren völlig ausgeglichen, deren Reaktion durch eine von der letzten Schutzimpfung herrührende Tuberkuloseüberempfindlichkeit und nicht durch eine tuberkulöse Herderkrankung bedingt ist.

Wie wenig übrigens diese keineswegs bei allen schutzgeimpften Tieren in gleicher Weise auftretende Tuberkulinüberempfindlichkeit für das gesamte Prüfungsergebnis praktisch von Bedeutung ist, geht aus der Tatsache hervor, daß, wie schon erwähnt, von 67 Rindern, bei denen erst 2—9 Monate nach der letzten Schutzimpfung verflossen waren, nur 19 = 28,4 Proz. reagierten, während von 81 Rindern, bei denen mindestens 1 Jahr nach der letzten Schutzimpfung verflossen war, 37 = 45,7 Proz. eine positive Reaktion zeigten.

Unter den 148 vorschriftsmäßig immunisierten, mit Tuberkulin nachgeprüften Rindern befanden sich nur 18, bei denen vor Ausführung der Schutzimpfung eine Tuberkulinprobe<sup>1)</sup> vorgenommen und negativ ausgefallen war. Von diesen standen

---

1) Wie schon erwähnt, wurde bei unseren Impfversuchen im allgemeinen, entsprechend der Anweisung v. Behrings, von der vorherigen Tuberkulinprobe Abstand genommen. Nur wenn wir auf Wunsch der Besitzer, wie das in der ersten Zeit einige Male geschehen ist, auch älteren, d. h. über 4 Monate alte Rinder der Schutzimpfung unterzogen, haben wir diese zuvor mit Tuberkulin geprüft und nur die nicht reagierenden immunisiert. Gelegentlich wurden auch einige jüngere Rinder vor der Schutzimpfung der Tuberkulinprobe unterworfen.

2	Tiere	im	Alter	von	1	Monat,
9	"	"	"	"	3—9	Monaten,
5	"	"	"	"	12	"
2	"	g	"	"	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> —2	Jahren.

Von diesen 18 auf Tuberkulin nicht reagierenden Tieren reagierten bei der später vorgenommenen Kontrollimpfung 7 = 38,8 Proz. Bei 6 reagierenden Rindern war mehr als 1 Jahr nach der zweiten Impfung vergangen.

Da der Gedanke von vornherein nicht von der Hand zu weisen war, daß möglicherweise die Stärke der Impfreaktion einen Maßstab für die Beurteilung der Stärke des Impfschutzes abgeben könnte, so haben wir auch daraufhin unser Material geprüft.

Es ergab sich, daß von den 56 später positiv reagierenden Impflingen 28 nach der ersten Schutzimpfung keine Reaktion, 10 den Reaktionsgrad I, 13 den Reaktionsgrad II und 5 den Reaktionsgrad III erkennen ließen, während von den 92 nicht reagierenden Impflingen 42 keine Reaktion, 32 den Reaktionsgrad I, 17 den Reaktionsgrad II und 1 den Reaktionsgrad III nach der ersten Schutzimpfung zeigten.

Bestimmte Beziehungen zwischen Impfreaktion und Stärke des Impfschutzes ergeben sich aus diesen Daten nicht. Man ist daher auch nicht berechtigt, die Impfreaktion als sichtbares Zeichen der sich im Innern abspielenden Immunisierungsvorgänge aufzufassen.

Nach dieser mehr summarischen Uebersicht über unsere Versuchsergebnisse dürfte es sich lohnen, noch einen Blick auf die Erfolge zu werfen, welche im einzelnen auf den verschiedenen Gütern unter Einwirkung der so verschiedenartigen wirtschaftlichen Verhältnisse erzielt worden sind. Die Unterlagen für diese Betrachtung sind in den im Anhang wiedergegebenen Einzeldarstellungen enthalten. Versuchsgut VIII, bei dessen Viehbestand eine Nachprüfung mit Tuberkulin nicht stattfand, scheidet für diese Betrachtung aus.

Das günstigste Resultat wurde auf dem Versuchsgut IV erzielt, welches den kleinsten Viehbestand (18 Stück) aufwies und von allen Versuchsgütern schon zu Anfang die kleinste Tuberkuloseziffer hatte, nämlich 43,8 Proz. berechnet von den über 6 Monate alten Rindern. Der Besitzer besorgte den Kuhstall mit seinen Familienangehörigen in der Hauptsache allein und kam allen von uns getroffenen Anordnungen mit der peinlichsten Gewissenhaftigkeit nach. Es entgingen ihm auch nicht leicht Veränderungen im Ernährungszustande oder im sonstigen Verhalten der Rinder, über deren Bedeutung er sich nach Möglichkeit durch Rücksprache mit seinem Tierarzt oder mit dem die Impfungen ausführenden Institutsassistenten unterrichtete. In welchem Maße es dem intelligenten Besitzer gelungen war, schon vor unserem Eingreifen trotz des nicht gerade kleinen Prozentsatzes reagierender Tiere Fälle von offener Tuberkulose rechtzeitig auszumerzen, geht aus der Tatsache hervor, daß von dem gesamten Jungvieh bis zu 2 Jahren (1 Bulle und 7 Färsen) bei Beginn der Schutzimpfung kein einziges auf Tuberkulin reagierte, obwohl nur ein gemeinsamer Stall für das gesamte Vieh zur Verfügung steht. Wie aus der im Anhang enthaltenen Uebersicht hervorgeht, wurden von den 19 im Laufe von 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Jahren immunisierten Rindern 3 geschlachtet und frei von tuberkulösen Veränderungen gefunden. Die übrigen 16 wurden mit Tuberkulin geprüft. Es reagierte nur eines (6,25 Proz.), welches sich bei der Schlachtung tuberkulös erwies.

Da wir ein derartig günstiges Ergebnis auf keinem der übrigen Versuchsgüter zu verzeichnen haben, so gehen wir wohl nicht fehl in der Annahme, daß in diesem Falle besondere, nicht in der Schutzimpfung begründete Umstände mitbestimmend für den günstigen Ausgang gewesen sind.

Ganz anders stellen sich, wie schon angedeutet, die Ergebnisse auf den übrigen Versuchsgütern dar. Am relativ besten schneiden noch die beiden reinen Zuchtwirtschaften mit Weidegang für das gesamte Vieh (Versuchsgut I und II) ab. Hier wurden 3 Jahre nach Beginn der Schutzimpfung insgesamt 41 immunisierte Rinder mit Tuberkulin geprüft, von denen 15 = 36,6 Proz. reagierten, und zwar von den  $\frac{3}{4}$ —1 Jahr alten Tieren 16,6 Proz., von den  $1\frac{1}{2}$ —2 Jahre alten Tieren 41,7 Proz. und von den  $2\text{—}3\frac{1}{2}$  Jahre alten Tieren 63,6 Proz.!

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse auf den Versuchsgütern III und VII, welche wenigstens für das Jungvieh noch einen regelmäßigen Weidegang aufrecht erhalten. Während auf dem Versuchsgute III, woselbst bereits eine größere Zahl über 2 Jahre alter Rinder geprüft werden konnte, von 37 immunisierten Rindern 16 = 43,2 Proz. reagierten, befanden sich auf dem Versuchsgut VII, woselbst erst 1 Jahr später mit der Schutzimpfung begonnen wurde und dementsprechend in der Hauptsache jüngere Rinder geprüft wurden, unter 18 immunisierten Rindern nur 5 = 27,8 Proz. reagierende. Das Verhältnis wird aber sofort auch auf dem Versuchsgut VII ein ungünstigeres, wenn wir die 6 älteren Rinder (von  $1\frac{1}{2}$ —2 Jahren) für sich allein berücksichtigen, denn von diesen reagierten bereits 3 = 50 Proz. Unter den immunisierten Rindern des Versuchsgutes III befanden sich zufällig 13 mit Tuberkulin vorgeprüfte und reaktionsfrei befundene Rinder. Von diesen reagierten bei der Nachprüfung 7 = 53,8 Proz.

Am allerungünstigsten waren die erzielten Ergebnisse auf den Versuchsgütern V und VI mit intensiver Milchwirtschaft und dauernder Stallhaltung auch für das Jungvieh. Wenn auch die Zahlen bei der relativ kurzen Beobachtungszeit nur klein sind, so reden sie doch eine deutliche Sprache. Von 14 schutzgeimpften Rindern des Versuchsgutes V reagierten 8 = 57,1 Proz. und von 22 schutzgeimpften Rindern des Versuchsgutes VI reagierten 11 = 50 Proz. Noch deutlicher tritt der Mißerfolg hervor, wenn wir nur die über  $1\frac{1}{2}$  Jahre alten Rinder in Betracht ziehen, bei denen nach der letzten Schutzimpfung mindestens 1 Jahr verflossen war. Es kommen dann 10 Rinder im Versuchsgut V in Betracht, von denen 7 = 70 Proz. reagierten, und 7 Rinder im Versuchsgut VI, von denen 5 = 71,4 Proz. eine positive Reaktion zeigten.

Es kann hiernach keinem Zweifel unterliegen, daß nach dem Ergebnis der Tuberkulinprobe wenigstens bei den Versuchsgütern V und VI ein völliges Versagen der Schutzimpfung unter den angegebenen Verhältnissen, bei den übrigen, mit Ausnahme des besondere Verhältnisse aufweisenden Versuchsgutes IV, zum mindesten kein nennenswerter Rückgang in der Tuberkuloseansteckung des Nachwuchses zu verzeichnen ist.

**Wie stellen sich die Verhältnisse dar, wenn wir die Schlachtungs- bzw. Sektionsergebnisse der Beurteilung zu Grunde legen?**

Durch Sektion bzw. Schlachtung konnten bis jetzt im ganzen 19 Fälle kontrolliert werden. Sie finden sich, übersichtlich nach Ver-

suchsgütern geordnet, im Anhang am Schluß der Abhandlung. Die Kontrolle erfolgte meist direkt an Ort und Stelle durch uns selbst oder durch einen anderen mit der Sachlage vertrauten Tierarzt; in einigen Fällen sind uns auch Teile der erkrankten Organe zur Nachprüfung zugesandt worden. Die Art der Kontrolle ist aus der Zusammenstellung in jedem einzelnen Falle ersichtlich. Auch sind in der Zusammenstellung alle Einzelheiten, die für die Beurteilung Interesse haben, mitgeteilt.

Die Untersuchung der genannten 19 zur Sektion bzw. Schlachtung gelangten Rinder hat nun ergeben, daß in 9 Fällen (47,4 Proz.) tuberkulöse Veränderungen vorhanden waren, und zwar:

5mal generalisierte Tuberkulose (1 Todesfall: Fall 7, 4 Schlachtungen: Fall 2, 4, 5, 11),  
2mal Bronchialdrüsentuberkulose (2 Schlachtungen: Fall 12, 16),  
1mal Lungentuberkulose (1 Schlachtung: Fall 1),  
1mal Mesenterialdrüsentuberkulose (1 Schlachtung: Fall 3).

In 10 Fällen (52,6 Proz.) fanden sich keinerlei tuberkulöse Veränderungen vor (2 Todesfälle: Fall 18, 19, und 8 Schlachtungen: Fall 6, 8, 9, 10, 13, 14, 15, 17).

In 4 Fällen war der Schutzimpfung eine Tuberkulinprobe vorausgegangen, welche negativ ausgefallen war. Bei diesen wurde in 1 Falle (No. 7) generalisierte Tuberkulose festgestellt. In den übrigen 3 Fällen (No. 6, 8 u. 9) wurden tuberkulöse Veränderungen nicht ermittelt.

Von den 19 seziierten bzw. geschlachteten Rindern standen:

8	im	Alter	von	2—3 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	Jahren	(mit	4 = 50	Proz.	tuberkulösen),
4	"	"	"	1—2	"	(	" 3 = 75	"	"
7	"	"	"	1/2—1	Jahr	(	" 2 = 28,6	"	"

Von besonderem Interesse sind zunächst die 5 Fälle von generalisierter Tuberkulose.

In 3 Fällen (No. 2, Rind von 14 Monaten; No. 4, Rind von 1 Jahr 7 Monaten; No. 5, Rind von 9 Monaten) zeigten die Rinder schon verhältnismäßig bald nach Beendigung der Schutzimpfung Erscheinungen der Tuberkulose. Es besteht der Verdacht, daß diese Rinder bereits vor der Schutzimpfung tuberkulöse Herderkrankungen gehabt haben (angeborene oder frühzeitig erworbene). Es gilt dieses besonders von dem unter No. 5 aufgeführten Rinde, welches erst im Alter von 3 Monaten erstmalig schutzgeimpft wurde und hierbei mit hohem (41,3° C), 2 Tage anhaltendem Fieber reagierte (Reaktionsgrad II). Für diese Annahme spricht weiter noch der hohe Grad der tuberkulösen Veränderung bei den noch jugendlichen Tieren und die besondere Form der Erkrankung (Serosentuberkulose), welche nach unseren Erfahrungen in dieser Ausdehnung bei jugendlichen Tieren meist als angeborene Tuberkulose (Placentarinfektion) gedeutet werden muß. Weiter lehren uns die mitgeteilten Fälle, daß vorhandene tuberkulöse Herde durch die Schutzimpfung nicht immer günstig beeinflusst werden. Eher dürfte man sogar versucht sein, der Schutzimpfung unter gewissen Voraussetzungen eine Beschleunigung des tuberkulösen Prozesses zuzuschreiben, eine Auffassung, die besonders in den Fällen 2 und 5 nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen ist und uns gegenüber seinerzeit auch nachdrücklich von den Besitzern geltend gemacht wurde.

Der vierte Fall von generalisierter Tuberkulose (No. 11, Rind von 2<sup>1</sup>/<sub>4</sub> Jahren) betrifft ein im Alter von 4 Monaten erstmalig schutzgeimpftes Rind, welches auf die Impfung ebenfalls mit hohem (41,6° C), 6 Tage anhaltendem Fieber, Schüttelfrost etc. reagierte (Reaktionsgrad III).



Auch hier liegt somit die Annahme nahe, daß bei dem fraglichen Tiere bereits zur Zeit der ersten Schutzimpfung eine tuberkulöse Herderkrankung (angeboren oder erworben) zugegen war. Das Tier wurde, ohne daß es klinische Erscheinungen der Tuberkulose gezeigt hätte, und bevor noch eine erheblichere Entwertung desselben eintreten konnte, geschlachtet. Neben beginnender Tuberkulose der Lungen und der zugehörigen Lymphdrüsen fanden sich tuberkulöse Veränderungen am Brustbein, in der Milz und in den portalen Lymphdrüsen. Auch hier kann man, wenn auch nicht gerade von einer Verschlimmerung, so doch zweifellos auch nicht von einer günstigen Beeinflussung des tuberkulösen Prozesses durch die Schutzimpfung sprechen.

Der fünfte Fall von generalisierter Tuberkulose (No. 7, Rind von 3 Jahren) betrifft ein Rind, welches schon bei Lebzeiten, jedoch erst nahezu 2 Jahre nach Beendigung der Schutzimpfung, klinische Erscheinungen der Tuberkulose zeigte. Das Rind war erst im Alter von 8 Monaten erstmalig schutzgeimpft. Es hatte sich hierbei ebenso wie bei der 6 Wochen früher ausgeführten Tuberkulinprobe völlig reaktionsfrei erwiesen (Reaktionsgrad 0), entwickelte sich auch sonst völlig nach Wunsch. Eine vorherige Tuberkuloseinfektion ist daher mit einiger Sicherheit auszuschließen. Trotzdem erkrankte das Tier während der ersten Laktation so schwer an Tuberkulose, daß es im Alter von 3 Jahren, ohne wieder trächtig geworden zu sein, verendete. Die Sektion ergab außer Lungentuberkulose hochgradige Tuberkulose der Gebärmutter, der Scheide und des Euters. Dieser Fall beweist, daß die Schutzimpfung bei älteren Rindern, auch wenn diese auf Tuberkulin nicht reagieren, keinen sicheren Erfolg verspricht.

In den 4 übrigen durch Sektion bzw. Schlachtung festgestellten Tuberkulosefällen waren die tuberkulösen Veränderungen weniger umfangreich und zum Teil schon in Verkalkung begriffen, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß es sich fast durchweg um jugendliche Tiere handelt, deren Konstitution noch nicht durch lange Stallhaltung und intensive wirtschaftliche Ausnutzung geschwächt ist.

Es gilt dieses in erster Linie von den 2 Fällen von Bronchialdrüsentuberkulose (No. 12, Rind von 1 Jahre; No. 16, Rind von 10 Monaten), sowie von dem 1 Falle von Mesenterialdrüsentuberkulose (No. 3, Rind von 2 Jahren).

Fall 12 betrifft ein im Alter von 3 Monaten erstmalig schutzgeimpftes Rind, welches auf die Impfung mit hohem ( $41,3^{\circ}$  C), 7 Tage anhaltendem Fieber reagierte (Reaktionsgrad III), sich dann aber völlig normal weiter entwickelte. Bei der 5 Monate nach Beendigung der Schutzimpfung vorgenommenen Tuberkulinprobe reagierte es positiv und bei der 4 Wochen später vorgenommenen Schlachtung fanden sich 3 verkalkte erbsengroße Tuberkel in den Bronchialdrüsen als einzige tuberkulöse Veränderungen vor.

Fall 16 betrifft ein im Alter von 4 Wochen erstmalig schutzgeimpftes Rind, welches weder bei der ersten noch bei der zweiten Schutzimpfung irgend welche Reaktionserscheinungen zeigte, und sich völlig normal entwickelte. Die 2 bzw. 5 Monate nach Beendigung der Schutzimpfung vorgenommenen Tuberkulinproben fielen positiv aus und bei der 14 Tage nach der letzten Tuberkulinprobe vorgenommenen Schlachtung wurden als einzige tuberkulöse Veränderungen 3 stecknadelkopfgroße und ein linsengroßer käsiger Herd in der rechten oberen Bronchialdrüse ge-

funden. Ein mit dem käsigen Material subkutan infiziertes Meerschweinchen starb 36 Tage nach der Infektion.

Fall 3 endlich betrifft ein im Alter von 4 Monaten erstmalig schutzgeimpftes Rind, welches auf beide Impfungen mit hohem (41,3 bzw. 40,8° C), 2 bzw. 3 Tage anhaltendem Fieber reagierte (Reaktionsgrad II), und auch in der Entwicklung längere Zeit hinter seinen Altersgenossen zurückblieb. Später war die Entwicklung völlig normal; Tuberkulinprobe negativ. Bei der 1 $\frac{1}{4}$  Jahr nach Beendigung der Schutzimpfung vorgenommenen Schlachtung wurden als einzige tuberkulöse Veränderungen eine erbsengroße und mehrere stecknadelkopfgroße Kalkeinlagerungen in einer Mesenteriallymphdrüse gefunden, die ihre Virulenz für Meerschweinchen, wie 2 Impfversuche ergaben, noch nicht eingebüßt hatten.

Während in den Fällen 3 und 12 die unverhältnismäßig hohe Reaktion gegenüber der Schutzimpfung die Vermutung nahelegt, daß die erst im Alter von 3 bzw. 4 Monaten zum ersten Male geimpften Rinder bereits vor Ausführung der Schutzimpfung Gelegenheit gehabt haben, tuberkulöse Herderkrankungen, wenn auch nur von geringem Umfange, zu erwerben, beweist der im Falle 16 erhobene Befund einer frischen Primärinfektion der Bronchialdrüsen trotz rechtzeitiger vorschriftsmäßiger Schutzimpfung, daß der Impfschutz in diesem Falle nicht ausreichend war.

Den nicht zu verkennenden gutartigen Charakter der Lymphdrüsen-tuberkulose in den Fällen 3 und 12 auf Rechnung der Schutzimpfung zu setzen, liegt nach meinem Dafürhalten kein zwingender Grund vor, da die Abheilung einer in der ersten Jugend erworbenen Lymphdrüsen-tuberkulose beim Rinde erfahrungsgemäß nicht selten spontan eintritt. Ebenso wenig halte ich mich berechtigt, die tuberkulösen Veränderungen im Falle 16, nur weil sie von geringem Umfange sind, als unerheblich aufzufassen.

Von Interesse ist endlich auch der vierte der durch Schlachtung ermittelten Fälle von lokaler Tuberkuloseerkrankung bei immunisierten Rindern (No. 1, Rind von 3 $\frac{1}{4}$  Jahren).

Dieses Tier wurde im Alter von 2 $\frac{1}{2}$  Monaten erstmalig geimpft und zeigte weder bei der ersten noch bei der zweiten Schutzimpfung eine beachtenswerte Reaktion (Reaktionsgrad 0 bzw. I). Seine weitere Entwicklung ließ nichts zu wünschen übrig. Die erste 1 $\frac{3}{4}$  Jahre nach Beendigung der Schutzimpfung vorgenommene Tuberkulinprobe fiel positiv aus, die zweite 1 Jahr später ausgeführte negativ. Bei der 14 Tage nach der letzten Tuberkulinprobe vorgenommenen Schlachtung wurde eine verhältnismäßig frische multiple tuberkulöse Bronchopneumonie nebst tuberkulöser Hyperplasie der bronchialen und mediastinalen Lymphdrüsen festgestellt. Auch in diesem Falle gewährte somit die rechtzeitig und vorschriftsmäßig ausgeführte Schutzimpfung gegen eine spätere tuberkulöse Infektion keinen ausreichenden Schutz.

Ueberblicken wir nach diesen Darlegungen noch einmal die 19 durch Sektion bzw. Schlachtung kontrollierten Immunisierungsfälle, so bleiben, selbst wenn wir in der rigorosesten Weise 6 Fälle (No. 2, 3, 4, 5, 11 und 12) ausscheiden, bei denen der Verdacht besteht, daß bereits zur Zeit der Schutzimpfung tuberkulöse Herderkrankungen vorhanden waren, doch noch 2 Fälle übrig, bei denen ein Versagen der rechtzeitig und vorschriftsmäßig ausgeführten Schutzimpfung einwandsfrei auch durch die Obduktion bestätigt worden

ist. Wir entnehmen den Obduktionsbefunden weiterhin die Tatsache, daß ein allerdings erst im Alter von 8 Monaten Schutzgeimpftes, aber auf Tuberkulin nicht reagierendes Rind trotz der Schutzimpfung an ausgebreiteter generalisierter Tuberkulose zu Grunde gegangen ist, und endlich die Erfahrung, daß bei Ausführung der Schutzimpfung bereits vorhandene tuberkulöse Herderkrankungen sicher nicht immer im Sinne einer Heilung günstig beeinflußt, eventuell sogar im Sinne einer Beschleunigung des tuberkulösen Prozesses, d. h. ungünstig beeinflußt werden.

Es sprechen demnach weder die Ergebnisse der Tuberkulinprobe bei den Schutzgeimpften Rindern noch die bis jetzt bei verendeten oder geschlachteten immunisierten Rindern ermittelten Obduktionsbefunde dafür, daß es gelingen wird, mit Hilfe des v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfungsverfahrens allein die Ausbreitung der Tuberkulose in stark verseuchten Rinderbeständen wirksam zu bekämpfen.

### **Schlußbetrachtung.**

Weder die Ergebnisse des verstärkten natürlichen Infektionsversuches noch die Erfahrung bei der Kontrolle der in der Praxis zur Durchführung gelangten Immunisierungen berechtigen zu der Annahme, daß den Rindern durch das v. Behringsche Tuberkuloseschutzimpfungsverfahren ein ausreichender Schutz gegen die natürliche Tuberkuloseansteckung verliehen wird.

Es ist möglich, daß bei den Schutzgeimpften Tieren eine gewisse Zeit hindurch eine erhöhte Widerstandsfähigkeit auch gegenüber der natürlichen Ansteckung besteht (vergl. den Ausfall der Tuberkulinprobe am Ende der ersten Infektionsperiode im verstärkten natürlichen Infektionsversuch). Zweifellos aber reicht dieser Impfschutz in der überwiegenden Zahl der Fälle bei fortgesetzter oder in längeren Pausen wiederholt eintretender natürlicher Infektionsgefahr nicht aus, um die Impflinge vor den Folgen der Ansteckung zu bewahren.

Es erscheint daher aussichtslos, mit Hilfe des Schutzimpfungsverfahrens allein die Rindertuberkulose in stark verseuchten Beständen zu bekämpfen.

Weitere Beobachtungen in der Praxis müssen lehren, inwieweit das Schutzimpfungsverfahren als Hilfsmittel im Verein mit anderen auf die Verminderung der Ansteckungsgefahr hinzielenden Maßnahmen (Ausmerzungen der mit offener Tuberkulose behafteten Tiere, Aufzucht der Kälber mit pasteurisierter Milch oder mit der Milch notorisch gesunder Kühe [Ammenmilch], Wiedereinführung des Weideganges in den verseuchten Beständen zum mindesten für das Jungvieh etc.) im Stande ist, in dem schweren und mühseligen Kampfe gegen die Rindertuberkulose gute Dienste zu leisten.

### **Anhang.**

#### **A. Uebersicht über die in der Praxis ausgeführten Schutzimpfungen.**

##### **Versuchsgut I.**

Zuchtwirtschaft mit Molkereibetrieb in der Altmark; Weidegang von April bis Oktober; kein Zukauf. Die Kälber werden getrennt von der Mutter in einer besonderen Jungviehstalle aufgezogen und erhalten in den ersten 4 Wochen rohe Voll-

milch, dann abgekochte Magermilch unter Zusatz von etwas roher Vollmilch. Tiere, die nicht in der eigenen Wirtschaft Verwendung finden, werden zur Zucht weiter verkauft.

Zu Beginn der Schutzimpfung (Januar 1904) waren im Kuhstalle und im Jungviehstalle insgesamt 46 Rinder (sämtlich Ostfriesen) vorhanden, nämlich: 1 Bulle von 2 $\frac{1}{2}$  Jahren, 6 Kühe von 5—8 Jahren, 15 Kühe von 3—4 Jahren, 10 Kühe bezw. hochtragende Färsen von 2 $\frac{1}{4}$ —2 $\frac{1}{2}$  Jahren, 2 Ochsen von 2 $\frac{1}{4}$  Jahren, 8 Jungrinder von 7—12 Monaten und 4 Stück Jungvieh von 1—4 Monaten. Mit Ausnahme der 4 Stück Jungvieh im Alter von 1—4 Monaten, welche sofort immunisiert werden sollten, wurden sämtliche 42 über 6 Monate alten Rinder der Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 26 = 61,9 Proz.

Nach dem Standplatze geordnet, entfielen auf die 27 Insassen des Kuhstalles 24 = 88,9 Proz. und auf die 15 Insassen des Jungviehstalles 2 = 13,3 Proz. reagierende Tiere, ein Beweis, daß die Tuberkulose in der überwiegenden Zahl der Fälle erst nach Ueberführung der hochtragenden Rinder in den Kuhstall und nach Beginn der vollen wirtschaftlichen Ausnützung manifest wird.

### Versuchsgut II.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse auf dem zweiten Gute, welches dem erstgenannten benachbart ist und, abgesehen von dem etwas kleineren Viehbestande, im Wirtschaftsbetriebe und in der Kälberaufzucht die gleichen Verhältnisse bietet. Eine kleine Abweichung besteht jedoch insofern, als die Kälber auf diesem Gute zunächst einige Wochen in einer besonderen Abteilung des gemeinschaftlichen Kuhstalles verbleiben und dann erst in den Jungviehstall übergeführt werden.

Zu Beginn der Schutzimpfung (Januar 1904) waren im Kuhstalle und im Jungviehstalle dieses Gutes insgesamt 27 Rinder (sämtlich Ostfriesen) vorhanden, nämlich: 1 Bulle von 2 Jahren, 1 Kuh von 15 Jahren, 4 Kühe von 5—9 Jahren, 11 Kühe von 3—4 Jahren, 8 Jungrinder von 6—18 Monaten und 2 Stück Jungvieh von 2—3 Monaten. Mit Ausnahme der 2 Stück Jungvieh im Alter von 2—3 Monaten, welche sofort immunisiert werden sollten, wurden sämtliche 25 über 6 Monate alten Rinder der Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 15 = 60 Proz.

Nach dem Standplatze geordnet, entfielen auf die 17 Insassen des Kuhstalles 11 = 64,7 Proz. und auf die 8 Insassen des Jungviehstalles 3 = 37,5 Proz. reagierende Tiere. Gruppieren wir den gesamten Viehbestand nach Altersklassen, so reagierten von den 6 bis 18 Monate alten Jungrindern 37,5 Proz., von den Erstlingskühen im Alter bis zu 3 Jahren 40 Proz. und von allen über 3 Jahre alten Kühen 81,8 Proz. Auch diese Zusammenstellung zeigt die rapide Zunahme der Tuberkulose nach Beginn der vollen wirtschaftlichen Ausnützung und Uebersiedelung in den stark verseuchten allgemeinen Kuhstall.

Nachdem in dieser Weise über die Höhe der Infektionsgefahr in beiden Viehbeständen mit Hilfe der Tuberkulinprobe brauchbare Anhaltspunkte gewonnen waren, wurde die Immunisierung des gesamten Nachwuchses mit Bovovaccin nach der v. Behringschen Methode 3 Jahre lang konsequent durchgeführt und alsdann erneut eine Prüfung der beiden Rinderbestände mit Hilfe des Tuberkulins vorgenommen. Zur Vermeidung unnötiger Wiederholungen und zur Erlangung größerer Vergleichswerte sind die Zahlen für beide Güter zusammengezogen.

Insgesamt wurden auf beiden Versuchsgütern in den Jahren 1904—1906 63 Kälber (Versuchsgut I: 36, Versuchsgut II: 27) immunisiert, und zwar fand die erste Schutzimpfung statt:

bei 10 Tieren im Alter bis zu 1 Monat	
„ 26 „ „ „ „ „ 2 Monaten	
„ 23 „ „ „ „ „ 3 „	
„ 4 „ „ „ „ „ 4 „ <sup>1)</sup>	

3 Kälber starben vor Ausführung der zweiten, bekanntlich 3 Monate nach der ersten auszuführenden Impfung (2 an Darmentzündung, 1 an Lungenentzündung), so daß bei insgesamt 60 Rindern die Immunisierung vorschriftsmäßig zu Ende geführt werden konnte.

20 Rinder zeigten bei der ersten Schutzimpfung keinerlei Reaktion, 26 Rinder den Reaktionsgrad I und 17 den Reaktionsgrad II.

Im Februar 1906 (2 Jahre nach Beginn der Schutzimpfungen) wurde erstmalig versuchsweise bei 11 immunisierten Rindern, bei denen 1 Jahr und darüber nach der

1) Nur bei den ersten Schutzimpfungen haben wir, dem Wunsche der Besitzer entsprechend, auch über 3 Monate alte Tiere geimpft.

letzten Immunisierung verflossen war, die Tuberkulinprobe vorgenommen. Es reagierten 5 = 45,5 Proz., während von 17 immunisierten Rindern, bei denen weniger als 1 Jahr nach der letzten Immunisierung verflossen war, 12 = 70,6 Proz. eine positive Reaktion zeigten.

Im Februar 1907 (3 Jahre nach Beginn der Schutzimpfungen) waren von den 60 vorschriftsmäßig immunisierten Rindern insgesamt noch 41 Stück auf den beiden Gütern vorhanden (Versuchsgut I: 24, Versuchsgut II: 17). 14 Rinder waren zum Teil schon in jugendlichem Alter zur Zucht bezw. als fett an den Fleischer weiter verkauft. Ueber das weitere Verhalten bezw. den Schlachtbefund bei diesen Rindern war nichts zu ermitteln. 2 Rinder waren zu Versuchszwecken vom Veterinärinstitut angekauft. Das eine fand als Rind 23 beim verstärkten natürlichen Infektionsversuche Verwendung, das andere wurde im Leipziger Schlachthofe geschlachtet (Fall 3 der Obduktionsbefunde). 3 Rinder waren wegen Verdachtes der Tuberkulose von den Besitzern selbst geschlachtet (Versuchsgut I: 1, Versuchsgut II: 2). Das Fleisch mußte bei allen 3 Rindern wegen generalisierter Tuberkulose verworfen werden. In 2 Fällen wurde der Befund im Veterinärinstitute nachgeprüft und bestätigt (Fälle 2, 4 und 5 der Obduktionsbefunde).

Am 12. Februar 1907 wurden die noch vorhandenen 41 vorschriftsmäßig immunisierten Rinder, von denen 11 bereits über 2 Jahre alt geworden und in den Kuhstall eingestellt waren, der Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 15 = 36,6 Proz. Auf die verschiedenen Altersklassen verteilen sich die reagierenden Tiere, wie folgt:

von 11 Rindern im Alter von 2—3 $\frac{1}{2}$ Jahren reagierten 7 = 63,6 Proz.
„ 12 „ „ „ 1 $\frac{1}{2}$ —2 „ „ 5 = 41,7 „
„ 18 „ „ „ 3 $\frac{1}{4}$ —1 $\frac{1}{2}$ „ „ 3 = 16,6 „

Bei 24 Rindern war mindestens 1 Jahr nach der zweiten Immunisierung verflossen. Unter ihnen befanden sich 13 = 54,2 Proz. reagierende Tiere. Bei 17 Rindern waren erst 5—9 Monate nach der zweiten Immunisierung verflossen. Unter ihnen befanden sich 2 = 11,8 Proz. reagierende Tiere.

Gleichzeitig mit den 41 vorschriftsmäßig immunisierten Rindern wurden auch die auf beiden Gütern noch vorhandenen 24 (Versuchsgut I: 13, Versuchsgut II: 11) aus den alten Beständen zurückbehaltenen, nicht immunisierten Rinder einer Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 21 = 87,5 Proz.

Während also zu Beginn der Schutzimpfung auf beiden Gütern insgesamt 67 über 6 Monate alte Rinder mit 41 = 61,2 Proz. reagierenden Tieren vorhanden waren, ergab sich nach 3-jähriger konsequenter Durchführung des Schutzimpfungsverfahrens ein Viehbestand von 65 Rindern mit 36 = 55,4 Proz. reagierenden Tieren, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß erst etwas mehr als die Hälfte des alten verseuchten Bestandes durch immunisierte Tiere ersetzt werden konnte. Bei Versuchsgut I ging die nach den gleichen Gesichtspunkten berechnete Tuberkuloseverseuchung von 61,9 Proz. auf 54 Proz., bei Versuchsgut II von 60 Proz. auf 57,1 Proz. zurück.

Nach der letzten Tuberkulinprobe wurde noch ein Rind vom Veterinärinstitute angekauft und bei der auf dem Leipziger Schlachthofe vorgenommenen Schlachtung tuberkulös befunden (Fall 1 der Obduktionsbefunde).

### Versuchsgut III.

Milchwirtschaft im Königreich Sachsen (Amtshauptmannschaft Grimma) mit eigener Nachzucht und beschränktem Zukauf; Weidegang nur für das Jungvieh von Mai bis Oktober. Die Kälber saugen 4 Wochen an der Mutter und erhalten dann nach Ueberführung in den Jungviehstall pasteurisierte Magermilch. Erst kurz vor dem Kalben werden die jungen Rinder wieder in den Kuhstall eingestellt.

Zu Beginn der Schutzimpfung (Mai 1904) waren auf dem Gute insgesamt 53 Rinder (Oldenburger und Ostfriesen) vorhanden, nämlich 3 Bullen von 2—2 $\frac{1}{2}$  Jahren, 26 Kühe von 9—12 Jahren, 16 Kühe von 4—8 Jahren, 4 Jungrinder von 1 Jahre und 4 Stück Jungvieh von 10 Wochen.

Sämtliche Tiere wurden mit Tuberkulin geprüft. Es reagierten 36 = 67,9 Proz. des gesamten Bestandes. Sämtliche reagierende Tiere standen im Kuhstalle. Der Prozentsatz der reagierenden Tiere in diesem Stalle betrug somit 80. Von den 8 Insassen des Jungviehstalles reagierte keines.

Auf Wunsch des Besitzers wurden versuchsweise auch einige ältere, zur schnelleren Ergänzung des Bestandes angekaufte Jungrinder, welche bei der 5 bzw. 6 Wochen nach dem Ankauf ausgeführten Tuberkulinprobe nicht reagiert hatten, immunisiert. Im übrigen wurden die Schutzimpfungen stets möglichst frühzeitig ausgeführt.

Insgesamt wurden von Mai 1904 bis November 1906 40 Rinder mit Bovovaccin immunisiert, und zwar fand die erste Schutzimpfung statt:

	bei 3 Tieren im Alter bis zu	1 Monat
" 15	" " " " "	2 Monaten
" 10	" " " " "	3 "
" 1	" " " " "	5 "
" 5	" " " " "	7 "
" 2	" " " " "	8 "
" 4	" " " " "	12 "

Bei 2 Tieren fand die zweite Impfung wegen mangelhafter Entwicklung der Impflinge auf Wunsch des Besitzers erst 6 Monate nach der ersten Impfung statt, sonst wurde das Schutzimpfungsverfahren bei sämtlichen Impflingen genau nach der Vorschrift durchgeführt.

25 Rinder zeigten bei der ersten Schutzimpfung keine Reaktion, 7 Rinder den Reaktionsgrad I, 7 Rinder den Reaktionsgrad II und ein Rind den Reaktionsgrad III.

Ende November bzw. Anfang Dezember 1906 ( $2\frac{1}{2}$  Jahre nach Beginn der Schutzimpfung) waren von den 40 immunisierten Rindern noch 37 vorhanden. 2 Rinder waren verkauft, ohne daß über das spätere Schicksal dieser Tiere Näheres zu ermitteln war, und 1 Rind, welches nach der ersten Schutzimpfung anhaltend hohe Atemfrequenz gezeigt hatte und in der Entwicklung zurückgeblieben war, hatte das Veterinärinstitut zu Versuchszwecken angekauft. Es erwies sich bei der später vorgenommenen Schlachtung gesund (Fall 6 der Obduktionsbefunde).

Die noch vorhandenen 37 immunisierten Rinder, von denen 10 über 2 Jahre alt geworden und in den Kuhstall eingestellt waren, wurden am 9. Nov. bzw. 14. Dez. 1906 einer Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 16 = 43,2 Proz. Auf die verschiedenen Altersklassen verteilten sich die reagierenden Tiere, wie folgt:

von 10 Rindern im Alter von 2—3 Jahren reagierten 7 = 70 Proz.

" 12 " " " "  $1\frac{1}{2}$ —2 " " 2 = 16,7 "

" 15 " " " "  $1\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$  " " 7 = 46,7 "

Bei 22 Rindern war mindestens ein Jahr nach der zweiten Immunisierung verflossen. Unter ihnen befanden sich 8 = 36,4 Proz. reagierende Tiere. Bei 15 Rindern waren erst 2—8 Monate nach der zweiten Impfung verflossen. Von diesen reagierten 8 = 53,3 Proz.

13 Rinder waren vor der Schutzimpfung mit Tuberkulin geprüft und hatten keine Reaktion gezeigt. Von diesen befanden sich

4 im Alter von 12 Monaten

2 " " " 8 "

5 " " " 7 "

2 " " " 1 Monat

Von diesen 13 vorgeprüften Rindern reagierten 7 = 53,8 Proz. Bei 6 reagierenden Rindern war mehr als 1 Jahr nach der zweiten Impfung vergangen.

Ein im Alter von 8 Monaten nach negativem Ausfall der Tuberkulinprobe erstmalig schutzgeimpftes Rind, welches bei der  $1\frac{1}{2}$  Jahre nach der letzten Impfung vorgenommenen Tuberkulinprobe reagierte, zeigte 2 Monate später offensichtliche Erscheinungen der Tuberkulose. Es wurde vom Veterinärinstitut angekauft und verendete daselbst an generalisierter Tuberkulose (Fall 7 der Obduktionsbefunde). Es hat sich hiernach die Immunisierung älterer Rinder auch dann, wenn die Vorprüfung mit Tuberkulin negativ ausfällt, nicht bewährt. Hierdurch erklärt sich auch der auffallend hohe Prozentsatz reagierender Tiere (70 Proz.) unter den im Alter von 2— $3\frac{1}{2}$  Jahren geprüften Rindern im Vergleich zu dem niedrigen Prozentsatze (16,7 Proz.) bei den im Alter von  $1\frac{1}{2}$ —2 Jahren geprüften Tieren, denn unter den im Alter von 2 bis  $3\frac{1}{2}$  Jahren geprüften Rindern befanden sich 4 im Alter von einem Jahre und 2 im Alter von 8 Monaten erstmalig schutzgeimpfte Tiere, welche bei der späteren Tuberkulinprobe sämtlich eine positive Reaktion ergaben, obwohl sie bei der Vorprüfung mit Tuberkulin reaktionsfrei befunden waren.

#### Versuchsgut IV.

Milchwirtschaft im Königreich Sachsen (Amtshauptmannschaft Grimma) mit eigener Nachzucht; Zukauf nur vereinzelt; dauernde Stallhaltung; auch für das Jungvieh kein Weidegang. Die Kälber saugen 3 Wochen an der Mutter und erhalten dann rohe Magermilch mit Vollmilch vermischt. Ein besonderer Jungviehstall ist nicht vorhanden.

Zu Beginn der Schutzimpfung (Mai 1904) waren insgesamt 18 Rinder (Ostfriesen) vorhanden, nämlich: 1 Bulle von  $1\frac{1}{2}$  Jahren, 4 Kühe von 4—8 Jahren, 6 Kühe von  $2\frac{1}{2}$ —3 Jahren, und 7 Stück Jungvieh von 4 Monaten bis 2 Jahren. Sämtliche 18 Rinder wurden der Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 7 = 38,9 Proz. Auf die einzelnen Altersklassen verteilen sich die reagierenden Tiere derart, daß von den bis 2 Jahre alten Rindern (1 Bulle, 7 Stück Jungvieh) kein einziges, dagegen von den 10 über 2 Jahre alten Rindern 7 = 70 Proz. reagierten.

Auf Wunsch des Besitzers wurden auch die älteren, nicht reagierenden Jungrinder immunisiert. Insgesamt wurden von Mai 1904 bis November 1906 19 Rinder mit Bovovaccin geimpft und zwar fand die erste Schutzimpfung statt:

bei 2 Tieren im Alter bis zu 1 Monat
„ 4 „ „ „ „ 2 Monaten
„ 4 „ „ „ „ 3 „
„ 4 „ „ „ „ 4 „
„ 2 „ „ „ „ 9 „
„ 1 „ „ „ von 1 Jahre
„ 1 „ „ „ „ 1½ Jahren
„ 1 „ „ „ „ 2 „

Die zweite Schutzimpfung wurde bei sämtlichen Impflingen 3 Monate nach der ersten ausgeführt.

14 Rinder zeigten bei der ersten Schutzimpfung keine Reaktion, 3 Rinder den Reaktionsgrad I, ein Rind den Reaktionsgrad II und ein Rind den Reaktionsgrad III.

Mitte November 1906 (2½ Jahre nach Beginn der Schutzimpfung) waren von den 19 schutzgeimpften Rindern noch 16 auf dem Versuchsgute vorhanden. 3 Rinder waren zum Schlachten verkauft. Sie erwiesen sich, wie die genaue tierärztliche Untersuchung ergab, frei von tuberkulösen Veränderungen (Fall 8, 9 und 10 der Obduktionsbefunde). Die noch vorhandenen 16 schutzgeimpften Rinder wurden am 14. Nov. 1906 einer Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierte 1 = 6,25 Proz. Von den mit Tuberkulin geprüften Rindern waren

3 Rinder 3½—4½ Jahre alt
5 „ 2—3½ „ „
2 „ 1½—2 „ „
6 „ ¾—1½ „ „

Das einzige reagierende Rind war 2 Jahre 1 Monat alt. Bei 10 Rindern waren mindestens 1 Jahr nach der letzten Schutzimpfung verflossen. Unter ihnen befand sich 1 reagierendes Tier = 10 Proz. Bei 6 Rindern waren erst 5—9 Monate nach der zweiten Impfung verflossen. Von diesen reagierte keins. Bei dem einzigen reagierenden Tiere waren 1½ Jahre nach der letzten Schutzimpfung verflossen.

5 Rinder waren vor der Schutzimpfung mit Tuberkulin geprüft und hatten keine Reaktion gezeigt, von diesen befanden sich:

1 Tier im Alter von 2 Jahren
1 „ „ „ „ 1½ „
1 „ „ „ „ 1 „
1 „ „ „ „ ¾ „
1 „ „ „ „ 3 Monaten

Von diesen 5 vorgeprüften Rindern reagierte keins.

Da bei keinem der älteren reagierenden Tiere offensichtliche Erscheinungen der Tuberkulose aufgetreten waren, und der Besitzer seinen Viehbestand gern vergrößern wollte, so hatte er die älteren Rinder fast sämtlich noch im Stalle behalten. Sein Viehbestand war infolgedessen auf 29 Haupt angewachsen, nämlich 16 immunisierte und 13 ältere, nicht immunisierte Rinder. Bei der am 10. Febr. 1907 ausgeführten Tuberkulinprüfung des gesamten Bestandes reagierten nun von den 13 älteren, nicht immunisierten Rindern 9 = 69,3 Proz., während von den 16 immunisierten Rindern wiederum nur das eine oben erwähnte eine positive Reaktion zeigte. Das reagierende Tier wurde vom Veterinärinstitut angekauft und geschlachtet. Es zeigte ausgebreitete tuberkulöse Veränderungen (Fall 11 der Obduktionsbefunde).

#### Versuchsgut V.

Milchwirtschaft im K. Sachsen (Amtshauptmannschaft Grimma) mit eigener Nachzucht und Zukauf; dauernde Stallhaltung; auch für das Jungvieh kein Weidegang. Die Kälber erhalten 10 Wochen lang rohe Vollmilch (Mischmilch). Ein besonderer Jungviehstall ist nicht vorhanden.

Zu Beginn der Schutzimpfung (März 1905) waren 45 Rinder (Ostfriesen, Ostpreußen) auf dem Gute vorhanden, nämlich: 2 Bullen von 2—2½ Jahren, 15 Kühe von 5—8 Jahren, 4 Kühe von 2½—4 Jahren, 16 Jungrinder von 1—2 Jahren, 8 Stück Jungvieh von 1—4½ Monaten. Mit Ausnahme der 8 Stück Jungvieh im Alter von 1—4½ Monaten, welche immunisiert werden sollten, wurden sämtliche Rinder (37 St.) einer Tuberkulinprobe unterworfen. Mit Ausnahme eines einzigen 1¼ Jahre alten Jungrindes reagierten alle Tiere = 97,3 Proz.

Insgesamt wurden von März 1905 bis November 1906 17 Rinder mit Bovovaccin geimpft, und zwar fand die erste Schutzimpfung statt:

bei 7 Tieren im Alter bis zu 1 Monat	
„ 3 „ „ „ „ „ 2 Monaten	
„ 2 „ „ „ „ „ 3 „	
„ 4 „ „ „ „ „ 4 „	
„ 1 „ „ „ „ „ 5 „	

Die zweite Impfung wurde bei sämtlichen Impflingen 3 Monate nach der ersten ausgeführt.

5 Rinder zeigten bei der ersten Schutzimpfung keine Reaktion, 4 Rinder den Reaktionsgrad I, 4 Rinder den Reaktionsgrad II und 4 Rinder den Reaktionsgrad III.

Im November 1906 (1 Jahr 8 Monate nach Beginn der Schutzimpfung) waren von den 17 schutzgeimpften Rindern noch 14 auf dem Gute vorhanden. 3 Rinder waren wegen Knochenbrüchigkeit geschlachtet. Sie erwiesen sich, wie die eingehende tierärztliche Untersuchung ergeben hat, frei von tuberkulösen Veränderungen (Fall 13, 14 und 15 der Obduktionsbefunde). Die noch vorhandenen 14 schutzgeimpften Rinder wurden am 12. Nov. 1906 einer Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 8 = 57,1 Proz.

Auf die verschiedenen Altersklassen verteilten sich die reagierenden Tiere, wie folgt:

von 10 Rindern im Alter von  $1\frac{1}{2}$ —2 Jahren reagierten 7 = 70 Proz.

von 4 „ „ „ „ „  $1\frac{1}{2}$ —1 „ „ 1 = 25 „

Bei den zuerst erwähnten 10 Rindern war mindestens 1 Jahr nach der zweiten Schutzimpfung verflossen.

2 Rinder wurden inzwischen nach Ausführung der Tuberkulinprobe geschlachtet. Beide hatten umschriebene, zum Teil in Verkalkung begriffene tuberkulöse Herde in den Bronchialdrüsen (Fall 12 und 16 der Obduktionsbefunde).

#### Versuchsgut VI.

Milchwirtschaft im K. Sachsen (Amtshauptmannschaft Borna) mit eigener Nachzucht und Zukauf; dauernde Stallhaltung; Tummelplatz für das Jungvieh, aber kein Weidegang. Die Kälber saugen 3 Wochen an der Mutter und erhalten dann rohe Magermilch mit Vollmilch vermischt. Ein besonderer Jungviehstall ist nicht vorhanden.

Zu Beginn der Schutzimpfung (April 1905) waren 54 Rinder (Oldenburger, Ostfriesen) auf dem Gute vorhanden, nämlich: 2 Bullen von 2— $2\frac{1}{2}$  Jahren, 15 Kühe von 4—9 Jahren, 14 Kühe von  $2\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$  Jahren, 16 Jungrinder von  $\frac{1}{2}$ —2 Jahren und 7 Stück Jungvieh von  $\frac{1}{2}$ —3 Monaten. Mit Ausnahme der 7 Stück Jungvieh im Alter von  $\frac{1}{2}$ —3 Monaten, welche sofort immunisiert werden sollten, wurden sämtliche Rinder (47 St.) der Tuberkulinprobe unterworfen. Alle Tiere reagierten.

Insgesamt wurden von April 1905 bis November 1906 23 Rinder mit Bovovaccin immunisiert, und zwar fand die erste Schutzimpfung statt:

bei 3 Tieren im Alter bis zu 1 Monat	
„ 7 „ „ „ „ „ 2 Monaten	
„ 10 „ „ „ „ „ 3 „	
„ 2 „ „ „ „ „ 4 „	
„ 1 „ „ „ „ „ 5 „	

Die zweite Schutzimpfung fand bei sämtlichen Impflingen vorschrittmäßig 3 Monate nach der ersten statt.

5 Rinder zeigten bei der ersten Schutzimpfung keine Reaktion, 10 Rinder den Reaktionsgrad I und 8 Rinder den Reaktionsgrad II.

Im November 1906 (1 Jahr 7 Monate nach Beginn der Schutzimpfung) waren von den 23 schutzgeimpften Rindern noch 22 vorhanden. 1 Rind, welches nach Meinung des Besitzers infolge der Schutzimpfung kümmerete, wurde vom Veterinärinstitut angekauft und später geschlachtet. Es zeigte sich völlig frei von Tuberkulose (Fall 17 der Obduktionsbefunde). Als Ursache der mangelhaften Entwicklung wurde ein doppel-faustgroßer Absceß in der rechten Lendengegend ermittelt (Nabelinfektion).

Die noch vorhandenen 22 schutzgeimpften Rinder wurden am 7. Nov. 1906 der Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 11 = 50 Proz. Auf die verschiedenen Altersklassen verteilten sich die reagierenden Tiere, wie folgt:

von 7 Rindern im Alter von  $1\frac{1}{2}$ —2 Jahren reagierten 5 = 71,4 Proz.

„ 9 „ „ „ „ 1— $1\frac{1}{2}$  „ „ 4 = 44,4 „

„ 6 „ „ „ „  $\frac{1}{2}$ —1 „ „ 2 = 33,3 „

Bei 7 Rindern war mindestens 1 Jahr nach der letzten Schutzimpfung verflossen. Von diesen reagierten 5 = 71,4 Proz. Bei 15 Rindern waren erst 2—9 Monate nach der letzten Impfung vergangen. Von diesen reagierten 6 = 40 Proz.

#### Versuchsgut VII.

Milchwirtschaft im Kgr. Sachsen (Amtshauptmannschaft Leipzig), mit eigener Nachzucht; dauernde Stallhaltung; Weidegang nur für das Jungvieh, welches auf einem Vorwerke aufgezogen wird. Die Kälber saugen 3 Wochen an der Mutter und erhalten



dann rohe Magermilch mit Vollmilch vermischt. Die hochtragenden Kühe werden zum Abkalben in das Vorwerk für das Jungvieh eingestellt.

Zu Beginn der Schutzimpfung (April 1905) waren im gemeinsamen Kuhstalle des Hauptgutes 79 Rinder vorhanden, nämlich: 4 Bullen von  $1\frac{1}{2}$ –3 Jahren und 75 Kühe von 3–8 Jahren. Bei der Tuberkulinprobe reagierten 77 = 97,5 Proz. Im Jungviehstalle des Vorwerks standen 50 Stück Jungvieh im Alter bis zu  $2\frac{1}{2}$  Jahren, bei denen eine Tuberkulinprobe leider nicht ausgeführt werden konnte.

Insgesamt wurden von April 1905 bis November 1906 31 Rinder mit Bovovaccin immunisiert und zwar fand die erste Schutzimpfung statt:

bei 11 Tieren im Alter bis zu 1 Monat,  
 „ 10 „ „ „ „ „ 2 Monaten,  
 „ 10 „ „ „ „ „ 3 „

6 Kälber starben vor Ausführung der zweiten Impfung (5 an Darmentzündung, 1 an Pneumonie), so daß bei 25 Rindern die Schutzimpfung ordnungsmäßig zu Ende geführt wurde. 16 Rinder zeigten bei der ersten Schutzimpfung keine Reaktion, 10 Rinder den Reaktionsgrad I und 5 Rinder den Reaktionsgrad II.

Im November 1906 (1 Jahr 7 Monate nach Beginn der Schutzimpfung) waren von den 25 immunisierten Rindern noch 22 vorhanden. 1 Rind starb 2 Monate nach der zweiten Schutzimpfung an Darmentzündung. Tuberkulöse Veränderungen fanden sich bei der Sektion nicht vor (Fall 18 der Obduktionsbefunde). 2 Rinder wurden als gesund weiterverkauft. Von den noch vorhandenen 22 immunisierten Rindern wurden 18 am 8. Nov. 1906 mit Tuberkulin geprüft. Es reagierten 5 = 27,8 Proz. Bei 4 Rindern mußte die Tuberkulinprobe aus äußeren Gründen unterbleiben. Auf die verschiedenen Altersklassen verteilten sich die reagierenden Tiere, wie folgt:

von 6 Rindern im Alter von  $1\frac{1}{2}$ –2 Jahren reagierten 3 = 50 Proz.  
 „ 7 „ „ „ „  $1-1\frac{1}{2}$  „ „ 0 = 0 „  
 „ 5 „ „ „ „  $\frac{1}{2}$ –1 Jahr „ 2 = 40 „

Bei 8 Rindern war mindestens 1 Jahr nach der zweiten Schutzimpfung verflossen. Unter ihnen befanden sich 3 = 37,5 Proz. reagierende Tiere. Bei 10 Rindern waren erst 2–8 Monate nach der zweiten Impfung vergangen. Unter ihnen reagierten 2 = 20 Proz.

### Versuchsgut VIII.

Milchwirtschaft im Kgr. Sachsen (Amtshauptmannschaft Borna) mit eigener Nachzucht; Weidegang nur für das Jungvieh, für welches ein besonderer Stall vorhanden ist.

Zu Beginn der Schutzimpfung (April 1905) waren 67 Rinder auf dem Gute vorhanden, nämlich: 3 Bullen von  $1\frac{1}{2}$ – $2\frac{1}{2}$  Jahren, 35 Kühe von  $2\frac{1}{2}$ –8 Jahren, 24 Jung-rinder von  $\frac{1}{4}$ – $1\frac{1}{4}$  Jahren und 5 Stück Jungvieh unter 3 Monaten. Es wurden zunächst die 24 über 3 Monate alten Jungrinder der Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 9 = 37,5 Proz. Die 15 nicht reagierenden Jungrinder und sämtliche 5 unter 3 Monate alten Kälber wurden mit Bovovaccin immunisiert, und zwar fand die erste Schutzimpfung statt:

bei 4 Tieren im Alter bis zu 1 Monat,  
 „ 1 „ „ „ „ „ 2 Monaten,  
 „ 8 „ „ „ „ „ 6 „  
 „ 7 „ „ „ „ „ 12 „

1 Rind starb an Leukämie, bevor die zweite Schutzimpfung vorgenommen werden konnte. Bei 19 Rindern wurde die Schutzimpfung vorschriftsmäßig zu Ende geführt. 19 Rinder zeigten bei der ersten Schutzimpfung keine Reaktion und 1 Rind den Reaktionsgrad I.

1 Rind starb 2 Monate nach der zweiten Schutzimpfung an eitriger Bronchitis und Bronchopneumonie. Die im Veterinärinstitut auf das sorgfältigste durchgeführte Untersuchung ergab, daß keinerlei tuberkulöse Veränderungen vorhanden waren. Sämtliche Impfversuche fielen negativ aus (Fall 19 der Obduktionsbefunde). Unter denselben Erscheinungen waren noch 2 nicht immunisierte Jungrinder erkrankt, von denen eins verendete und eins notgeschlachtet wurde. Bei der ebenfalls im Veterinärinstitute durchgeführten histologischen und bakteriologischen Untersuchung der Lungen dieser Tiere wurden die gleichen pathologischen Veränderungen (eitrige Bronchitis, Bronchopneumonie) wie oben festgestellt.

Da wir bei der weiteren Durchführung der Schutzimpfung seitens des Besitzers nicht das erforderliche Entgegenkommen fanden, wurden die Versuche abgebrochen.

## B. Uebersicht über die bis jetzt bei verendeten oder geschlachteten immunisierten Rindern ermittelten Obduktionsbefunde.

### Versuchsgut I. (3 Schlachtungen.)

Fall 1. Weibliches Rind (Ohrmarke No. 3) am 4. Jan. 1904 im Alter von 2 $\frac{1}{2}$  Monaten zum ersten Male (Reaktion 0), am 7. Mai 1904 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 8. Febr. 1906 positiv; am 12. Febr. 1907 negativ; vom Veterinärinstitut angekauft und am 28. Februar 1907, ca. 3 $\frac{1}{4}$  Jahre alt, auf dem Schlachthofe in Leipzig geschlachtet.

Sektionsergebnis. Vereinzelt nicht über walnußgroße verkäste tuberkulöse Herde in der Lunge, tuberkulöse Hyperplasie der mediastinalen und bronchialen Lymphdrüsen; Fleisch bankwürdig.

Fall 2. Männliches Rind (Ohrmarke No. 9) am 7. Mai 1905 im Alter von 6 Wochen zum ersten Male (Reaktion 0), am 25. Aug. 1904 zum zweiten Male (Reaktion II) schutzgeimpft; keine Tuberkulinprobe; wegen zunehmender Abmagerung und Verdachts der Tuberkulose am 12. Mai 1905, ca. 14 Monate alt, vom Besitzer geschlachtet.

Vom Fleischbeschauer wurde generalisierte Tuberkulose festgestellt; Fleisch gänzlich verworfen.

Fall 3. Männliches Rind (Ohrmarke No. 36) am 25. Aug. 1904 im Alter von 4 Monaten zum ersten Male (Reaktion II), am 17. Dez. 1904 zum zweiten Male (Reaktion II) schutzgeimpft; Ende November 1905 wegen angeblich mangelhafter Entwicklung vom Veterinärinstitut angekauft und sofort kastriert; zeigt keinerlei Krankheitserscheinungen und normale Gewichtszunahme; Tuberkulinprobe negativ; am 16. März 1906, ca. 2 Jahre alt, im Polizeischlachthause des Leipziger Schlachthofes geschlachtet.

Sektionsergebnis: Eine erbsengroße und mehrere stecknadelkopfgroße Kalkeinlagerungen in einer Mesenteriallymphdrüse, sonst frei von tuberkulösen Veränderungen. Fleisch bankwürdig. Zwei mit den Kalkkonkrementen subkutan infizierte Meerschweinchen starben 45 bzw. 77 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose.

### Versuchsgut II. (2 Schlachtungen.)

Fall 4. Weibliches Rind (Ohrmarke No. 11), am 7. Mai 1904 im Alter von 9 Wochen zum ersten Male (Reaktion I), am 25. Aug. 1904 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; keine Tuberkulinprobe; am 29. Sept. 1905, 1 Jahr 7 Monate alt, wegen zunehmender Abmagerung und Verdachts der Tuberkulose vom Besitzer notgeschlachtet.

Vom Fleischbeschauer wurde generalisierte Tuberkulose festgestellt; Fleisch gänzlich verworfen. Ein größeres Stück Lunge, ein Teil des Zwerchfells und ein Stück Leber wurden dem Veterinärinstitut übersandt. Die Untersuchung ergab ausgebreitete Serosentuberkulose sowie vereinzelt erbsen- bis bohnen große Tuberkel in der Lunge und zahlreiche linsengroße, meist verkalkte Tuberkel in der Leber. Ein mit einem Stück der erkrankten Lunge subkutan infiziertes Meerschweinchen starb 24 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose.

Fall 5. Weibliches Rind (Ohrmarke No. 64), am 25. März 1905 im Alter von 3 Monaten zum ersten Male (Reaktion II), am 24. Juni 1905 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; keine Tuberkulinprobe; am 29. Sept., 9 Monate alt wegen Verdachts der Tuberkulose vom Besitzer geschlachtet.

Vom Fleischbeschauer wurde generalisierte Tuberkulose festgestellt; Fleisch gänzlich verworfen. Ein Stück Lunge, ein Teil des Zwerchfells und ein Stück Leber wurden dem Veterinärinstitut übersandt. Die Untersuchung ergab ausgebreitete Serosentuberkulose, zahlreiche linsen- bis erbsengroße Tuberkel in der Lunge und zahlreiche kleinste zum Teil verkalkte Tuberkel in der Portaldrüse. Zwei mit Lungen- bzw. Portaldrüsenherden subkutan geimpfte Meerschweinchen starben 58 bzw. 38 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose.

### Versuchsgut III. (1 Sektion, 1 Schlachtung.)

Fall 6. Weibliches Rind (Ohrmarke No. 19); Tuberkulinprobe am 1. Mai 1904 negativ, am 14. Juni 1904 im Alter von 10 Wochen zum ersten Male (Reaktion III) schutzgeimpft; am 26. Nov. 1904 wegen mangelhafter Entwicklung vom Veterinärinstitut angekauft; Tuberkulinprobe am 29. Nov. 1904 negativ; am 16. Dez. 1904 zum

zweiten Male (Reaktion I), am 7. Jan. 1905 zum dritten Male (Reaktion I) mit der gleichen Dosis wie das zweite Male Schutzgeimpft; seit Frühjahr 1905 normale Gewichtszunahme; wiederholte Tuberkulinprobe stets negativ; am 16. März 1906 ca. 2 Jahre alt, im Polizeischlachthause des Leipziger Schlachthofes geschlachtet und völlig frei von tuberkulösen Veränderungen gefunden. Fleisch bankwürdig.

Fall 7. Weibliches Rind (Ohrmarke No. 45), Tuberkulinprobe am 20. Okt. 1904 negativ, am 7. Dez. 1904 im Alter von 8 Monaten zum ersten Male (Reaktion 0), am 29. März 1905 zum zweiten Male (Reaktion 0) Schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 9. Nov. 1906 positiv, desgleichen am 19. Febr. 1907. Seit Anfang Januar 1907 hat Besitzer Abmagerung und Scheidenausfluß beobachtet; am 19. Febr. 1907 wurde tuberkulöse Scheidenerkrankung, Lungen- und Eutertuberkulose festgestellt. Nach Ueberführung in das Veterinärinstitut stirbt das Rind am 1. März 1907, ca. 3 Jahre alt, unter zunehmender Atemnot und Herzschwäche.

Sektionsergebnis: Ausgebreitete Tuberkulose des Perikards, der Pleura und des Peritoneums; multiple käsige tuberkulöse Bronchopneumonie und tuberkulöse Hyperplasie der bronchialen und mediastinalen Lymphdrüsen mit ausgedehnter Verkäsung und Verkalkung; frische hypostatische Pneumonie; Tuberkulose der Gebärmutter, zahlreiche tuberkulöse Geschwüre in der Scheide, Eutertuberkulose.

#### Versuchsgut IV. (4 Schlachtungen.)

Fall 8. Männliches Rind (Ohrmarke No. 31), Tuberkulinprobe am 31. Mai 1904 negativ, am 14. Juni 1904 im Alter von 9 Monaten zum ersten Male (Reaktion 0), am 19. Okt. 1904 zum zweiten Male (Reaktion I) Schutzgeimpft; keine Tuberkulinprobe; am 13. Juli 1906, ca. 2 $\frac{3}{4}$  Jahre alt, zum Schlachten verkauft.

Die genaue tierärztliche Untersuchung ergibt, daß das Tier völlig frei von tuberkulösen Veränderungen ist.

Fall 9. Weibliches Rind (Ohrmarke No. 33), Tuberkulinprobe am 31. Mai 1904 negativ, am 14. Juni 1904 im Alter von 4 Monaten zum ersten Male (Reaktion I), am 19. Okt. 1904 zum zweiten Male (Reaktion I) Schutzgeimpft; keine Tuberkulinprobe; am 23. Aug. 1906, ca. 2 $\frac{1}{6}$  Jahre alt, zum Schlachten verkauft.

Die von uns selbst kontrollierte Schlachtung ergibt, daß das Tier völlig frei von tuberkulösen Veränderungen ist.

Fall 10. Männliches Rind (Ohrmarke No. 35), am 14. Juni 1904 im Alter von 2 Monaten zum ersten Male (Reaktion I), am 19. Okt. 1904 zum zweiten Male (Reaktion I) Schutzgeimpft; keine Tuberkulinprobe; am 3. Nov. 1906, ca. 2 $\frac{1}{2}$  Jahre alt, zum Schlachten verkauft.

Die von uns selbst kontrollierte Schlachtung ergibt, daß das Tier völlig frei von tuberkulösen Veränderungen ist.

Fall 11. Weibliches Rind (Ohrmarke No. 56), am 15. März 1905 im Alter von 4 Monaten zum ersten Male (Reaktion III), am 21. Juni 1905 zum zweiten Male (Reaktion 0) Schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 14. Nov. 1906 positiv, desgleichen am 20. Febr. 1907, vom Veterinärinstitut angekauft und am 1. März 1907, 2 $\frac{1}{4}$  Jahre alt, im Polizeischlachthause des Leipziger Schlachthofes geschlachtet.

Sektionsergebnis: Lobuläre käsige tuberkulöse Bronchopneumonie (2 haselnuß- bis walnußgroße Knoten); umfangreiche tuberkulöse Hyperplasie der bronchialen und mediastinalen Lymphdrüsen sowie der Brustbeindrüsen mit ausgedehnter Verkäsung und Verkalkung; embolische Milz- und Portaldrüsentuberkulose (ein einzelner erbsengroßer verkalkter Knoten in der Milz und einzelne hirsekorngroße käsige Herde in der Portaldrüse); Tuberkulose des Brustbeins (hühnereigroßer Erweichungsherd). Fleisch nach Entfernung der krankhaft veränderten Teile auf der Freibank verkauft. Ein mit einem linsengroßen Stück käsigen Materials aus dem Brustbein subkutan infiziertes Meerschweinchen stirbt 28 Tage nach der Infektion an generalisierter Tuberkulose.

#### Versuchsgut V. (5 Schlachtungen.)

Fall 12: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 52), am 15. März 1905 im Alter von 3 Monaten zum ersten Male (Reaktion III), am 21. Juni 1905 zum zweiten Male (Reaktion I) Schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 12. Nov. 1906 positiv; am 24. Dez. 1906 ca. 1 Jahr alt, wegen Lahmheit zum Schlachten verkauft.

Die von uns selbst kontrollierte Schlachtung ergibt: Bronchialdrüsentuberkulose (3 verkalkte erbsengroße Knötchen); sonst keine tuberkulösen Veränderungen; Fleisch bankwürdig.

Fall 13: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 134), am 4. Okt. 1905 im Alter von 8 Wochen zum ersten Male (Reaktion I), am 15. Febr. 1906 zum zweiten Male (Reak-

tion 0) schutzgeimpft; keine Tuberkulinprobe; März 1906, 8 Monate alt, wegen „Knochenweiche“ (Osteomalacie) geschlachtet.

Tierärztlich genau untersucht: frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 14: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 135), am 4. Okt. 1905 im Alter von 6 Wochen zum ersten Male (Reaktion I), am 15. Febr. 1906 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; keine Tuberkulinprobe; am 15. Juni 1906, 10 Monate alt, wegen „Knochenweiche“ geschlachtet.

Von uns selbst genau untersucht: frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 15: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 136), am 4. Okt. 1905 im Alter von 2 Wochen zum ersten Male (Reaktion 0), am 15. Febr. 1906 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; keine Tuberkulinprobe; am 15. Mai 1906, 9 Monate alt, wegen „Knochenweiche“ geschlachtet.

Von uns selbst untersucht: frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 16: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 219), am 6. Juni 1906 im Alter von 4 Wochen zum ersten Male (Reaktion 0), am 12. Sept. 1906 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 12. Nov. 1906 positiv, desgleichen am 25. Febr. 1907; vom Veterinärinstitut angekauft und am 1. März 1907, 10 Monate alt, im Polizeischlachthause des Leipziger Schlachthofes geschlachtet.

Sektionsergebnis: Bronchialdrüsentuberkulose (3 stecknadelkopfgroße und 1 linsengroßer käsiger Herd in der rechten oberen Bronchialdrüse). Fleisch zwar bankwürdig, aber mit Rücksicht darauf, daß nach der letzten Schutzimpfung noch nicht 9 Monate verflossen sind, in gekochtem Zustande auf der Freibank verkauft. Ein mit käsigem Material aus der erkrankten Bronchialdrüse subkutan infiziertes Meerschweinchen stirbt 36 Tage nach der Infektion an generalisierter, von der Impfstelle ausgehender Tuberkulose.

#### Versuchsgut VI. (1 Schlachtung.)

Fall 17: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 82), am 14. April 1905 im Alter von 2 Wochen zum ersten Male (Reaktion II), am 19. Juli 1905 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; wegen mangelhafter Entwicklung am 24. Nov. 1905 vom Veterinärinstitut angekauft; bis März 1906 3mal mit Tuberkulin geprüft, zeigt es 3mal positive, wenn auch wenig deutliche Reaktion; am 16. März 1906, ca. 1 Jahr alt, im Polizeischlachthause des Leipziger Schlachthofes geschlachtet.

Sektionsergebnis: Doppelfaustgroßer, mit übelriechendem Eiter prall gefüllter Absceß in der rechten Lendengegend (Nabelinfektion); keine tuberkulösen Veränderungen. Ein mit dem Absceßinhalt und Teilen der Absceßwand subkutan infiziertes Meerschweinchen wurde am 77. Tage nach der Infektion getötet und frei von Tuberkulose gefunden.

#### Versuchsgut VII. (1 Sektion.)

Fall 18: Männliches Rind (Ohrmarke No. 146), am 17. Okt. 1905 im Alter von 4 Wochen zum ersten Male (Reaktion I), am 1. März 1906 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; stirbt Mai 1906, 8 Monate alt, an Darmentzündung. Tuberkulöse Veränderungen wurden bei der Sektion nicht festgestellt.

#### Versuchsgut VIII. (1 Sektion.)

Fall 19: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 100), am 17. Mai 1905 im Alter von 4 Wochen zum ersten Male (Reaktion 0), am 7. Sept. 1905 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; erkrankt im Oktober 1905 unter den Erscheinungen der Bronchitis; stirbt am 18. Nov. 1905, 7 Monate alt.

Die im Veterinärinstitute ausgeführte Sektion ergibt: eitrige Bronchitis und Bronchopneumonie; keine tuberkulösen Veränderungen. Zwei mit Teilen der erkrankten Lunge subkutan infizierte Meerschweinchen wurden 59 Tage nach der Infektion getötet und frei von Tuberkulose gefunden.

Die vorstehend mitgeteilten umfassenden Versuche konnten nur unter Aufwendung ganz erheblicher Geldmittel zu Ende geführt werden. Es ist mir ein Bedürfnis, der Hohen Ständeversammlung und dem Königlichen Kultusministerium für die Bereitstellung dieser Mittel, sowie der Leipziger Oekonomischen Sozietät, welche in richtiger Würdigung der hohen Bedeutung dieser Versuche für die Land-

wirtschaft wiederum einen erheblichen Beitrag zu den Unkosten gespendet hat, meinen Dank auch an dieser Stelle auszusprechen.

Die Durchführung der Versuche hat aber auch an die Arbeitskraft meiner Mitarbeiter, der Herren Dr. Morgenstern, während der Jahre 1903 und 1904, und Dr. Fischer, während der Jahre 1905 und 1906, ganz erhebliche Anforderungen gestellt. Ich bin diesen Herren für das rege Interesse, mit dem sie den Versuchen stets gefolgt sind, und für die mühselige Kleinarbeit, die sie dabei vollbracht haben, zu besonderem Danke verpflichtet.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere Untersuchungen über die Züchtung von obligatorischen Anaëroben in aërober Weise.

[Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Jagiellonischen Universität in Krakau. Direktor: Prof. K. v. Klecki.]

Von **Adam Wrzosek.**

### I. Einleitung.

Vor einigen Jahrzehnten hat Pasteur, wie bekannt, die wichtige Entdeckung gemacht, daß es Mikroben gibt, welche in sauerstoffleeren Mitteln leben und sich vermehren können. Für diese Mikroben, Anaëroben genannt, ist der Sauerstoff sogar gleichsam ein Gift.

Pasteurs Entdeckung wurde von Nencki, Lachowicz u. A. vollauf bestätigt.

Auf Grund der genannten Entdeckung Pasteurs führte dann Liborius eine Einteilung aller Mikroben in drei Gruppen in die Bakteriologie ein, und zwar in solche, welche ohne Sauerstoff sich nicht entwickeln können, ferner in solche, welche ebensogut in sauerstoffhaltiger wie in sauerstoffleerer Atmosphäre sich entwickeln können, endlich in solche, welche nur in sauerstoffleerer Atmosphäre sich entwickeln können. Die erste Gruppe nannte er Aëroben, die zweite fakultative Anaëroben, die dritte obligatorische Anaëroben. Diese Einteilung Liborius' fand bei den Bakteriologen allgemeine Anerkennung und wird noch bis jetzt in den Lehrbüchern der Bakteriologie gewissermaßen als ein Dogma angesehen.

Es ist dies eine ziemlich oft vorkommende Erscheinung, daß, wenn eine gewisse Anschauung in der Wissenschaft sich eingebürgert hat, dieselbe sich noch dann längere Zeit behauptet, wenn auch neu entdeckte Tatsachen dieser Anschauung widersprechen. Ja diese neuen Tatsachen werden anfangs geradezu ignoriert. Erst wenn diese Tatsachen wiederholt festgestellt werden, finden sie nach und nach Beachtung bei den Forschern. Ein ähnliches Schicksal wurde auch dem Problem betreffend die Züchtung der obligatorischen Anaëroben bei Luftzutritt zu teil. Als Tarozzi vor einigen Jahren seine Abhandlung veröffentlichte, in welcher er eine Methode angab, Anaëroben in aërober Weise zu züchten, wußte er nicht, daß er schon Vorgänger hatte, welche zu gleichen Resultaten gelangten. Die Arbeiten der Vorgänger Tarozzis gerieten kurz nach ihrem Erscheinen in unverdiente Vergessenheit. Es ist daher Tarozzis Verdienst, nicht nur, daß er von neuem und von den früheren Forschern unabhängig die Möglichkeit, Anaëroben in aërober Weise zu züchten,

festgestellt hat, sondern auch, daß er durch eine Reihe von dieser Frage gewidmeten Arbeiten auch andere Forscher angeregt hat, welche teils die Untersuchungsergebnisse Tarozzis bestätigten, teils die Untersuchungen in dieser Beziehung erweiterten. Wir steuern aber nur der Gerechtigkeit, wenn wir auch der Vorgänger Tarozzis gedenken.

Soweit ich erforschen konnte, waren Tizzoni, Josephine Cattani und Baquis (1) die ersten, welchen es gelang, Anaëroben unter Luftzutritt zu züchten. In einer gemeinsam im Jahre 1889 publizierten Arbeit geben dieselben nämlich an, daß der Tetanusbacillus in geronnenem Kaninchenblut unter Luftzutritt gezüchtet werden kann. Nach ihrer Meinung kann man auch reine Tetanuskulturen unter Luftzutritt in gewöhnlichen Nährmitteln gewinnen, in welche Material aus der Milz von an Tetanus gefallenem Tieren, welches Tetanusbacillen in reinem Zustande enthielt, hineingebracht wurde.

Kurz nachher wurden noch zahlreiche andere Versuche gemacht, den Tetanusbacillus unter Luftzutritt zu züchten, welche gleichfalls von gutem Erfolge begleitet waren. Dieser Versuche tut Ferrán (6) Erwähnung, ohne jedoch irgend welche bibliographischen Quellen anzugeben. Er schreibt: „Chicole fand den Bacillus schon 1889 in Reinkultur an der Oberfläche eines der Luft ausgesetzten Röhrchens mit Serum; Belfanti und Pescarolo konstatierten bald darauf dieselbe Tatsache; nachher beobachteten Sanchez de Toledo und Veillon, daß der Bacillus bei üppiger Kultur auf dickem Nährboden sich nach längerer Zeit schließlich auch an der Oberfläche entwickelt. Vaillard und Vincent überzeugten sich 1892, daß es zur Kultur des Tetanusbacillus nicht nötig ist, durchaus jede Spur freien Sauerstoffs zu entfernen, da derselbe sich auch einigermaßen an die Luft gewöhnt. Vor kurzem ist nun Giovanni Grixoni mit der auf Tatsachen gestützten Behauptung aufgetreten, daß der Tetanusbacillus von Hause aus aërob ist und nur gelegentlich auch anaërobisch lebt . . . .“

Außer den genannten Forschern wurden Anaëroben unter Luftzutritt von Smith, Righi, Ferrán u. A. gezüchtet. Schon im Jahre 1890 erwähnt Smith (2) in seiner Arbeit über Gärungskölbchen in der Bakteriologie, daß Anaëroben in aërober Weise gezüchtet werden können. Smith (16, 17) kommt in seinen späteren Arbeiten auf diese Frage zurück, indem er die Züchtung der Anaëroben unter Luftzutritt in Gärungskölbchen anempfiehlt, welche Bouillon mit einem Leber-, Milz- oder Nierenstückchen von einem Kaninchen oder Meerschweinchen enthalten. In solchen Kölbchen züchtete Smith unter Luftzutritt den Tetanusbacillus, den Rauschbrandbacillus, den Bacillus des malignen Oedems und andere näher noch nicht beschriebene Anaëroben.

Righi (3) gibt an, daß es ihm gelungen ist, den Tetanusbacillus unter Luftzutritt zu züchten, indem er denselben aus einer alten tiefen Agarkultur auf einen gewöhnlichen Nährboden überimpfte. Ferrán (6) gewöhnte den Tetanusbacillus an den Sauerstoff, indem er ihn zunächst in Acetylen züchtete, zu welchem er dann allmählich Luft zuführte. Aber schon vor Ferrán haben Kedrowski und Kitt andere Methoden angegeben, Anaëroben in aërober Weise zu züchten.

Kedrowski (4) impfte zunächst einen Aëroben (*M. agilis*, *Sarcina flava*) auf schiefen Agar. Nachdem der geimpfte Aërobe auf dem Agar ausgewachsen war, goß er auf den Wattepfropf, mit welchem die Röhren geschlossen waren, 2—3 ccm Chloroform und setzte auf die Röhre ein Gummikäppchen, welches er erst nach 24—48 Stunden abnahm. Durch

diese Zeit lagen die Röhren in horizontaler Richtung. Auf diese Weise wurden die auf dem Agar ausgewachsenen Mikroben getötet. Sodann nahm er das Gummikäppchen ab, goß in die Röhre einfache oder Zuckerbouillon ( $1\frac{1}{2}\%$ ) und impfte in dieselbe Anaëroben (*Tetanusbacillus*, *Clostridium butyricum*). Die geimpften Anaëroben entwickelten sich in solchen Nährmitteln ganz gut und bildeten Sporen.

In demselben Jahre wie Kedrowski erschien auch die Arbeit von Kitt (5) über die Züchtung des Rauschbrandbacillus unter Luftzutritt. Kitt ist es gelungen, eine Kultur des Rauschbrandbacillus in gewöhnlicher Bouillon zu erhalten, aber nur unter der Bedingung, daß er erstens je einige Kubikcentimeter einer Bouillonkultur impfte und zweitens nicht in gewöhnliche Röhren, sondern in Flaschen von  $\frac{1}{2}$ —1 Liter Volumen impfte.

Die Frage der Züchtung von Anaëroben in aërober Weise beschäftigte fernerhin die Forscher, so daß von Zeit zu Zeit immer wieder eine neue dieser Frage gewidmete Arbeit erschien. Im Jahre 1899 veröffentlichte Hibler (7) eine Abhandlung, in welcher er angibt, daß er Kulturen des *Tetanusbacillus*, des *Bacillus* des malignen Oedems und des *Rauschbrandbacillus* in Röhren erhielt, welche bei  $58^{\circ}$  oder  $97^{\circ}$  sterilisiertes Kaninchenblut enthielten, und außerdem in Röhren mit sterilisiertem dickflüssigen Hirnbrei.

Einige Jahre später gibt Kitt (8) an, daß der *Rauschbrandbacillus* unter Luftzutritt in Röhren, welche Bouillon mit einem steril geschnittenen Fleischstückchen, z. B. vom Brustmuskel einer Taube, enthält, gezüchtet werden kann.

So stand die Frage betreffend die Züchtung der Anaëroben in aërober Weise bis zum Jahre 1905, in welchem Jahre die ersten diesbezüglichen Arbeiten Tarozzi erschienen. Tarozzi hat, wie bekannt, von seinen Vorgängern unabhängig, von neuem die Tatsache entdeckt, daß Anaëroben unter Luftzutritt in Bouillon, in welcher ein tierisches Gewebstück sich befindet, gezüchtet werden können. Die Untersuchungen Tarozzi wurden bald von Grixoni (15), Ori (13), Bandini (20), Harrass (21) . . . . bestätigt und erweitert. Angesichts dieser Untersuchungen scheint die Tatsache, daß Anaëroben in aërober Weise gezüchtet werden können, keinem Zweifel zu unterliegen.

## II. Untersuchungen über die Substanz, welche die Züchtung von Anaëroben in aërober Weise begünstigt.

In meiner früheren Arbeit (18), welche den Untersuchungen über die Züchtung von obligatorischen Anaëroben in aërober Weise gewidmet war, gelangte ich zu dem Schlusse, daß die in Tier- und Pflanzengewebe enthaltene, das Wachstum der Anaëroben in aërober Weise begünstigende Substanz unter dem Einflusse von hoher Temperatur nicht zersetzt wird, da Bouillon mit einem Tier- oder Pflanzengewebstück im Autoklaven bei  $140^{\circ}$  C sterilisiert, als Nährboden für Anaëroben dienen kann. Ferner stellte ich fest, daß die in Rede stehende Substanz sich nicht bloß in frischen, sondern auch in sterilisierten, nicht frischen, ja sogar der Fäulnis anheim gefallenem Gewebstücken befindet. Endlich überzeugte ich mich, daß diese Substanz nach einer gewissen Zeit der Zersetzung unterliegt: Bouillonröhren mit Tier- oder Pflanzengewebstücken, welche einige oder mehrere Tage der Einwirkung des Lichtes und der Luft ausgesetzt waren, eignen sich nicht mehr zur Züchtung von Anaëroben.

Nachdem nun dies festgestellt wurde, ergab sich die Frage, was

eigentlich auf die besagte Substanz einen schädlichen Einfluß ausübt. Ist es das Licht? oder die Luft? oder beides? Um diese Frage lösen zu können, beschickte ich eine Reihe von Röhren mit je 10 ccm gewöhnlicher Peptonbouillon von neutraler Reaktion, welche 1 Proz. Liebig's Fleischextrakt, 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Kochsalz enthielt. In diese Röhren tat ich sodann je einen aus einer Kartoffel frisch ausgeschnittenen 2 g wiegenden Cylinder, oder je ein gleichfalls 2 g wiegendes Tiergewebstück hinein. Sodann goß ich in einen Teil der Röhren, die teils Kartoffelcylinder, teils Tiergewebstückchen enthielten, etwas geschmolzenes Paraffin hinein und sterilisierte dann alle Röhren 15 Minuten bei 120° C. Einen Teil der auf diese Weise vorbereiteten Nährböden hielt ich in einem dunklen Ort, den anderen dagegen setzte ich der Einwirkung des Lichtes aus. In gewissen Zeitabständen nahm ich je einige von diesen Röhren und impfte in dieselben Anaëroben, um mich zu überzeugen, ob sie sich zur Züchtung dieser Mikroben eignen. Aus jenen Röhren, in welchen das Nährmittel sich unter einer festen Paraffinschicht befand, entfernte ich den Paraffinpstopf unmittelbar vor der Impfung der Anaëroben, welches sich leicht bewerkstelligen ließ, indem ich die Röhre an der Stelle, wo sich das Paraffin befand, leicht erwärmte. Ich impfte stets je 2 oder 3 Oesen aus Bouillonkulturen der Anaëroben und bewahrte die geimpften Nährböden bei 37° C auf. Wie aus Tab. I ersichtlich, ist es nicht das Licht, sondern lediglich die Luft, die einen schädlichen Einfluß auf die das Wachstum der Anaëroben in aërober Weise begünstigende Substanz ausübt. Denn Bouillon mit einem Tier- oder Pflanzengewebstück, welche unter einer festen Paraffinschicht, also luftdicht abgeschlossen, aufbewahrt war, kann sogar nach Ablauf von mehr als 100 Tagen seit der Zubereitung des Nährmittels als Nährboden zur Züchtung von Anaëroben unter Luftzutritt dienen, während auf die gleiche Weise zubereitete, aber der Luft ausgesetzte Nährböden gewöhnlich schon nach Ablauf von einigen oder mehreren Tagen zur Züchtung von Anaëroben sich nicht mehr eignen. Dagegen kann man in Nährböden, welche ein Kartoffelstück enthalten, sogar nach Ablauf von 75 Tagen seit der ersten Sterilisierung Kulturen von Anaëroben gewinnen, wenn man die Nährböden unmittelbar vor der Aussaat der Anaëroben einer neuerlichen Einwirkung der hohen Temperatur (120° C) im Autoklaven unterwirft. Die unter Luftzutritt in Bouillon mit Kartoffel- oder Tierorganstücken gezüchteten Anaëroben bildeten Sporen und ließen sich weiter verimpfen, wuchsen aber in gewöhnlicher Bouillon nur dann aus, wenn dieselbe sich unter einer Paraffinschicht befand, also der Luft nicht ausgesetzt war. Die in Bouillon mit einem Tier- oder Pflanzengewebstück sich entwickelnden Anaëroben bildeten übelriechende Gase.

Eine weitere Frage, die mich interessierte, war: Wird die in dem Tier- und Pflanzengewebe enthaltene Substanz, welche das Wachstum der Anaëroben unter Luftzutritt begünstigt, irgend eine Veränderung erleiden, wenn wir die Tier- bzw. Pflanzengewebstücke austrocknen? Um diese Frage zu lösen, trocknete ich die aus frischen Kartoffeln ausgeschnittenen Cylinder im Thermostaten bei 37° C. Die frischen Kartoffelcylinder wogen je 1 g, die getrockneten je 0,22—0,27 g. Die auf diese Weise getrockneten Cylinder tat ich in gewissen Zeitabständen in Röhren, welche je 10 ccm Bouillon enthielten. Die Bouillon samt dem ausgetrockneten Kartoffelcylinder sterilisierte ich bei 120° C 15 Minuten lang und impfte gleich nach der Abkühlung des Nährbodens 2 oder 3 Oesen einer Bouillonkultur von Anaëroben in denselben. Es



Tabelle I.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Wie viel Tage nach der Sterilisation d. Nährboden geimpft wurde	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1) 10 ccm Bouillon + 2 g Kartoffel aufbewahrt unter einer Paraffinschicht in einem dunklen Ort	Rauschbrandbacillus	11	+	1
2) Derselbe Nährboden	B. botulinus	11	+	1
3) 10 ccm Bouillon + 2 g Kartoffel unter einer Paraffinschicht dem Licht ausgesetzt	Rauschbrandbacillus	11	+	1
4) Derselbe Nährboden	B. botulinus	11	+	1
5) 10 ccm Bouillon + 2 g Kartoffel dem Licht und der Luft ausgesetzt	Rauschbrandbacillus	11	0	
6) Derselbe Nährboden	B. botulinus	11	0	
7) 10 ccm Bouillon + 2 g Kartoffel unter einer Paraffinschicht dem Licht ausgesetzt	Rauschbrandbacillus	32	+	1
8) Derselbe Nährboden	B. botulinus	32	+	3
9) 10 ccm Bouillon + 2 g Kartoffel unter einer Paraffinschicht in einem dunklen Ort gehalten	Rauschbrandbacillus	32	+	1
10) Derselbe Nährboden	B. botulinus	32	+	1
11) 10 ccm Bouillon + 2 g Kartoffel dem Licht und der Luft ausgesetzt	Rauschbrandbacillus	32	0	
12) Derselbe Nährboden	B. botulinus	32	0	
13) 10 ccm Bouillon + 2 g Kartoffel unter einer Paraffinschicht an einem dunklen Ort gehalten	Rauschbrandbacillus	101	+	4
14) Derselbe Nährboden	B. botulinus	101	+	1
15) Derselbe Nährboden	B. oedematis maligni	101	0	
16) 10 ccm Bouillon + 2 g Kaninchenleber unter einer Paraffinschicht an einem dunklen Ort gehalten	Rauschbrandbacillus	37	+	1
17) Derselbe Nährboden	B. botulinus	37	+	1
18) 10 ccm Bouillon + 2 g Hundeleber unter einer Paraffinschicht an einem dunklen Ort gehalten	„ „	154	+	4
19) 10 ccm Bouillon + 2 g Hundeniere unter einer Paraffinschicht an einem dunklen Ort gehalten	Rauschbrandbacillus	154	+	4
20) 10 ccm Bouillon + 2 g Hundemilz unter einer Paraffinschicht an einem dunklen Ort gehalten	Rauschbrandbacillus	154	0	

zeigte sich, daß die auf diese Weise vorbereiteten Nährmittel einen guten Boden für die Züchtung von Anaëroben abgaben, wie dies aus Tab. II ersichtlich ist. Doch bildeten die genannten Mittel nicht für alle Anaërobenarten einen guten Nährboden: der Rauschbrandbacillus, der Bacillus des malignen Oedems, der B. botulinus wuchsen in solchen Nährmitteln

Tabelle II.

Nährboden		Geimpfte Mikrobenart	Wieviel Tage vor ihrer An- wendg. die ge- trocknet. Kar- toffelcylinder aufbewahrt wurden	Resultat der Impfung	Kulturen werden gewonnen nach Tagen
1)	5 ccm Bouillon + $\frac{1}{4}$ Kartoffelcylinder	Rauschbrandbacill.	2	0	
2)	5 " " + $\frac{1}{2}$ "	"	2	0	
3)	5 " " + $\frac{3}{4}$ "	"	2	+	2
4)	5 " " + 1 "	"	2	+	2
5)	5 " " + 1 "	"	2	+	2
6)	5 " " + 1 "	B. tetani	1	+	1
7)	5 " " + 1 "	" "	1	0	
8)	5 " " + 1 "	" "	3	0	
9)	5 " " + 1 "	" "	3	0	
10)	5 " " + 1 "	B. oedematis maligni	1	+	1
11)	5 " " + 1 "	" " " "	3	+	1
12)	5 " " + 1 "	Rauschbrandbacill.	1	+	1
13)	5 " " + 1 "	"	1	0	
14)	5 " " + 1 "	"	3	+	1
15)	5 " " + 1 "	"	3	0	
16)	5 " " + 1 "	B. botulinus	1	+	1
17)	5 " " + 1 "	" " " "	3	0	
18)	10 " " + 1 "	Rauschbrandbacill.	1	+	1
19)	10 " " + 3 "	"	1	+	1
20)	10 " " + 4 "	"	1	+	1
21)	10 " " + 2 "	"	28	+	1
22)	10 " " + 2 "	B. botulinus	28	+	1
23)	10 " " + 1 "	Rauschbrandbacill.	86	+	1
24)	10 " " + 1 "	B. botulinus	86	+	1
25)	10 " " + 1 "	B. oedematis maligni	86	+	1
26)	10 " " + 1 "	B. tetani	91	+	2

ziemlich gut, indem sie die Bouillon stark trübten, reichlich Gase entwickelten und Sporen bildeten; während der Tetanusbacillus schlechter wuchs, keine Sporen bildete, die Bouillon nur wenig trübte und nur mäßig Gase entwickelte. — Auch die Menge der getrockneten Kartoffel, welche wir in die Bouillon hineintun, in der wir die Anaëroben zu züchten beabsichtigen, scheint nicht gleichgültig zu sein. Wenn wir nämlich statt eines ganzen Kartoffelcylinders in die Bouillon nur ein Viertel oder die Hälfte von einem solchen Cylinder hineintun, so entwickeln sich in solcher Bouillon nicht einmal solche Anaëroben, wie Rauschbrandbacillen, welche sich sehr gut entwickeln, wenn in der Bouillon wenigstens Dreiviertel eines solchen Kartoffelcylinders sich befinden, — doch auch dann nicht konstant. Erst wenn in 10 ccm Bouillon 2 oder mehr Kartoffelcylinder sich befinden, kann man in derselben konstant Kulturen von Anaëroben gewinnen. Die in Bouillon mit ausgetrockneten Kartoffelstücken gezüchteten Anaëroben ließen sich nur auf solche Nährböden überimpfen, zu welchen der Luftzutritt unmöglich war; sie verhielten sich somit wie obligatorische Anaëroben.

Ebenso ließen sich Anaëroben in Bouillon züchten, die ein Kartoffelstück oder Tierorganstück enthielt, welches in hoher Temperatur getrocknet wurde, wie auch in Bouillon mit einem Kartoffelstück, welches der Einwirkung niedriger Temperatur unterworfen wurde — wie dies Tab. III zeigt. Die in dieser Tabelle unter 1—4 angeführten Nährböden enthielten je ein Kartoffelstück, welches in bis 155° C erhitzter Luft getrocknet war; die Nährböden unter 5—17 und 23—25 enthielten je

Tabelle III.

Nährboden		Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1)	10 ccm Bouillon + 0,45 g getrockneter Kartoffel	Rauschbrandbacill.	+	1
2)	10 " " + 0,45 " " "	B. botulinus	+	1
3)	10 " " + 0,45 " " "	"Rauschbrandbacill.	+	2
4)	10 " " + 0,45 " " "	"Rauschbrandbacill.	+	2
5)	10 " " + 0,3 „getr. Kanincheniere	" "	+	1
6)	10 " " + 0,3 " " "	B. botulinus	+	1
7)	10 " " + 0,4 " " Kaninchenleber	" "	+	1
8)	10 " " + 0,35 " " "	Rauschbrandbacill.	+	1
9)	10 " " + ca.0,35,, " Meerschwein- chenniere	" "	+	2
10)	10 " " + ca.0,35,, " Meerschwein- chenleber	" "	+	2
11)	10 " " + ca.0,35,, " Meerschwein- chenleber	B. botulinus	+	2
12)	10 " " + 1,0 " " Hundehertz	" "	+	2
13)	10 " " + 1,0 " " "	Rauschbrandbacill.	+	2
14)	10 " " + 1,0 " " Hundeleber	" "	+	2
15)	10 " " + 1,0 " " "	B. botulinus	+	2
16)	10 " " + 1,0 " " Hundebhut	" "	+	1
17)	10 " " + 1,0 " " "	Rauschbrandbacill.	+	1
18)	10 " " + 1,0 „gefrorener" Kartoffel	" "	+	2
19)	10 " " + 2,0 " " "	" "	+	2
20)	10 " " + 2,0 " " "	" "	+	2
21)	10 " " + 2,0 " " "	B. botulinus	+	2
22)	10 " " + 2,0 " " "	" "	+	2

ein Blut- oder Tierorganstück, welches in bis 140° C erhitzter Luft getrocknet war; endlich die Nährböden unter 18—22 enthielten je ein Kartoffelstück, welches 24 Stunden lang bei 22° C unter Null gefroren war. Die Kartoffelstücke und Tierorganstücke, welche der Einwirkung von bis 140—155° C erhitzter Luft ausgesetzt wurden, waren teilweise verkohlt. Die auf diese Weise getrockneten Stücke konnten vor ihrer Anwendung mehrere Wochen aufbewahrt werden, ohne ihre Eigenschaft, das Wachstum der Anaëroben unter Luftzutritt zu begünstigen, zu verlieren.

Die weiteren Untersuchungen zeigten, daß die besagte Substanz sich auch in Pflanzensamen befindet. Wenn man zu einer 10 ccm Bouillon enthaltenden Röhre eine gewisse Menge, z. B. 1 g Weizenkörner, Bohnen oder Gerste zusetzt, das so zubereitete Nährmittel bei 120° C 15 Minuten lang sterilisiert und dann in dasselbe Anaëroben aussät, so entwickeln sich dieselben darin wohl. Die meisten Versuche machte ich mit Gerstenkörnern. Dabei ist hervorzuheben, daß die Menge der in der Bouillon enthaltenen Gerstenkörner einen merklichen Einfluß auf das Resultat der Impfung hat. Die Anaëroben entwickeln sich konstant, wenn in der Bouillon 10 Gerstenkörner, d. i. 1/8 g, enthalten waren. Wenn die Bouillon weniger Gerstenkörner enthielt, so wuchsen die Anaëroben nicht konstant aus, wie aus Tab. IV ersichtlich ist.

Die in Bouillon mit Gerstenkörnern gezüchteten Anaëroben trübten die Bouillon deutlich, entwickelten Gase und bildeten Sporen.

Da jene Substanz, die das Wachstum der Anaëroben in aërober Weise begünstigt, sich nicht bloß in frischen, sondern auch in getrockneten, ja sogar in teilweise verkohnten Tier- und Pflanzengewebe enthalten

Tabelle IV.

Nährboden		Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1)	5 ccm Zuckerbouillon (0,2%) +	1 Gerstenkorn	0	
2)	5 " " "	2 Gerstenkörner	0	
3)	5 " " "	" "	0	
4)	10 " gewöhnl. Bouillon	1 Gerstenkorn	0	
5)	10 " " "	2 Gerstenkörner	0	
6)	10 " " "	" "	0	
7)	10 " " "	" "	0	
8)	10 " " "	B. tetani	0	
9)	10 " " "	Rauschbrandbacill.	0	
10)	10 " " "	" "	0	
11)	10 " " "	" "	+	2
12)	10 " " "	" "	0	
13)	10 " " "	" "	+	1
14)	10 " " "	B. botulinus	+	1
15)	10 " " "	B. oedematis malig.	+	1
16)	10 " " "	B. tetani	0	
17)	10 " " "	Rauschbrandbacill.	0	
18)	10 " " "	" "	+	3
19)	10 " " "	" "	0	
20)	10 " " "	" "	+	1
21)	10 " " "	" "	+	1
22)	10 " " "	B. botulinus	+	1
23)	10 " " "	B. oedematis malig.	+	1
24)	10 " " "	B. tetani	+	2
25)	10 " " "	Rauschbrandbacill.	+	1
26)	10 " " "	" "	+	1
27)	10 " " "	B. botulini	+	1
28)	10 " " "	B. oedematis malig.	+	2
29)	10 " " "	B. tetani	+	2
30)	10 " " "	Rauschbrandbacill.	+	1
31)	10 " " "	" "	+	3
32)	10 " " "	" "	+	1
33)	10 " " "	B. botulinus	+	1

ist, so mußte untersucht werden, ob sie nicht etwa auch in der Holzkohle sich befindet. Wie aus Tab. V ersichtlich, befindet sich diese Substanz wirklich in der Holzkohle und zwar nicht nur in dieser, sondern auch in der Steinkohle und sogar im Koks. Die Anaeroben (Rauschbrandbacillus, *B. botulinus*) wachsen zwar in Bouillon, welche eine gewisse Menge Holzkohle, Steinkohle oder Koks enthält, aber die Kulturen sind in den meisten Fällen nicht üppig; die Bouillon trübt sich schwach und die gezüchteten Mikroben bilden keine Sporen. In gewöhnliche Nährmittel überimpft, wachsen die auf diese Weise gezüchteten Mikroben nur als obligatorische Anaeroben.

Die weiteren Untersuchungen zeigten, daß die Substanz, die das Wachstum der Anaeroben in aërober Weise begünstigt, nicht nur in den Tier- und Pflanzengeweben, nicht nur in Pflanzensamen, nicht nur in der Holzkohle, Steinkohle, im Koks, sondern auch noch in anderen Körpern, z. B. in Kreide, Zink und Eisen enthalten ist. Kurz, die besagte Substanz ist sehr verbreitet.

Was das Eisen betrifft, so ist hervorzuheben, daß sogar sehr geringe in der Bouillon enthaltene Mengen desselben das Wachstum der Anaeroben unter Luftzutritt in hohem Maße begünstigen; schon in den

Tabelle V.

Nährboden				Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1) 10	ccm Bouillon	+ 1	g Holzkohle	Rauschbrandbacillus	+	2
2) 10	" "	+ 1	" "	B. botulinus	+	2
3) 10	" "	+ 1	" "	B. tetani	0	
4) 10	" "	+ 2	" "	Rauschbrandbacillus	+	2
5) 10	" "	+ 2	" "	B. botulinus	+	2
6) 10	" "	+ 0,01	" Steinkohle	Rauschbrandbacillus	+	5
7) 10	" "	+ 0,01	" "	"	+	13
8) 10	" "	+ 0,02	" "	"	+	4
9) 10	" "	+ 0,02	" "	"	+	5
10) 10	" "	+ 0,03	" "	"	+	4
1) 10	" "	+ 0,03	" "	"	+	1
12) 10	" "	+ 0,04	" "	"	+	4
13) 10	" "	+ 0,04	" "	"	+	1
14) 10	" "	+ 0,05	" "	"	+	1
15) 10	" "	+ 0,06	" "	"	+	1
16) 10	" "	+ 0,07	" "	"	+	1
17) 10	" "	+ 0,08	" "	"	+	1
18) 10	" "	+ 0,09	" "	"	+	1
19) 10	" "	+ 0,1	" "	"	+	1
20) 10	" "	+ 0,2	" "	"	+	1
21) 10	" "	+ 0,25	" "	"	+	3
22) 10	" "	+ 0,3	" "	"	+	1
23) 10	" "	+ 0,5	" "	"	+	4
24) 10	" "	+ 1,0	" "	"	+	4
25) 10	" "	+ 2,0	" "	"	+	3
26) 10	" "	+ 0,01	" "	B. botulinus	+	13
27) 10	" "	+ 0,02	" "	" "	+	13
28) 10	" "	+ 0,03	" "	" "	+	6
29) 10	" "	+ 0,04	" "	" "	+	6
30) 10	" "	+ 0,05	" "	" "	+	6
31) 10	" "	+ 0,06	" "	" "	+	5
32) 10	" "	+ 0,07	" "	" "	+	5
33) 10	" "	+ 0,08	" "	" "	+	5
34) 10	" "	+ 0,1	" "	" "	+	5
35) 10	" "	+ 0,5	" "	" "	+	5
36) 10	" "	+ 1,0	" "	" "	+	5
37) 10	" "	+ 2,0	" "	" "	+	3
38) 10	" "	+ 1,0	" Koks	Rauschbrandbacillus	+	2
39) 10	" "	+ 1,0	" "	B. botulinus	+	2
40) 10	" "	+ 1,0	" "	B. tetani	0	

ersten 24 Stunden nach der Aussaat der Anaëroben trübt sich die Bouillon, wird schaumig, dann schwarz. Die in solcher Bouillon gezüchteten Anaëroben bilden bald (schon am 3. Tage) Sporen, lassen sich aber schwer auf andere Nährböden überimpfen, denn nach der Ueberimpfung gelangen sie in den meisten Fällen weder in Zuckerbouillon unter einer Paraffinschicht, noch in gewöhnlicher Bouillon zur Entwicklung. In Bouillon, welche Eisen in Pulver oder in Plättchen enthält, wuchsen die Anaëroben konstant aus, wie dies Tab. VI zeigt.

Zum Schlusse bleibt uns noch übrig, das Wesen jener Substanz zu ermitteln, welche das Wachstum der Anaëroben unter Luftzutritt begünstigt. Es ist schon längst beobachtet worden, daß Anaëroben in gewöhnlicher Bouillon sich entwickeln, wenn in derselben gleichzeitig Aëroben gezüchtet werden. Pasteur erklärt diese Erscheinung da-

Tabelle VI.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1) 10 ccm Bouillon + 0,01 g Eisen	Rauschbrandbacillus	+	1
2) 10 " " + 0,01 " "	B. botulinus	+	1
3) 10 " " + 0,05 " "	Rauschbrandbacillus	+	1
4) 10 " " + 0,05 " "	B. botulinus	+	1
5) 10 " " + 0,1 " "	Rauschbrandbacillus	+	1
6) 10 " " + 0,1 " "	B. botulinus	+	1
7) 10 " " + 0,1 " "	" "	+	1
8) 10 " " + 0,1 " "	B. oedematis maligni	+	1
9) 10 " " + 0,1 " "	Rauschbrandbacillus	+	1
10) 10 " " + 0,5 " "	" "	+	1
11) 10 " " + 0,5 " "	B. botulinus	+	1
12) 10 " " + 0,5 " "	B. oedematis maligni	+	1
13) 10 " " + 0,5 " "	B. tetani	+	1

durch, daß die sich entwickelnden Aëroben den Sauerstoff absorbieren und auf diese Weise das Wachstum der Anaëroben ermöglichen. Nun mußte untersucht werden, ob jene Substanzen, wie Tier- und Pflanzengewebe, Kohle, Eisen u. s. w., deren Anwesenheit in der Bouillon das Wachstum der Anaëroben in aërober Weise begünstigt, nicht auch reduzierende Eigenschaften besitzen. Zu diesem Zwecke füllte ich eine Reihe von Röhren mit je 10 ccm Bouillon oder destillierten Wassers, legte in jede je 1 g von einer der oben erwähnten Substanzen und sterilisierte, die Röhren im Dampfe bei 120° C 15 Minuten lang. Nach der Sterilisierung setzte ich zu jeder Röhre so viel sterilisierte 0,01-proz. Methylenblau-Wasserlösung zu, daß die Flüssigkeit in der Röhre etwas blau gefärbt wird. Zu leichter Blaufärbung von 10 ccm Bouillon waren 7 Tropfen nötig und zu einer gleichen Färbung von 10 ccm Wasser genügte ein Tropfen der genannten Lösung. Die auf diese Weise gefärbten Röhren setzte ich in den Thermostaten bei 37° C für 1 oder 2 Tage. Nach Ablauf dieser Zeit war die Flüssigkeit in den Röhren entweder ganz oder doch bedeutend entfärbt. Demnach besitzen alle jene Substanzen, deren Anwesenheit in der Bouillon das Wachstum der Anaëroben unter Luftzutritt begünstigt, reduzierende Eigenschaften. Unter den erwähnten Substanzen besitzt das Eisen, die Holzkohle, der Koks getrocknete Tier- und Pflanzengewebe, die Pflanzensamen die reduzierende Eigenschaft im höchsten Grade; in geringerem Grade Kreide und frische Kartoffel; und im geringsten Grade das Zink. Ferner zeigte es sich, daß ein Kartoffelstück, welches nach der Sterilisierung mehrere Tage oder Wochen in Bouillon gelegen hatte, die der Luft ausgesetzt war, die reduzierende Eigenschaft in geringerem Grade besitzt, als ein gleich großes Kartoffelstück gleich nach der abermaligen Erhitzung im Autoklaven. Auf die reduzierenden Eigenschaften der Tierorgane überhaupt haben übrigens schon früher manche Forscher aufmerksam gemacht (A belous und Gérard, Bandini, Johannsen).

Auf Grund aller oben angeführten Beobachtungen läßt sich folgender Schluß ziehen:

Anaëroben können sich in Bouillon unter freiem Luftzutritt entwickeln, wenn in der Bouillon eine reduzierende Substanz sich befindet.

Die Frage betreffend die Gewöhnung der Anaëroben an das Wachs-

tum in gewöhnlichen Nährmitteln unter Luftzutritt werde ich in kurzem in einer ausführlicheren Arbeit behandeln.

Krakau, April 1906.

**Literatur.**

- 1) Tizzoni, G., Cattani, J. und Baquis, E., Bakteriologische Untersuchungen über den Tetanus. (Zieglers Beitr. Bd. VII. 1889. p. 596.)
- 2) Smith, Th., Die Gärungskölbchen in der Bakteriologie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. 1890. p. 502.)
- 3) Righi, Sulla biologia del bacillo del tetano. (La Riforma med. 1894. No. 205; Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. p. 315.)
- 4) Kedrowski, W., Ueber die Bedingungen, unter welchen anaërobe Bakterien auch bei Gegenwart von Sauerstoff existieren können. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XX. 1895. p. 358.)
- 5) Kitt, Th., Die Züchtung des Rauschbrandbacillus bei Luftzutritt. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. p. 168.)
- 6) Ferrán, Ueber das aërobische Verhalten des Tetanusbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1898. p. 28.)
- 7) v. Hibler, E., Beiträge zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze erzeugten Infektionserkrankungen der Tiere und des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899. p. 603.)
- 8) Kitt, Th., Rauschbrand. (Kolle-Wassermann, Handbuch d. pathog. Mikroorganismen. Bd. II. Jena 1903. p. 607.)
- 9) Tarozzi, G., Sulla possibilità di coltivare facilmente all'aria in cultura pura i germi anaerobici. (Estratto dagli Atti della R. Accad. dei Fisiocritici. Serie IV. Vol. XV. Siena 1905.)
- 10) —, Ulteriori osservazioni sulla cultura aërobica dei germi anaerobici. (Ibid. Vol. XVII. Siena 1905.)
- 11) —, Ueber ein leicht in aërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keimen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905.)
- 12) Wrzosek, A., Ueber das Wachstum obligatorischer Anaëroben auf Kulturmitteln in aërober Weise. (Wien. klin. Wochenschr. 1905.)
- 13) Ori, A., Sulla cultura degli anaerobici. (Atti della R. Accad. dei Fisiocritici. Serie IV. Vol. XVII. Siena 1905. Zit. nach Tarozzi, v. No. 14.)
- 14) Tarozzi, G., Osservazioni sulla natura dei fenomeni che de terminano la esigenza anaerobica nelle culture dei germi anaerobici. (Estratto d. Atti della R. Accad. dei Fisiocritici. Serie IV. Vol. XVII. Siena 1905.)
- 15) Grixoni, G., Sulla biologia degli anaerobi. (Giorn. Med. del R. Esercito. 1905. Juli; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. p. 17.)
- 16) Smith, Th., Brown, H. R., Walker, E. L., The fermentation tube in the study of anaërobic bacteria with special reference to gas production and the use of milk as a culture medium. (The Journ. of Med. Research. Vol. XV. No. 1. November. Boston 1905.)
- 17) Smith, Th., Ueber einige Kulturmerkmale des Rauschbrandbacillus. (Zeitschr. f. Infektionskrankh., parasitäre Krankheiten u. Hyg. d. Haustiere. Bd. I. Heft 1.)
- 18) Wrzosek, A., Beobachtungen über die Bedingungen des Wachstums der obligatorischen Anaëroben in aërober Weise. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1906.)
- 19) Tarozzi, G., Appunti di tecnica per la cultura e l'isolamento in piastra dei germi anaerobici. (Estratto dal N. 7 [1906] degli Atti della R. Accad. dei Fisiocritici in Siena.)
- 20) Bandini, F., Ricerche sulla coltivazione degli anaerobi. (Giorn. della R. Accad. di medicina di Torino. T. XII. 1906; Ref. Bull. de l'Inst. Past. T. V. 1907. p. 16.)
- 21) Harrass, Zur Frage der aëroben Züchtung sogenannter obligat anaërober Bakterien. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 46.)

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Differenzierung der Diphtheriebacillen.

[Aus dem kgl. Institute für Infektionskrankheiten in Berlin (Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Dr. Gaffky. Abteilungsvorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Frosch).]

Von Oberarzt Dr. **Rothe**,  
kommandiert zum Institute für Infektionskrankheiten.

Die bakteriologische Diphtheriediagnose gründet sich hauptsächlich auf folgende 3 Punkte:

- 1) Die mikroskopische Untersuchung von gefärbten Ausstrichpräparaten des verdächtigen Materials;
- 2) das Kulturverfahren auf besonders geeigneten Nährböden;
- 3) den Tierversuch mit einer Reinkultur des morphologisch und kulturell als Diphtheriebacillus angesprochenen Bakterienstammes.

Auch der geübte Untersucher wird zur sicheren Diagnosenstellung meistens den zweiten und, wenn möglich, auch den dritten Punkt heranziehen müssen, wo nicht nach Art des Materials Verwechslungen mit diphtheriebacillenähnlichen Bakterienarten ausgeschlossen sind. Da letztere, die gemeinhin unter dem Sammelbegriff „Pseudodiphtheriebacillen“ zusammengefaßt werden, und denen man auf den Schleimhäuten gesunder Menschen sehr häufig begegnet, nicht selten kulturell und morphologisch nach Form, Lagerung und färberischem Verhalten vom echten Loefflerschen Diphtheriebacillus kaum oder doch sehr schwer zu trennen sind, so wurden sie vielfach als avirulente Diphtheriebacillen angesprochen, eine Ansicht, die zu der weiteren Schlußfolgerung führte, daß auch Diphtheriebacillen ubiquitär seien. Eine morphologisch und kulturell als Diphtheriebacillen angesprochene Bakterienart, wie sie vom Diphtheriekranken, Rekonvaleszenten oder auch vom Gesunden aus der Umgebung Kranker gezüchtet wird, ist ohne weiteres sicher identifiziert, wenn sie sich im Tierversuch für Meerschweinchen in charakteristischer Weise pathogen erweist. Wo aber aus äußeren Gründen der Tierversuch nicht angestellt werden kann, da können sich für den weniger geübten Untersucher diagnostische Schwierigkeiten und Zweifel einstellen. Das gilt ganz besonders, wenn es sich um einen avirulenten Stamm handelt, bei dem der Tierversuch versagt. Denn alle übrigen den Loefflerschen Bacillen eigentümlichen Eigenschaften, ihre Form, Größe, ihre Lagerung in Ausstrich- und Klatschpräparaten, ihr färberisches Verhalten, einschließlich der für sie charakteristischen sogenannten Neisserschen Reaktion, können selbst bei einem und demselben echten Diphtheriestamme mannigfache Schwankungen zeigen je nach der Zusammensetzung des Nährbodens, dem Alter der Kultur, nach der Temperatur, bei welcher die Kultur gezüchtet worden ist, ganz abgesehen davon, daß eine sichere Technik zu den wichtigsten Voraussetzungen für eine einwandfreie bakteriologische Diphtheriediagnose gehört. Daß aber auch in größeren gut eingerichteten Laboratorien, denen alle bakteriologischen Hilfsmittel und geschulte Kräfte zur Verfügung stehen, die Fragen, in welchem Verhältnis die sogenannten „Pseudodiphtheriebacillen“ zu den avirulenten echten Loefflerschen Bacillen stehen und ob ersteren irgend eine ätiologische Bedeutung zukommt, ganz entgegengesetzte Beantwortung finden, dafür



spricht der Widerstreit der Ansichten namhafter Autoren, von denen allerdings heute wohl der weitaus größere Teil die echten Diphtheriebacillen streng von allen ähnlichen, „Pseudodiphtheriebacillen“, vom bakteriologischen und epidemiologischen Standpunkte aus trennen zu müssen meint, während andere immer noch in letzteren avirulent gewordene Diphtheriebacillen sehen und deshalb unter Hinweis auf das ubiquitäre Vorkommen der „Pseudodiphtheriebacillen“ die hygienisch-prophylaktische Maßnahme der strengen Isolierung von Diphtheriebacillenträgern für überflüssig, weil doch unzureichend, halten.

Es handelt sich also hier um Fragen von einschneidender epidemiologischer und praktischer Bedeutung. Durch jedes neue Differenzierungsverfahren und jede Verbesserung bezw. Vereinfachung der bisher geübten wird daher, wenn nur einfache Hilfsmittel dazu erforderlich sind, einmal die Diagnose erleichtert und andererseits ein neues Glied in die Kette von Beweisen eingefügt, welche dafür sprechen, daß der echte Loefflersche Diphtheriebacillus, auch der avirulente, von allen ihm ähnlichen Arten im bakteriologischen und epidemiologischen Sinne streng und sicher zu trennen ist.

Zu meinen Untersuchungen, über deren Ergebnis im folgenden zu berichten ist, wurde ich angeregt, als ich Ende vorigen Jahres an Massenuntersuchungen von Mandelabstrichen beteiligt war, die im Institute für Infektionskrankheiten ausgeführt wurden. Sie bezweckten festzustellen, ob unter den Zöglingen des Kadettenhauses Potsdam, in welchem im Herbst 1906 3 Fälle von klinisch und bakteriologisch festgestellter Diphtherie vorgekommen waren, sich Diphtheriebacillenträger fänden, die zur Verbreitung der Krankheit Anlaß geben konnten. Außerdem sollte festgestellt werden, wann die Rekonvaleszenten ohne Gefahr für ihre Umgebung aus der Isolierung entlassen werden konnten. Das Ergebnis der Untersuchungen, über welches Hasenkopf und ich im Jahrb. f. Kinderheilk. berichtet haben, war, daß sich echte Loefflersche Diphtheriebacillen nur bei den Rekonvaleszenten fanden und bei diesen ihre volle Virulenz behielten, so lange sie überhaupt nachweisbar waren, daß andererseits bei keinem der gesund gebliebenen Kadetten Loefflersche Bacillen nachgewiesen werden konnten, wohl aber bei etwas mehr als 20 Proz. diphtheriebacillenähnliche Stäbchen, die nach den bisher üblichen Methoden und dem hier zu beschreibenden Verfahren von Diphtheriebacillen sicher unterschieden wurden, wobei noch zu bemerken ist, daß solche „Pseudodiphtheriebacillen“ bei den Rekonvaleszenten niemals gefunden wurden. Keiner der „Pseudodiphtheriebacillen“-Träger erkrankte an Diphtherie, auch nicht nach Rückkehr der Rekonvaleszenten, welche erst erfolgte, nachdem letztere frei von Loefflerschen Diphtheriebacillen, also auch im bakteriologischen Sinne geheilt waren. In der Anstalt ist monatelang kein neuer Diphtheriefall vorgekommen. Diese Untersuchungsergebnisse sprechen gegen die Ubiquität der Diphtheriebacillen und für die Zweckmäßigkeit der hygienisch-prophylaktischen Maßnahme der Isolierung der Bacillenträger bis zum endgültigen Verschwinden der Diphtheriebacillen aus Rachen und Nase.

Das von mir ausgearbeitete Verfahren gründet sich auf die längst bekannte Tatsache, daß echte Loefflersche Diphtheriebacillen in traubenzuckerhaltiger Bouillon Säure bilden, eine Eigenschaft, die — überhaupt oder doch\*in dem gleichen Grade — den verschiedenartigen als „Pseudodiphtheriebacillen“ gehenden Stämmen, einschließlich der Xerosebacillen, fehlt. Der Nachweis der Säurebildung und ihres Grades

in der Bouillon ist wissenschaftlich exakt nur durch Titrieren, wie es Neisser getan hat, zu erbringen, daher umständlich und zeitraubend. Ich versuchte deshalb die Säurebildung auf festen Nährböden durch Zusatz von Lackmuslösung zur Darstellung zu bringen, eine Methode, wie sie bekanntlich ähnlich seit langem in der bakteriologischen Praxis zur Unterscheidung verschiedener verwandter Bakterienarten einer Gruppe geübt wird. Im Hinblick auf die günstigen Erfahrungen, die bei Verwendung verschiedener Zuckerarten zur Differenzierung solcher einander nahestehender Bakterienarten gemacht worden sind — es sei hier nur erinnert an die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe, die verschiedenen Typen von Ruhrbacillen und an die Gruppe der gramnegativen Diplokokken — durfte mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß auch die Gruppen der Diphtheriebacillen und der ihnen ähnlichen Stämme Unterschiede in ihrem Gärungsvermögen gegenüber verschiedenen Zuckerarten aufwiesen.

Da der Loefflersche Blutserumnährboden nach wie vor weitaus die günstigsten Kulturbedingungen für Diphtheriebacillen in fester Form bietet, so wählte ich ihn als Grundlage für meine Versuche, bei denen sich folgende Zusammensetzung als die günstigste erwies: 4 Teile Rinder Serum und 1 Teil neutraler zuckerfreier Nährbouillon werden gemischt. Zu 90 Teilen dieser Serumbouillon kommen 10 Teile Lackmuslösung (Originalpräparat von C. A. J. Kahlbaum-Berlin), welcher zuvor die betreffende Zuckerart in einer Menge von 10 Proz. zugesetzt ist, so daß also ein Gemisch mit 1 Proz. Zuckergehalt entsteht. Die Zuckerlackmuslösung wird sterilisiert, indem man sie an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 Minuten lang entweder im Wasserbad bei 100° C oder im Dampftopf hält. Wenn dabei gelegentlich ein Farbenumschlag der blauen Lösung in Violett beobachtet wird, so tritt doch nach Zusatz der Zuckerlackmuslösung zur Serumbouillon die blaue Farbe wieder ein. Die weitere Verarbeitung geschieht wie bei dem gewöhnlichen Loefflerschen Serumnährboden. Die Mischung der Serumbouillon mit der zuckerhaltigen Lackmuslösung wird in Petri-Schalen in nicht zu dünner Schicht ausgegossen und zum Erstarren gebracht. Beim Erstarren und folgenden Abtrocknen der Platten muß eine zu starke Eintrocknung des Nährbodens vermieden werden. Verwendet man von dem gut abgesetzten Rinderblutserum nur die oberste klare Schicht, so erzielt man fast bis völlig durchsichtige blaue Platten, während mit den tieferen Schichten natürlich nur undurchsichtige Platten entstehen, was aber für die biochemische Reaktion ohne Belang ist.

Bei meinen Untersuchungen prüfte ich folgende Zuckerarten: Dextrose, bei welcher ja nach der bekannten Säurebildung in Traubenzuckerbouillon am ehesten eine positive Reaktion unter dem Einfluß von Diphtheriebacillen zu erwarten war, ferner Lävulose, Mannit, Maltose, Milch- und Rohrzucker, daneben wurde auch zur Kontrolle ein zuckerfreier Serumnährboden mit Zusatz von Lackmuslösung hergestellt. Auf diesem Zuckerlackmuserum wachsen Diphtheriebacillen wie auf dem gewöhnlichen Loefflerschen Serum als feucht glänzende, erhabene Knöpfchen von weißer oder weißgelblicher Farbe; nur sind bisweilen die Kolonien um ein geringes kleiner als gleich alte auf dem gewöhnlichen Serum.

Geprüft wurden alte Sammlungsstämme des Institutes, frisch aus Kranken- und Leichenmaterial von mir isolierte Diphtheriestämme, einige der von mir bei der oben erwähnten Massenuntersuchung gewonnenen diphtheriebacillenähnlichen Bakterienstämme sowie von den hygienischen

Instituten Berlin, Gießen, Greifswald, Halle und Kiel mir zugesandte Diphtheriebacillen- und „Pseudodiphtheriebacillen“-Stämme und einige Xerosestämmen aus der Universitäts-Augenklinik Freiburg. Für die gütige Ueberlassung der Kulturen spreche ich an dieser Stelle den genannten Anstalten meinen verbindlichsten Dank aus.

Unter den Diphtheriebacillenstämmen zeigten die meisten lange schlanke, andere mittlere bis kurze, etwas plumpere Gestalt, alle die für Loefflersche Bacillen charakteristischen verschiedenartigen Formgebilde (Kolben, Hanteln, Spindeln etc.) in wechselnder Menge sowie die ihnen eigentümlichen tinktoriellen Merkmale, insbesondere die Neissersche Reaktion; sämtliche Stämme erwiesen sich in verschiedenem Grade als pathogen für Meerschweinchen (mit einem Stamme konnte aus äußeren Gründen der Tierversuch nicht angestellt werden), avirulente echte Diphtheriebacillen fand ich weder unter den im Institute gezüchteten noch unter den von anderer Seite zugesandten Stämmen.

Die sogenannten „Pseudodiphtheriebacillen“ wiesen sehr verschiedene Grade von Aehnlichkeit mit Diphtheriebacillen in morphologischer Beziehung auf; zumeist hatten sie kurze, plumpe Gestalt; bei Färbung mit Loefflerschem Methylenblau und nachfolgender Differenzierung in schwach angesäuertem Wasser waren sie mehr oder weniger ungleich segmentiert gefärbt; die Neissersche Körnchenfärbung fiel, wenn überhaupt, nur an einzelnen Individuen typisch aus. Die meisten Stämme hatten auf gewöhnlichem Agar ähnlich den Diphtheriebacillen ein zartes schleierartiges Wachstum, einige bildeten darauf dicke, saftige Rasen. Sämtliche Stämme waren für Meerschweinchen avirulent.

Die 3 Xerosestämmen wachsen auf gewöhnlichem Agar sehr zart; es sind kurze, schmale Stäbchen, die oft durch querverlaufende Spalten segmentiert erscheinen; einzelne längere Stäbchen zeigen kolbige Verdickungen an den Enden; nur ganz selten findet sich eine Andeutung von Neisserscher Körnchenfärbung.

Die folgende Tabelle gibt Aufschluß über die Meerschweinchenpathogenität der geprüften Kulturen, ihr Wachstum auf gewöhnlichem Agar und die Reaktion auf dem Zuckerlackmuserum als Ausdruck des Gärungsvermögens gegenüber den verschiedenen Zuckerarten. Die Prüfung dieser Reaktion wird in der Weise ausgeführt, daß mit einer starken Platinöse Reinkulturmaterial im Strich auf die Platten, deren Sterilität zuvor durch 24-stündigen Aufenthalt im Brutschrank geprüft sein muß, verimpft wird; auf einer Platte können 2—3 Striche angelegt werden. Die Platten werden im Brutschrank bei 37° C gehalten und nach 24 Stunden sowie an den folgenden Tagen betrachtet und zwar bei auffallendem Licht, gegen eine weiße Unterlage gehalten. Die Säurebildung ist dann in einer von den Rändern des Impfstriches her zunehmenden Rotfärbung des Nährbodens bemerkbar (Tabelle p. 622).

Hiernach haben bei meiner Prüfung 20 teils länger fortgezüchtete, teils frisch aus dem Körper isolierte echte Diphtheriebacillenstämmen konstant Dextrose und Lävulose unter Säurebildung angegriffen, während sie sich den anderen geprüften Zuckerarten gegenüber inaktiv verhielten, mit Ausnahme des Maltosenährbodens, auf dem einzelne wenige Stämme eine allerdings nicht ausgesprochene und auch nicht konstante positive Reaktion ergeben haben, weshalb im weiteren Verlauf der Untersuchungen von der Verwendung dieser Zuckerart abgesehen wurde.

Das Verhalten der sogenannten „Pseudodiphtheriebacillen“ -

Tabelle.

Lfde No.	Bezeichnung der Kulturen	Herkunft der Kulturen	Pathogenität für Meer-schweinchen	Wachstum auf Agar	Reaktion auf Zuckerlackmusserum <sup>1)</sup>						
					Dextrose	Lävulose	Mannit	Maltose	Milch-zucker	Robr-zucker	Ohne Zucker
<b>A. Diphtherie.</b>											
1	Samml. I	Inst. f. Infektionskr.	+	sehr zart	+	+	—	—	—	—	—
2	" II	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
3	" III	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
4	Lueder	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
5	Dahm	"	+	" "	+	+	—	+++	—	—	—
6	Blank	"	+	" "	+	+	—	+++	—	—	—
7	Schroetter	"	+	" "	+	+	—	+++	—	—	—
8	R.V. I	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
9	" II	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
10	" III	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
11	" IV	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
12	" V	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
13	A "	Hyg. Inst. Gießen	nicht geprüft	" "	+	+	—	—	—	—	—
14	Hölzinger	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
15	Cantor	Hyg. Inst. Halle	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
16	Landmann	"	+	" "	+	+	—	—	—	—	—
17	87	Hyg. Inst. Greifswald	+	" "	+	+	—	+	—	—	—
18	148	"	+	" "	+	+	—	+	—	—	—
19	811	Hyg. Inst. Kiel	+	" "	+	+	—	+	—	—	—
20	814	"	+	" "	+	+	—	+	—	—	—
<b>B. Sogenannte Pseudodiphtherie.</b>											
21	Unger	Inst. f. Infektionskr.	0	sehr zart	—	—	—	—	—	—	—
22	Bentsch	"	0	" "	—	—	—	—	—	—	—
23	Holleben	"	0	" "	—	—	—	—	—	—	—
24	Staub	"	0	" dick	—	—	—	—	—	—	—
25	99	Hyg. Inst. Greifswald	0	dick, saftig	⊙	+	—	—	—	+	—
26	111	"	0	" zart	⊙	+	—	—	—	+	—
27	Halle	Hyg. Inst. Halle	0	" "	++	—	—	—	—	—	—
28	Berlin	Hyg. Inst. Berlin	0	" "	—	—	—	—	—	—	—
29	630	Hyg. Inst. Kiel	0	dick, saftig	—	+	—	—	—	—	—
30	302	"	0	sehr zart	—	—	—	—	—	—	—
31	2349	"	0	dick, saftig	⊙	+	—	—	—	—	—
32	2349 (Haut)	"	0	" "	—	+	—	—	—	—	—
33	1997	"	0	sehr zart	—	—	—	—	—	—	—
<b>C. Xerose.</b>											
34	Kiel	Hyg. Inst. Berlin	0	sehr zart	—	—	—	—	—	—	—
35	Xerosis epith.	Augenkl. Freiburg	0	" "	—	—	—	—	—	—	—
36	Trenke	"	0	" "	—	—	—	—	—	—	—

Stämme war verschieden, ein Beweis mehr dafür, daß unter diesem Namen die mannigfachsten — wenn auch untereinander und mit den Diphtheriebacillen verwandten — Bakterienarten verstanden werden. Von

1) In diesen Spalten bedeutet:

+ Rotfärbung (durch Vergärung).

— Keine Rotfärbung.

+ Verschieden starke Andeutung von Rotfärbung.

⊙ Andeutung von Rotfärbung, die nach 2—3 Tagen verschwunden ist.

13 Stämmen griffen 6 keine der geprüften Zuckerarten an; 5 riefen auf den Lävulose-Platten deutliche Rotfärbung hervor, veranlaßten aber im Dextrose-Nährboden keine oder nur angedeutete vorübergehende Säurebildung; 2 hatten auch ein gewisses Gärungsvermögen gegenüber Rohrzucker, unterschieden sich also auch hierdurch von den echten Diphtheriebacillen.

Die 3 Xerosebacillen-Stämme ließen sämtliche Zuckernährböden unverändert.

Somit war unter den diphtheriebacillenähnlichen Stämmen keiner, der bei meinen Prüfungen Dextrose und Lävulose konstant und gleichzeitig, wie die echten Loefflerschen Bacillen es taten, angegriffen hätte, wobei zu betonen ist, daß die durch letztere hervorgerufene positive Reaktion (Rotfärbung) tagelang sich hielt, während unter den Pseudostämmen einzelne auf dem einen oder anderen Zuckernährboden eine mehr oder weniger deutliche Rotfärbung erzeugten, die aber nach 2 bis 3 Tagen bereits verschwunden war.

Nach diesen Ergebnissen ist es freilich noch nicht ausgeschlossen, daß bei weiterer Nachprüfung sich doch auch einmal ein „Pseudodiphtheriebacillen“-Stamm finden kann, der sowohl Dextrose wie Lävulose angreift; dagegen scheint die Fähigkeit, beide Zuckerarten unter Säurebildung konstant zu vergären, ohne Ausnahme allen echten Loefflerschen Diphtheriebacillen eigentümlich zu sein. Für die praktische Diagnose ergibt sich also das Resultat, daß ein verdächtiger Stamm, der nicht gleichzeitig und konstant auf Dextrose- und Lävuloseplatten Rotfärbung gibt, sofort als Pseudostamm angesprochen werden kann, womit sich für diesen Stamm der Tierversuch erübrigen würde. Und insofern glaube ich, daß das beschriebene Verfahren differentialdiagnostisch verwertbar ist, weshalb es zur Nachprüfung empfohlen wird.

Es lag nahe, daß ich versuchte, das beschriebene Zuckerlackmuserum schon gleich beim ersten Ausstrich von verdächtigem Material (z. B. Mandelabstrich) als diagnostisches Hilfsmittel zu verwerten. In der Tat trat das erwartete Resultat ein. Die mit diphtherischen Mandelbelägen bestrichenen Dextrose- und Lävuloseplatten zeigten nach 24 Stunden mehr oder weniger ausgedehnte Rotfärbung, die in den folgenden Tagen sich weiter ausbreitete, während z. B. die Rohrzuckerplatten blau waren und blieben. Doch schon der erste Kontrollversuch mit einem Mandelabstrich, der sicher keine Diphtheriebacillen enthielt, ergab dieselben Reaktionen unter dem Einflusse anderer Bakterienarten der Mundflora, deren Verhalten im einzelnen ich nur insofern einer Prüfung unterzog, als es sich um Streptokokken und Staphylokokken handelte. Einige wenige von mir geprüfte Reinkulturen beider Arten zeigten intensive Säurebildung auf den Dextrose und Lävulose enthaltenden Nährböden, während auch sie den Rohrzucker nicht angriffen. Es wird daher das Verfahren auf die Prüfung von Reinkulturen beschränkt bleiben müssen. Dabei ist es zweckmäßig, neben dem zu prüfenden Stamme einen sicher echten Diphtheriebacillenstamm auf derselben Platte auszustreichen, um sogleich festzustellen, daß der verwendete Nährboden die für die Reaktion erforderliche Zusammensetzung hat.

9. Juli 1907.

## Inhalt.

- Bruschettini, A. u. Ansaldo, L.**, Studien über den Gonococcus, p. 512.
- Eber, A.**, Wie verhalten sich die nach dem v. Behringschen Tuberkulose-schutzimpfungsverfahren immunisierten Rinder gegenüber einer wiederholten verstärkten natürlichen Infektion, und wie bewährt sich das Schutzimpfungsverfahren bei der praktischen Bekämpfung der Rindertuberkulose? (Schluß), p. 569.
- Fermi, Claudio**, Uebertragung der Tollwut durch die Nasenschleimhaut, p. 502.
- Friedberger, E.**, Zur Geschichte der Typhusschutzimpfung des Menschen, p. 560.
- Galli-Valerio, B.**, Notes de Parasitologie, p. 523.
- Lourens, Louis F. D. E.**, Untersuchungen über die Filtrierbarkeit der Schweinepestbacillen (*Bac. suispestifer*). (Forts.), p. 504.
- Pane, N.**, Ueber den Mechanismus der mikrobiziden Tätigkeit des Organismus in den Infektionen, p. 535.
- Beyher, Paul**, Ueber die Bedeutung der bakteriologischen Befunde bei den im Verlaufe des Keuchhustens auftretenden Bronchopneumonien, p. 493.
- Bissling, Paul**, Beiträge zur Biologie normaler Tiersera. (Forts.), p. 541.
- Rothe**, Beitrag zur Differenzierung der Diphtheriebacillen, p. 618.
- Euata, Guido Q.**, Die Toxizität der filtrierten Kulturen der Cholera vibrionen. (Forts.), p. 486.
- Simon, F. B.**, Experimentelle Untersuchungen über das monogene Streptokokkenimmunserum, p. 563.
- Spengler, Carl**, Artverschiedenheit der Tuberkel- und Perlsucht bacillen, die symbiotische Doppelätiologie der menschlichen Tuberkulose und die Doppelvaccination, p. 481.
- Vessprémi, D.**, Züchtungs- und Tierversuche mit *Bacillus fusiformis*, *Spirochaete gracilis* und *Cladothrix putridogenes*. Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen gangränösen Entzündungen. (Forts.), p. 515.
- Wrzosek, Adam**, Weitere Untersuchungen über die Züchtung von obligatorischen Anaeroben in aërober Weise, p. 607.
- Zabolotny, D. und Maslakowetz**, Beobachtungen über Beweglichkeit und Agglutination der *Spirochaete pallida*, p. 532.
- Zebrowski, Boleslas**, Précipitation et déviation de l'alexine. Comparaison entre les deux méthodes biologiques de détermination de la nature du sang, p. 556.

---

*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.*

---

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLIV. Heft 7.

*Nachdruck verboten.*

## Die Toxizität der filtrierten Kulturen der Choleravibrionen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bologna.  
Direktor Prof. G. Sanarelli.]

Von Prof. **Guido Q. Ruata**, beauftragtem Direktor.

(Deutsch von Prof. O. v. Negri z. M.)

(Schluß.)

2) Das Ammoniak nach seiner Bildung durch eine Säure periodisch zu neutralisieren. Wir haben eben dieses Mittel versucht, indem wir Milchsäure anwandten, denn aus unseren vorhergehenden Beobachtungen wußten wir, daß milchsaures Ammonium auf die Bildung der Granulationen keinen Einfluß hat. Dieses Mittel ist aber unvollkommen, denn das Ammoniak, welches sich zwischen der einen und anderen Neutralisationsperiode bildet, übt gewiß auf die Vibrionen eine schädliche Wirkung aus; überdies erschweren die vorhandenen Niederschläge, welche in der Flüssigkeit in Suspension bleiben, das Filtrieren sehr und können außerdem ein entstandenes Toxin fixieren. Mit dieser Methode haben wir eben nur wenig zuverlässige Resultate erhalten, deswegen haben wir dieselbe verlassen.

3) Wir beschlossen sodann, anstatt das in den Kulturen schon gebildete Ammoniak periodisch niederzuschlagen, es in eben dem Maße, wie es entstand, zu neutralisieren (Ammoniak in statu nascendi). Zu diesem Verfahren gebrauchten wir die dazu fähigen Stoffe, die im kulturellen Mittel sich konstant vorfinden, oder in demselben mit dem Ammoniak sich parallel herantreiben. Wenn man z. B. der Kulturflüssigkeit Fibrin oder zur Schwammform koagulierte Eialbumin hinzusetzt, müßten diese Stoffe, dank ihrer Säurewirkung, die Neutralisation des Alkalis (Ammoniak) vollführen, das sich in der Flüssigkeit entwickelt und sie angreift. Dieses Mittel gibt aber wegen der verschiedenen Schwierigkeiten, wovon die des Filtrierens die erste ist, keine guten Resultate.

Wir haben uns also nach einem anderen Mittel umgesehen, und zwar nach einem solchen, womit man Vibriokulturen erhalten könnte, die mit einem nicht pathogenen Vibrio assoziiert wären, welcher, dank seinen Lebensfunktionen, Säuren oder eine Säure hervorbringen sollte, welche das Ammoniak im Maße seiner Entstehung neutralisieren könnte.

Sehr geeignet zu diesem Zwecke erschien sogleich der bulgarische Bacillus, dessen säuregenetischen Eigenschaften von Metschnikoff und seiner Schule<sup>1)</sup> so trefflich hervorgehoben wurden. Wie bekannt, entwickelt sich dieser Bacillus besonders üppig auf Milch und Molken, woraus entspringt, daß die ganze Schwierigkeit darin bestand, ein Mittel ausfindig zu machen, welches sowohl dem Vibrio als dem bulgarischen Bacillus günstig gewesen wäre. Milch ließen wir wegen der Unbequemlichkeit der Filtrierung beiseite und bereiteten Milchserum nach Petruschky zu; darin züchteten wir separat den bulgarischen Bacillus und den „Kolle 74“; dieser letztere aber gibt nur sehr langsame und kümmer-

1) Metschnikoff, *Essais optimistes*. Paris (Maloine édit.) 1907. p. 232 ff.

liche Kulturen, wie die anderen von uns versuchten Vibrionen („B. 1903“, „Saigon“, „Bombay“, „Cassino“, „Manila“). Milchserum war also nicht das geeignetste Mittel.

Im Milchserum mit Hinzufügung von Pepton und Milchzucker hingegen sind die Ergebnisse viel besser. Dieses Nährmittel, welches auch ein vorzüglicher Boden für Generalkultur ist, wird von uns folgendermaßen zubereitet:

Zwei Liter frischer Milch werden bei 40° C im Marienbad mit einer 10-proz. Chlorsäurelösung koaguliert; das so gebildete Serum wird kalt auf Chardinpapier filtriert und sein Volumen mit destilliertem Wasser auf 2 l zurückgebracht. Man setzt 1 Proz. Milchzucker hinzu, neutralisiert mit kohlensaurem Natrium oder Natriumhydrat, kocht bei 100° C eine halbe Stunde hindurch und filtriert — wenn nötig mehr als einmal — auf kalt benetztem Papier und erhält eine klare Flüssigkeit. Zu 1½ l dieser Flüssigkeit fügt man eine Lösung von 60 g Pepton Defresne in 500 ccm Wasser hinzu, welches wie das gewöhnliche peptonisierte Wasser dargestellt wurde, so daß die Masse 3 Proz. Pepton enthalten wird; man verteilt und sterilisiert bei 100° C für 3 aufeinanderfolgende Tage, jedesmal 15 Minuten hindurch. Manchmal ist es nützlich, dem Nährmittel Lackmustinktur beizufügen.

In dieser Kulturflüssigkeit entwickeln sich sehr gut sowohl der Vibrio als der bulgarische Bacillus. Indem wir aber den Verlauf der Reaktion studierten, bemerkten wir sogleich, daß in dieser Flüssigkeit der Vibrio alsbald eine bedeutende Säure hervorruft, ein unbestreitbares Anzeichen, daß der Milchzucker angegriffen ist, auf dessen Kosten sich die Milchsäure bildet, wie schon von Kuprianow<sup>1)</sup> nachgewiesen worden war, und zwar nicht nur für Milchzucker allein, sondern auch für andere Arten Zucker.

Alle verschiedenen Stämme von Choleravibrionen verhalten sich auf gleiche Weise; wir haben mit dem „Kolle 74“, dem „Saigon“ und dem

Alter der Kulturen	Peptonisiertes Wasser			Peptonisiertes Wasser mit Milchzucker			Peptogelatine nach Sanarelli			Peptonisiertes Milchserum mit Milchzucker		
	Kolle 74	Saigon	Manila	Kolle 74	Saigon	Manila	Kolle 74	Saigon	Manila	Kolle 74	Saigon	Manila
1 Tag	alkal.	alkal.	alkal.	alkal.	alkal.	leicht alkalisch	alkal.	alkal.	leicht alkalisch	leicht alkalisch	leicht alkalisch	rein alkalisch
2 Tage	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	stark alkalisch	desgl.	desgl.	rein alkalisch	desgl.	stark alkalisch	desgl.
3 „	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	leicht sauer	rein sauer	desgl.	desgl.	desgl.	neutral	leicht alkalisch	leicht alkalisch
4 „	desgl.	desgl.	desgl.	neutral	rein sauer	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	sauer	rein sauer	rein sauer
5 „	desgl.	desgl.	desgl.	leicht sauer	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	stark sauer
6 „	desgl.	desgl.	desgl.	rein sauer	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
7 „	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
8 „	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
9 „	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
10 „	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.

Die Reaktionen sind auch über die 10 Tage hinaus, während der Periode, in welcher die Beobachtung fortgesetzt wurde, unverändert geblieben.

1) Zit. bei Courmont, Précis de Bactériologie. 1907. p. 750.



„Manila“, auf verschiedene Nahrungsmittel ausgesät, komparative Beobachtungen angestellt, deren Resultate auf vorstehender Tabelle verzeichnet sind.

Nach diesen Experimenten war es überflüssig, noch eine Symbiose zwischen dem *Vibrio* und dem bulgarischen *Bacillus* herbeizuführen, denn unser Zweck war schon erreicht.

Wir haben also mit dem „Kolle 74“ eine Serie Phiolen nach Gayon zur Kontrolle ausgesät, welche peptonisiertes Wasser enthielten, und eine andere Serie peptonisierte Milch mit Milchzucker enthaltend, und setzten sodann gleich die Gefäße in den Brutschrank bei 37° C (11. Febr. 1907).

13. Febr. 1907. Die Kulturen sind vollständig entwickelt; jene im peptonisiertem Wasser sind alkalisch, die anderen neutral oder sehr leicht alkalisch.

Man filtriert mit Kerze nach Berkefeld zwei Kulturen — in jeder Art eine — und inokuliert sogleich (Kulturen 2 Tage alt).

Meerschweinchen No. 100. Gewicht 220 g. Erhält ins Peritoneum 8 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Milchserum mit Milchzucker (neutrale Reaktion).

Kein Symptom, das Tier überwindet.

15. Febr. 1907. Vier Tage alte Kulturen. Man filtriert und inokuliert sofort.

Meerschweinchen No. 101. Gewicht 230 g. Erhält ins Bauchfell 5 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Wasser (alkalische Reaktion).

Gewöhnliche Symptomatologie, geht in ungefähr 24 Stunden ein; die Autopsie bietet den bekannten Befund dar, die Aussaaten sind steril.

Meerschweinchen No. 105. Gewicht 220 g. Erhält ins Peritoneum 8 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Milchserum mit Milchzucker (sauere Reaktion).

Kein Symptom, das Tier überwindet.

Meerschweinchen No. 106. Gewicht 200 g. Erhält ins Bauchfell 5 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Wasser (alkalische Reaktion).

Gewöhnliche Symptomatologie, das Tier geht binnen 24 Stunden ein; die Autopsie weist den bekannten Befund nach. Aussaaten steril.

12. Febr. 1907. Kulturen fünf Tage alt. Man filtriert und inokuliert sie sogleich.

Meerschweinchen No. 107. Gewicht 215 g. Erhält ins Bauchfell 8 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Milchserum mit Milchzucker (sauere Reaktion).

Kein Symptom, das Tier überwindet.

Meerschweinchen No. 108. Gewicht 210 g. Erhält ins Bauchfell 5 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Wasser (alkalische Reaktion).

Geht in ungefähr 20 Stunden mit dem gewöhnlichen klinisch-anatomischen Bilde ein. Aussaaten steril.

21. Febr. 1907. Kulturen zehn Tage alt. Man filtriert und inokuliert sofort.

Meerschweinchen No. 109. Gewicht 230 g. Erhält ins Bauchfell 8 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Milchserum mit Milchzucker (sauere Reaktion).

Das Meerschweinchen zeigt sich alsbald sehr niedergeschlagen und sein Zustand verschlimmert sich rasch; es geht in der neunten Stunde nach der Inokulation ein.

Die Autopsie zeigt verbreitete Kongestion des Bauchfelles mit reichlicher Ergießung; die Organe sind ebenfalls kongestioniert; der Dünndarm hat diarrhöischen Inhalt.

Aussaaten steril.

Meerschweinchen No. 110. Gewicht 225 g. Erhält ins Bauchfell 5 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Wasser.

Geht in ungefähr 21 Stunden unter dem gewöhnlichen Bilde ein. Aussaaten steril.

Aus diesen Beobachtungen geht deutlich hervor, daß in den ersten Tagen der Kultur, d. h. nur in der Periode, in welcher die Vibrionen zum großen Teile normal und folglich biologisch tätig sind, die Filtrate der peptonisierten Milchserumkulturen mit Milchzucker in ausgesprochener Weise weniger giftig sind; und da in diesem Mittel sich Stoffe bilden, die von denen, welche in den albuminoiden Stoffen, ohne Milchzucker, sich gebildet haben, gänzlich verschieden sind — und für welche wir die Toxizität nachgewiesen haben — wird andererseits auch bewiesen, daß die ersten entweder kein oder ein ungemein weniger starkes Giftvermögen im Vergleich mit den zweiten besitzen.

Nach unserer Meinung ist der Tod des Meerschweinchens No. 109 zum größten Teile dem endocellularen Gifte zuzuschreiben, welches sich dank der Auflösung des mikrobischen Körpers in der Flüssigkeit verbreitet hat, denn wir haben schon gesehen, daß die Stoffwechselprodukte in diesem Mittel nicht genügend sind, ihm ein solches Giftvermögen zu verleihen, welches fähig ist, morböse Wirkungen von einer gewissen Bedeutung hervorzurufen.

Gewiß war auch in der Flüssigkeit, die dem Meerschweinchen No. 110 inokuliert wurde, Endotoxin vorhanden, und dieses, in Gemeinschaft mit den Produkten des Stoffwechsels, die — wie wir wissen — im peptonisierten Wasser ohne Milchzucker für sich allein ein hervortretendes Giftvermögen besitzen — hat zum Tode des Tieres beigetragen.

Die Kulturen, von denen diese Filtrate herrührten, boten in der Tat unter dem Vergrößerungsapparate eine vollständige granulare Entartung der Vibrionen mit reichlichen Detriten der bakteriischen Körper dar, und dies gibt eben Aufschluß über das Vorhandensein des endocellularen Toxins in den Filtraten.

Auch in den mit Milchzucker vermischten Mitteln bilden sich die Granulationen sehr rasch aus, ein unbestreitbares Anzeichen, daß auch in ihnen, wie in allen bekannten kulturellen Böden, die Vibrionen alsbald die zu ihrer Entwicklung ungünstigsten Verhältnisse vorfinden. Natürlich können wir diesen Vorfall nicht dem Ammoniak zuschreiben, aber Stoffen ganz verschiedener Natur, deren Einfluß auf die Keime dennoch gleichfalls schädlich ist.

Eine analoge Beobachtung aber für Bouillonon, denen Saccharosium hinzugefügt wurde, ist auch von Sclavo<sup>1)</sup> gemacht worden. Er sah, daß diese Bouillonon unverzüglich vom Choleravibrio sauer gemacht werden, und daß dieser Keim in solchen Mitteln eine rasche morphologische und biologische Entartung erleidet, sogar bis zur Ertötung innerhalb 7—8 Tagen unter dem verderblichen Einflusse der Stoffwechselprodukte, die sich in den Kulturen herantreiben.

Der Versuch, welcher den Tod der Meerschweinchen No. 109 und No. 110 herbeiführte, wurde später wiederholt, aber anstatt des Milch-

1) Rivista d'Igiene e Sanità pubblica. 1892. p. 509.

serums wurde eine Kultur in peptonisiertem Wasser mit Hinzufügung von Milchzucker verwendet, welche (siehe die Tabelle) dieselben charakteristischen Erscheinungen darbietet.

24. April 1907. Zwölf Tage alte Kulturen von „Kolle 74“ in einfachem peptonisiertem Wasser mit Milchzucker. Die erste ist sauer, die zweite alkalisch. In beiden sind alle Vibrionen granuliert. Man filtriert mit Kerzen nach Berkefeld und inokuliert sogleich.

Meerschweinchen No. 180. Gewicht 200 g. Empfängt ins Bauchfell 5 ccm Filtrat in peptonisiertem Wasser mit Milchzucker.

Kurze Zeit nach der Inokulation wird das Tier von den gewöhnlichen krampfartigen Zuckungen befallen, sodann fällt es in einen ziemlich starken Mattigkeitszustand, aus welchem es sich nach einigen Stunden wieder erholt. Es überlebt.

Meerschweinchen No. 181. Gewicht 230 g. Erhält ins Bauchfell 5 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Wasser mit Milchzucker.

Kein bemerkenswertes Symptom; das Tier überwindet.

Meerschweinchen No. 182. Gewicht 260 g. Erhält ins Bauchfell 10 ccm Filtrat der Kultur in einfachem peptonisiertem Wasser.

Geht in ungefähr 8 Stunden, unter dem gewöhnlichen Bilde, ein.

Meerschweinchen No. 183. Gewicht 190 g. Erhält ins Peritoneum 10 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Wasser mit Milchzucker.

Vorübergehende Niedergeschlagenheit, von der sich das Tier alsbald erholt. Es übersteht.

Meerschweinchen No. 184. Gewicht 170 g. Erhält ins Peritoneum 15 ccm Filtrat der Kultur in einfachem peptonisiertem Wasser.

Geht in 7 Stunden unter dem gewöhnlichen Bilde ein.

Meerschweinchen No. 185. Gewicht 240 g. Erhält ins Bauchfell 15 ccm Filtrat der Kultur in peptonisiertem Wasser mit Milchzucker.

Nach ungefähr einer halben Stunde zeigt sich das Tier niedergeschlagen, die Symptome werden rasch schwerer, und gegen die 9. Stunde geht es ein.

Diese Ergebnisse wiederholen also die früher beschriebenen Umstände und bestätigen die Hypothese der Verbreitung des Endotoxins in der Flüssigkeit. Das Toxin war aber im Quantum von 5 ccm noch nicht genügend, für sich allein das Tier zu töten, und auch im Quantum von 10 ccm nicht, wie man aus den Meerschweinchen No. 181 und No. 183 ersieht, während es im Quantum von 15 ccm Filtrat (Meerschweinchen No. 184) wohl genügend war. Im Falle des einfachen peptonisierten Wassers aber, mit dem Altern der Kulturen, eliminieren sich nach und nach die flüchtigen Stoffe, welche wegen der beendigten mikrobischen Tätigkeit nicht mehr ersetzt werden, so daß wir uns wohl erklären können, wie in der Dosis von 5 ccm Filtrat (Meerschweinchen No. 180) sie nicht mehr in tödlichem Quantum enthalten waren, während sie in der Dosis von 10 ccm Filtrat (Meerschweinchen No. 182) mit dem schon verbreiteten Endotoxin den Tod des Tieres herbeiführen konnten, was hingegen für dasselbe Quantum des anderen Filtrates (Meerschweinchen No. 183) noch nicht eintraf, und in diesem Filtrate kann man kein anderes toxisches Produkt annehmen, als das einzige endocellulare Gift, obwohl in nicht tödlicher Dosis.

Unsere Forschungen, in Verbindung mit dem, was man über das Wesen der toxischen Produkte des Choleravibro schon weiß, führen uns zu dem Schlusse, daß das Stadium, in welchem er ein Toxin ausscheiden könnte, äußerst beschränkt ist durch das rasche und plötzliche Eintreten der entartenden Phänomene, die den Stoffwechselprodukten zu verdanken sind, welche sich in der Kulturflüssigkeit ausbilden und die Lebenstätigkeit der mikrobischen Zelle unterbrechen und unterdrücken. — Andererseits rührt während des nämlichen Zeitabschnittes die Toxizität der Filtrate zum größten Teile wirklich von Stoffen flüchtiger Natur her, die sich durch Wirkung des Stoffwechsels gebildet haben. Wenn man diese Stoffe eliminiert, verliert diese residuale Flüssigkeit in ausgesprochener Weise ihr Giftvermögen. Wollte man also auch das Vorhandensein des Toxins zugeben, so wäre dessen Quantum so beschränkt und so wenig schätzbar, daß es für sich allein gar keine irgend bedeutende Wirkung auf die Versuchstiere, denen es inokuliert wird, hervorbringen könnte.

Wir glauben endlich, daß in demselben Maße, wie die Kulturen alt werden, in der Kulturflüssigkeit sich ein toxischer Stoff protoplasmatischen Ursprunges verbreitet; dieses Endotoxin, welches ein Produkt der vollständigen Auflösung der Vibrionen ist, die sich wegen der von uns hervorgehobenen Ursachen auf dem Wege der Auflösung befinden, kann seine toxischen Einflüsse und Wirkungen denen der Stoffe zugesellen, die sich in der Flüssigkeit, dank dem Stoffwechsel, gebildet haben, und dieses gemeinsame Einwirken kann manchmal so stark sein, daß die Unterscheidung dieser Tätigkeiten nicht mehr möglich ist.

Es ist also nicht genau von einem durch Ausscheidung (Sekretion) von den Choleravibrionen hervorgebrachten Toxin zu sprechen, wenn man nicht zuerst die toxischen Produkte des Stoffwechsels und später das endocellulare Toxin beiseite läßt.

Bologna, im Mai 1907.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die Filtrierbarkeit der Schweinepestbacillen (*Bac. suipestifer*).

[Veröffentlichungen aus dem Reichsseruminstitut in Rotterdam.]

Von **Louis F. D. E. Lourens** aus Delfshaven (Holland),  
Unterdirektor des Reichsseruminstitutes in Rotterdam.

Mit 5 Figuren.

(Schluß.)

**Versuch 4.** Von einem Ferkel, gestorben an chronischer Pest, wobei aber die bakteriologische Untersuchung keine Pestbacillen aufwies, wurden Leber, Milz und Gekrösdrüsen zerkleinert, mit Wasser gemischt, nach 18 Stunden ausgepreßt und durch einen Berkefeld-Filter filtriert. Nachdem ein Kölbchen Filtrat durchgegangen ist, fügt man zu der Flüssigkeit im Filter 100 g Normalpferdeserum; dann wird wieder ein Kölbchen voll abfiltriert. — Kulturen, auf Agar und in Bouillon vom ersten Kölbchen sind nach 24 Stunden keimfrei; auf den Agarkulturen des zweiten Kölbchens sind aber schon nach 10 Stunden einige Kolonien sichtbar. Die Bacillen dieser Kolonien bewegen sich sehr lebhaft im hängenden Tropfen. In Traubenzuckerbouillon Gasbildung; sehr

wenig] in Milchzuckerbouillon; Milch gerinnt nicht, Indolbildung negativ. Ein Kaninchen, subkutan eingespritzt mit einem sehr kleinen Quantum, stirbt nach 5 Tagen. Der Bacillus ist typisch ein Schweinepestbacillus. Präparate, gefärbt mit Karbolfuchsin, zeigen wiederum eine Anzahl von Bacillen mit hellen Flecken und dunklen Polen, indem andere Exemplare ein mehr körniges Aussehen haben und auch vereinzelte Körner sind, wenn auch selten, anwesend (Fig. 4). — Das zuerst filtrierte Kölbchen ist keimfrei geblieben, wie sich nach wiederholten Untersuchungen herausstellte. Sofort nach der Filtration wurden aus dem ersten und dem zweiten Kölbchen mit einer sterilen Pipette je 2 g der Flüssigkeit genommen und diese, gemischt mit 20 g physiologischer Kochsalzlösung, subkutan an der inneren Schenkelfläche bei zwei Ferkeln, gekreuzt Yorkshire, 6 Wochen alt, eingespritzt. Die beiden Ferkel blieben ganz gesund, keine einzige Krankheitserscheinung wurde wahrgenommen, wiewohl das Ferkel, aus dem zweiten Kölbchen geimpft, sich etwas weniger gut entwickelte als das andere. 20 Tage später wurde das zweite Ferkel mit feingeriebener Milz und Leber eines Ferkels, welches nach Fütterung

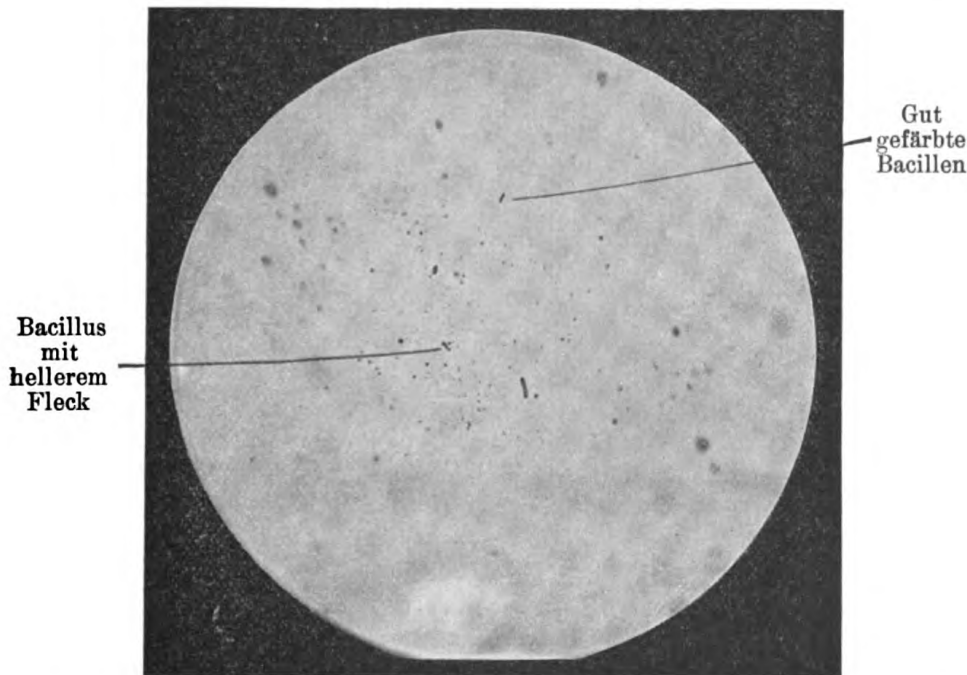


Fig. 4. Ausstrichpräparat der Pestbacillen, gewonnen in Reinkultur aus dem Filtrat aus den Organen eines an chronischer Schweinepest gestorbenen Schweines, gefärbt mit Karbolfuchsin. Nebst gut gefärbten Bacillen viele mit körnigem Leibe und vereinzelte Körner. Ein Bacillus mit hellerem Fleck.

mit Pestbacillen an Schweinepest gestorben war, an der inneren Schenkelfläche geimpft. Schon nach 12 Stunden war das Tier schwer krank; der Zustand verschlimmerte sich so sehr, daß es 50 Stunden nach der Infektion starb. Bei der Sektion, die wenige Stunden nach dem Tode ausgeführt wurde, fand man die Haut am Hals und an der Unterbrust mit dunkelroten Flecken besetzt, die Ohren waren violettblau, am Bauch in großer Ausbreitung, von der Infektionsstelle ausgehend, ein starkes subkutanes Oedem. Leber und Milz waren stark vergrößert und sehr blutreich; auf den Nieren sowie auf dem Pericardium viele Petechien; in der Bauchhöhle viel seröse Flüssigkeit. Dünn- und Dickdärme hämorrhagisch entzündet mit dünnem, blutigem Inhalt. Das Coecum und Colon waren chronisch entzündet und zeigten diphtheritische Geschwüre. Letztere Veränderung konnte nicht in einer so kurzen Zeit entstanden sein; sie muß also durch die Einspritzung mit dem Filtrat des zweiten Kölbchens hervorgerufen worden sein. Wenn die darin befindlichen Pestbacillen virulenter gewesen wären, so würde dieses Ferkel sofort mehr Erscheinungen gezeigt haben; das zurückgebliebene Wachstum in Vergleichung mit dem anderen Ferkel muß ganz gewiß dieser Darmaffektion

zugeschrieben werden. Bei der Sektion des ersten Ferkels wurde keine einzige Veränderung konstatiert.

Versuch 5. Ein Ferkel, 4 Wochen alt, gekreuzt Yorkshire, wird mit 5 g Preßsaft aus Leber und Milz eines Ferkels geimpft, das einer Verimpfung mit Lebersaft von einem an Schweinepest verendeten Kaninchen erlag. Das Ferkel entwickelt sich normal, ohne die geringsten Krankheitserscheinungen zu zeigen. An der Infektionsstelle aber entsteht allmählich ein Absceß. Nach 3 Wochen hat dieser die Größe eines Hühnereies; durch Punction mit einem sterilen Trokar wird dieser Eiter in einem sterilen Kolben aufgefangen. Bei der Untersuchung erweist es sich, daß in diesem Material eine Rein-



Fig. 5. Coecum mit diphtheritischem Belag von einem Ferkel, erkrankt nach der Einspritzung mit Filtrat aus den Organen eines an chronischer Schweinepest gestorbenen Schweines (Versuch 4).

kultur von Pestbacillen vorhanden ist. Der Eiter wird mit Bouillon verdünnt und durch einen Berkefeld-Filter filtriert. Drei Kölbchen, jedes mit etwa 75 g, werden aufgefangen und erweisen sich mittels Kulturen auf Agar und in Bouillon als keimfrei, wiewohl die Kölbchen im Brutapparat bei 37° C aufgestellt wurde. Nach 2 Tagen erscheint das dritte Kölbchen ein wenig trübe; auf einer Kultur auf Agar mit 1 Oese sind nach 24 Stunden 4 Kolonien von Pestbacillen gewachsen. Am folgenden Tage ist das Kölbchen ganz trübe, und eine Kultur, auf Agar mit 1 Oese angelegt, überzieht die ganze Oberfläche gleichmäßig.

Die beiden anderen Kölbchen bleiben nach wiederholter Untersuchung sogar nach 3 Wochen steril.

**B. Versuche mit Filtraten von Kulturen von Schweinepestbacillen.**

**Versuch 6.** Eine Bouillonkultur, 18 Stunden alt, herrührend von Pestbacillen aus dem Kaninchen, erwähnt in Versuch b, wird durch einen Chamberland-Filter F filtriert. Dieser war schon gebraucht worden, nachdem er durch Auskochen mit Natriumkarbonat und destilliertem Wasser gereinigt und dann sterilisiert worden war. Das Filtrat läuft kristallhell durch; Kulturen auf Agar sofort nach Filtration bleiben keimfrei. Mit dem klaren Filtrat werden 2 Kaninchen geimpft, jedes mit 5 g, das eine intraperitoneal, das andere subkutan. Die angefüllten Kölbchen werden dann auf 37° C gebracht und sind nach 20 Stunden ein wenig trübe; daraus angelegte Kulturen geben eine Reinkultur von Pestbacillen. Aus dem zuerst abgenommenen Kölbchen wachsen aus einer Oese auf Agar 5 Kolonien, aus der anderen aber eine unzählbare Menge.

Das intraperitoneal eingespritzte Kaninchen stirbt 3 Tage, das subkutan geimpfte Tier aber 7 Tage nach der Einspritzung; aus den Organen beider Tiere werden Reinkulturen von Pestbacillen erzeugt.

In den Ausstrichpräparaten der Kulturen aus der filtrierten Flüssigkeit, gefärbt mit Karbofuchsin, sieht man wiederum nebst der gewöhnlichen Form die stark gekörneltten Bacillen, wie auch die mehr isolierten Körner.

**Versuch 7.** Ein Kolben Bouillon, geimpft mit Pestbacillen, herrührend von einem vor kurzem an chronischer Schweinepest gestorbenen Ferkel, wird, nachdem die Kultur 23 Stunden lang bei 37° C gewachsen ist, durch ein Chamberland-Filter F filtriert. Als ein Kölbchen von etwa 75 g filtriert worden ist, fügt man zu der Bouillon etwa 50 g nicht keimfreies Pferdeserum, um zu sehen, ob eine Flüssigkeit, reich an Eiweiß, Einfluß auf die Filtration hat; dann wurden noch 3 Kölbchen voll abfiltriert. Kulturen auf Agar und in Bouillon sind keimfrei. Aus jedem Kölbchen wird ein Kaninchen mit 5 g der Flüssigkeit geimpft.

Darauf werden die Kölbchen auf 37° C gebracht und nach 18 Stunden ist das vierte Kölbchen durch Pestbacillen etwas getrübt (aus einer Oese erwachsen etwa 15 Kolonien). Das Kaninchen, welches aus dem vierten Kölbchen geimpft wurde, stirbt nach 5 Tagen; aus allen Organen wurden Pestbacillen isoliert.

Ein Ferkel, gekreuzt Yorkshire, etwa 14 Wochen alt, wird subkutan mit 5 g Flüssigkeit aus dem vierten Kölbchen geimpft, nachdem dieses 18 Stunden bei 37° C aufgestellt war. Am folgende Tage zeigte sich das Tier traurig, matt; verkroch sich in die Streu, hatte wenig Freßlust. Temperatur 39,8° C. In einer Woche verschwinden diese Erscheinungen allmählich und das Ferkel entwickelt sich weiter normal. Bei der Schlachtung, etwa 6 Wochen später, findet sich gar keine pathologisch-anatomische Veränderung vor.

Die 3 übrigen Kölbchen des Filtrates sind steril geblieben.

**Versuch 8.** Eine Kultur von Schweinepestbacillen in Bouillon, 3 Tage alt, wird durch ein Berkefeld-Filter in 2 Kölbchen abfiltriert. Durch Kulturen auf Agar und in Bouillon erwies sich das eine keimfrei, das andere nicht. In Bouillon war nach 18 Stunden eine leichte Trübung wahrzunehmen, indem auf dem Agar eine einzige kleine Kolonie gewachsen war. Bei Prüfung erwies sich diese Kolonie sowie auch ihre Bouillonkultur als eine Reinkultur von Pestbacillen. Die Kölbchen wurden bei Zimmertemperatur gehalten und blieben völlig klar. Bei 37° war das zweite Kölbchen am nächsten Tage durch Pestbacillen getrübt. Das erste blieb auch bei 37° C klar, bis nach 4 Tagen eine Trübung entstand, ebenfalls verursacht durch Pestbacillen. Ein Kaninchen, subkutan eingespritzt mit 1/2 g dieser Flüssigkeit, starb nach 7 Tagen. Aus allen Organen wurden Pestbacillen erzeugt. Trotzdem das erste Kölbchen während 4 Tagen keimfrei zu sein schien, waren darin doch Pestbacillen oder Teile derselben zugegen.

**Versuch 9.** Pestbacillen, auf schräg geronnenem Agar gewachsen, werden mit einem Spatel abgetragen, während einer Stunde in einem Achatmörser fein zerrieben, dann in Bouillon verteilt und diese Flüssigkeit durch einen Berkefeld-Filter filtriert. Sie läuft kristallhell durch, wird aufgefangen in 4 Kölbchen (in jedem etwa 80 g) und sofort daraus angelegte Kulturen bleiben keimfrei. Die Kölbchen werden bei 37° C gehalten und bleiben während 2×24 Stunden klar. Aus den alsdann daraus angelegten Kulturen wachsen auf der Agarkultur des dritten Kölbchens eine Kolonie, auf der des vierten aber 40 Kolonien von Pestbacillen. Nach 3×24 Stunden ist auch das zweite durch Pestbacillen getrübt, während das erste auch nach 20 Tagen noch keimfrei ist.

**Versuch 10.** Der vorstehende Versuch mit fein zerriebenen Pestbacillen wird wiederholt, jetzt aber durch einen Chamberland-Filter F filtriert. Es werden ebenfalls 4 Kölbchen aufgefangen, welche sich als steril erweisen. Nachdem sie 48 Stunden bei 37° gehalten worden sind, sind die Kölbchen 3 und 4 trübe. Durch Plattenkulturen, aus diesen angelegt, erweist sich, daß im vierten eine größere Anzahl vorhanden ist als im dritten. Die beiden anderen Kölbchen erscheinen nach 3 Wochen noch steril.

**Versuch 11.** Pestbacillen werden in einem eiweißfreien Nährboden von nachfolgender Zusammensetzung kultiviert: Kochsalz 5, Kaliumbiphosphat 2, Ammonium lacticum 6, käufl. Asparagin 4, Wasser 1000, verdünnte Natronlauge bis zur deutlich alkalischen Reaktion. Nach 24 Stunden Filtration durch einen Kitasato-Filter. Die Flüssigkeit läuft wasserhell durch. Der Kolben wird in den Brutapparat bei 37° C gestellt und bleibt daselbst während 2×24 Stunden klar; dann tritt Trübung ein, welche die Flüssigkeit am folgenden Tage sehr trübe macht. Daraus angelegte Kulturen ergeben eine Reinkultur von Pestbacillen. Im Kolben war etwa 150 g Filtrat. In Präparaten, gefärbt mit Karbolfuchsin, sieht man auch bei diesen Bacillen ein stark körniges Aussehen.

**Versuch 12.** Eine Kultur von Pestbacillen, 46 Stunden alt, in obenerwähntem eiweißfreien Nährboden, wird durch einen Berkefeld-Filter filtriert. Nachdem 2 Kölbchen, jedes mit etwa 75 g, durchgelaufen sind, wird der im Filter noch vorhandene Flüssigkeit 50 g normales Pferdeserum beigesetzt und dann wieder 2 ähnliche Kölbchen abfiltriert. Alle Kölbchen waren steril und sind auch, nachdem sie auf 37° C gehalten waren, keimfrei geblieben.

**Versuch 13.** Eine Kultur in Bouillon von Pestbacillen eines an subakuter Schweinepest gestorbenen Schweines, etwa 12 Wochen alt, deren Bacillen keinen körnigen Bau aufweisen und bei welchen auch keine hellen Flecke im Mittelstück wahrzunehmen sind, wird nach 24-stündigem Wachstum durch einen Chamberland-Filter F in 5 Kölbchen abfiltriert. Alle werden sofort bei 37° C aufgestellt, bleiben aber steril. Derselbe Versuch wird wiederholt, jetzt aber durch einen Berkefeld-Filter filtriert. Auch die Kölbchen sind, wiewohl auf 37° C gehalten, nach 3 Wochen noch keimfrei.

**Versuch 14.** Pestbacillen, verimpft in flüssiges Pferdeserum, werden 24 Stunden später durch einen Chamberland-Filter F filtriert. 3 Kölbchen, jedes zu 80 g, werden gefüllt. Kulturen auf Agar und Bouillon sind keimfrei. Die Kölbchen, auf 37° C gebracht, bleiben steril. Zwar tritt nach 8 Tagen eine Trübung ein, diese wird aber nicht durch Bakterien veranlaßt.

**Versuch 15.** Eine Pestbacillenkultur in Bouillon, 18 Stunden alt, filtriert durch einen Chamberland-Filter B (diese Nummer wird jetzt nicht mehr angefertigt; zufällig aber war noch ein neues Exemplar vorhanden) wurden 5 Kölbchen, jedes zu etwa 80 g, gefüllt. Kulturen auf Agar und in Bouillon, sofort nach Filtration, sind keimfrei. Bei 37° C zeigen die Kölbchen 4 und 5 nach 24 Stunden eine leichte Trübung, veranlaßt durch Pestbacillen. Die 3 übrigen bleiben steril.

**Versuch 16.** Eine Bouillonkultur, 90 Stunden alt, wird durch einen Pukall-Filter filtriert; etwa 300 g Filtrat werden in einen Kolben gesammelt. Das Filtrat ist kristallhell, Kulturen auf Agar und Bouillon bleiben steril. Dieser Kolben, auf 37° C gebracht, ist am folgenden Tage durch Pestbacillen merklich getrübt.

Von derselben Bouillonkultur, jetzt 114 Stunden alt, wird das übrige durch einen Pukall-Filter getrieben, wobei noch 200 g Filtrat erhalten werden. Kulturen hieraus sind keimfrei. Dieser Kolben, auf 37° C gebracht, ist nach 24 Stunden noch klar, nach 48 Stunden aber ist eine leichte Trübung durch Pestbacillen wahrzunehmen; ein geimpftes Meerschweinchen stirbt nach 7 Tagen.

Alle Pestbacillen, sowohl diejenigen aus der ursprünglichen Kultur wie diejenigen aus der Filtraten, haben einen körnigen Leib.

**Versuch 17.** Eine Bouillonkultur, 18 Stunden alt, von demselben Stamm wie in den vorigen Versuchen, wird durch einen Berkefeld-Filter filtriert. 7 Kölbchen, jedes mit etwa 75 g Filtrat, werden gefüllt. Kulturen auf Agar und Bouillon daraus bleiben steril. Die Kölbchen werden bei 37° C aufgestellt und sind am folgenden Tage alle noch klar, am nächsten aber ist das 7. Kölbchen sehr wenig getrübt und ergibt eine Kultur auf Agar einige Kolonien Pestbacillen. Wieder einen Tag später ist das Kölbchen ganz trübe.

**Versuch 18.** In 250 g normales Pferdeserum wurden Schweinepestbacillen verimpft; nach Heranwachsen während 40 Stunden bei 37° C wurde diese Kultur mit einem gleichen Quantum alkalischer Bouillon verdünnt und dann durch einen Berkefeld-Filter getrieben. Das Filtrat wurde in 7 Kölbchen aufgefangen, in jedes etwa 70 g. Kulturen hieraus, sofort nach der Filtration, blieben keimfrei. Nachdem die Kölbchen bei 37° C aufbewahrt waren, zeigte sich, daß nach ungefähr 18 Stunden No. 5 und 6 trübe waren, nach 24 Stunden auch No. 4 und 7, nicht so stark. Die anderen waren noch klar. Agarkulturen aus den 7 Kölbchen waren am folgenden Morgen alle gewachsen und jetzt waren auch die 3 ersten Kölbchen deutlich trübe; bei fortgesetzter Untersuchung zeigte es sich, daß auch hier Pestbacillen in Reinkultur vorhanden waren.

Zu einer Schweinepestkultur in Pferdeserum wird Bouillon gefügt, diesmal aber 1 Serum zu 2 Bouillon und durch einen Berkefeld-Filter filtriert. Wiederum werden 7 Kölbchen angefüllt, jedes mit etwa 70 g; Kulturen auf Agar sofort nach der Filtration blieben steril.



Nachdem sie 24 Stunden bei 37° C gestanden hatten, waren No. 6 und 7 etwas trübe; Kulturen daraus auf Agar zeigten am folgenden Tage aber viele Kolonien von Pestbacillen dar, und nun waren diese Kölbchen auch deutlich getrübt. Die übrigen 5 Kölbchen aber waren keimfrei und sind auch so geblieben.

Es scheint, daß, wenn man Serum mit einem gleichen Quantum Bouillon verdünnt, eine Flüssigkeit gegeben ist, welche die Durchlassungsfähigkeit eines Filters bedeutend größer macht; nimmt man stärkere Verdünnung vor, so gehen die Bacillen nicht so leicht durch, indem in nicht verdünntem Serum die Pestbacillen nicht filtrieren.

Außer den vorstehenden Versuchen ist noch eine Menge anderer durchgeführt mit Organen von Schweinen, welche mit chronischer oder subakuter Schweinepest behaftet gewesen waren, wie auch mit Bouillonkulturen aus solchen Tieren. Filtration und Zubereitung der Flüssigkeiten fanden in der erwähnten Weise statt. Die Filtrate blieben steril. Pestbacillen, isoliert aus den verarbeiteten Organen, erwiesen sich alle gefärbt mit Karbolfuchsin oder einer wässrigen Methylenblaulösung und stellten Stäbchen dar, welche nicht oder nur in sehr geringem Maße einen körnigen Bau oder helle Flecken zeigten (siehe u. m. Versuch 1).

Bisweilen wurden in Kulturen, ebensowohl in solchen, worin sich keine, als in solchen, worin sich bestimmt Pestbacillen vorfanden und welche aus den Filtraten von Organen und Eingeweiden von Schweinen angelegt waren, einige gelbe und weiße Kolonien angetroffen, welche sich als *Staphylococcus albus* und *aureus* (u. m. Versuch 1) und einmal als *Paracoli* (Versuch a) auswiesen.

Aus den beschriebenen Versuchen erfolgt klar, daß unter bestimmten Umständen der Pestbacillus durch einen Chamberland-, Berkefeld- oder Pukall-Filter geht, und zwar am leichtesten durch den Berkefeld- und Pukall-, dann durch den Chamberland-F-, am schwierigsten aber durch den B-Filter. Da die weiteren Versuche erwiesen haben, daß der Filter erst Bacillen durchläßt, wenn ein bestimmtes Quantum Flüssigkeit schon durchgetrieben wurde, so ist es nicht unmöglich, daß bei den ersten Versuchen zu wenig Flüssigkeit filtriert wurde, wodurch die Bacillen vom Filter zurückgehalten wurden.

Aus den angefertigten Deckglaspräparaten der Pestbacillen, welche filtrierten, zeigte sich, daß namentlich solche das tun, welche einen körnigen Bau besitzen und bei welchen eine deutliche Färbung an den Polen der Bacillen hervortritt. Sehr deutlich war bei einigen Bacillen in der Mitte eine helle Stelle zu sehen, die unrichtigerweise oft für eine Spore gehalten wird. Außer bei den gefärbten Präparaten sah man diese Einzelheiten auch in dem hängenden Tropfen (Versuch b, 4, 6 u. s. w.). Dergleichen helle Flecken brachte Billings in Zusammenhang mit der Teilung, auf Grund seiner Experimente mit Bacillen in einem Bouillontropfen, bei welchem er wahrnahm, daß die hellen Flecken immer größer wurden, das Protoplasma sich mehr an den Polen anhäufte und schließlich als zwei kokkenartige Körper frei wurde. Frosch und Böder sahen auch, wie ohne Differenzierung der Bacillus sich in der Mitte zerteilte und daß bald darauf mitten im ovalen, kokkenartigen Teilungsprodukt wiederum ein heller Flecken sichtbar wurde.

Auch ich sah solche kokkenähnliche Körper in den Präparaten, und zwar in verschiedenen Stadien, nämlich wie eingeschnürte Bacillen, weiter wie aneinanderliegende Kokken, bisweilen sogar wie drei kokkenartige Körperchen ganz frei liegend oder noch einigermaßen mit einem Hof umgeben (siehe Fig. 2, herrührend von Versuch 4). Mehrere Forscher, wie Raccuglia, Afanassieff, Karliński u. A., schreiben dieses gekörnte Aussehen allerlei Umständen zu, besonders der Herkunft

des Bacillus, nämlich ob dieser direkt von einem Tier herrührt oder von einem bestimmten Nährboden; andere denken mehr an die Färbungsmethode. Es tritt bei Pestbacillen in bestimmten Fällen stärker hervor als in anderen; die Eigentümlichkeit aber bleibt auch nach dem Durchgang durch verschiedene Nährböden wie durch den Tierkörper. Die Bacillen, z. B. von dem Kaninchen des Versuches b, waren sehr körnig und auch die Stäbchen direkt aus dem Ferkel, gestorben nach der Fütterung mit Kulturen, wie aus Kulturen nach wiederholter Ueberimpfung, behielten dasselbe Aussehen. Meiner Meinung nach muß man den körnigen Zustand der Pestbacillen als eine Stammeseigenschaft betrachten und nicht zufälligen Umständen zuschreiben. Ein ähnliches Verhältnis findet man auch bei Rauschbrandbacillen. Letztere werden in einem flüssigen Nährmedium, in gewissen Fällen nach wenig Tagen, Sporen bilden, wobei schöne, trommelschlägerartige Gebilde hervortreten, während in anderen Fällen die Rauschbrandbacillen von anderer Herkunft keine Sporen bilden, sondern in Körner zerfallen, in welchen man keine Sporen sieht. Dennoch geben solche Bacillen nach der Verimpfung wiederum eine normale Kultur und sind für Versuchstiere ebenso virulent wie die anderen.

Bei der Filtration ist die Eigenschaft der Aufteilung in Körnern, welche viel kleiner sind als die Bacillen, von großer Wichtigkeit. Nebst dem Umstande, daß die Kleinheit der Körner einen Durchtritt durch die Poren der Filterwand gestattet, muß man bedenken, daß die Oberflächenkräfte der Porenwände bei dem Vorgang der Filtration eine relativ wichtige Rolle spielen. Von einem einfach mechanischen Zurückhalten größerer Teile, wie dies etwa bei einem Sieb stattfindet, ist keine Rede, wie deutlich aus der Tatsache hervorgeht, daß verschiedene gelöste Moleküle, deren Dimensionen zweifelsohne bei der Größe der Filterkanäle, welche sie passieren müssen, als null zu betrachten sind, von einem Filter aufgehalten werden; z. B. gehen einige Toxin- und Salzlösungen und Fermente gar nicht oder sehr spärlich durch Filter. In diesem Falle kann man sich denken, daß die Wand teils eine adhäsive, teils eine abstoßende Kraft auf bestimmte Moleküle ausübt. Werden diese Kräfte aufgehoben oder können sie sich nicht geltend machen, z. B. durch Umwandlung des Mediums, in welchem dergleichen Körper sich befinden, so kann die Filtration mit Leichtigkeit vor sich gehen. So sieht man, daß die Teilchen einer kolloiden Goldlösung im Anfang nicht filtrieren, nach Hinzufügung bestimmter Eiweißstoffe aber glatt hindurchgehen.

Solche Einflüsse gelten natürlich auch für das Filtrieren von Bacillen. Ein Hinweis auf derartige Verhältnisse findet sich schon in der Tatsache, daß Bacillen, in reinem Serum gewachsen, nicht durch den Filter gehen, ferner, daß Bacillen in der Regel erst dann durch den Filter gehen, wenn ein gewisses Quantum von Flüssigkeit durchgegangen ist.

Es ist also wünschenswert, zu beachten, welche Verhältnisse hier vorherrschen, sowohl hinsichtlich der Beschaffenheit der Flüssigkeiten, als auch des Zustandes, in dem sich der Filter befindet. In dieser Richtung werden im hiesigen Laboratorium bereits Untersuchungen angestellt.

Aus dem Vorhergehenden darf man den Schluß ziehen, das die größeren oder geringeren Mengen von Pestbacillen, die durch den Filter gehen, in engem Zusammenhang mit dem körnigen Zerfallen stehen. Letzteres ist als eine Stammeigenschaft zu betrachten. Von Bedeutung ist die Zu-

sammensetzung der Flüssigkeit, in welcher sie sich befinden.

Das langsame Wachsen der Bacillen in den Kölbchen muß sehr wahrscheinlich der kleinen Zahl von Keimen in der Flüssigkeit zugeschrieben werden. Um dieses festzustellen, wurde in ein Röhrchen mit 10 g Bouillon 1 Oese einer Agarpestkultur gebracht; nach tüchtigem Herumschütteln, so daß sich die Bacillen darin regelmäßig verteilt hatten, wurde hieraus wieder 1 Oese in ein zweites Röhrchen, dann aus diesem 1 Oese in ein drittes, weiter in ein viertes und schließlich in ein fünftes je 1 Oese übertragen. In dem Brutapparat wurden dann diese Röhrchen bei 37° C aufgestellt. Nach 24 Stunden war das Wachstum in den Röhrchen 1, 2 und 3 gut, No. 4 aber zeigte nur eine leichte Trübung, No. 5 war klar. In diesem sah man erst nach 2×24 Stunden eine geringe Trübung; aus 1 Oese aus diesem Röhrchen auf eine Agarplatte übertragen, wuchsen nur 50 Kolonien.

Der Versuch wurde in Röhrchen mit einer physiologischen Kochsalzlösung, zu welcher zu je 10 Teilen 1 Teil normales Pferdeserum hinzugefügt war, wiederholt. Die Verdünnungen wurden in gleicher Weise gemacht. Die Röhrchen 1 und 2 waren am folgenden Tage mit deutlicher Trübung, No. 3 aber war erst nach 2 Tagen sehr wenig getrübt; aus 1 Oese Flüssigkeit wuchsen nur 10 Kolonien; No. 4 und 5 waren klar und Bacillen konnten nicht nachgewiesen werden.

Nahm man statt einer physiologischen Kochsalzlösung bloß destilliertes Wasser mit Serum (10:1), dann war nach 24 Stunden das erste Röhrchen trübe, das zweite nur wenig. Aus 1 Oese des ersten entwickelten sich etwa 600 Kolonien, des zweiten 20 Kolonien; No. 3 war nach 2 Tagen noch ganz klar, dennoch ergab sich hieraus 1 Kolonie auf 1 Oese Flüssigkeit; No. 4 und 5 waren klar, und bei diesen konnten auch keine Bacillen nachgewiesen werden.

In den 3 ersten Bouillonröhrchen waren hinlänglich Bacillen vorhanden, um sich dermaßen zu vermehren, daß dadurch am folgenden Tage die Bouillon ganz trübe war; in No. 4 war ihre Anzahl hingegen bedeutend kleiner. In No. 5 aber waren so wenig Bacillen, daß diese erst nach 2×24 Stunden eine sehr leichte Trübung aufwies.

Weil alle Verdünnungen in der gleichen Weise vorgenommen wurden, muß angenommen werden, daß in das dritte Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung ebensoviel Bacillen gebracht wurden, wie in das dritte mit Bouillon, aber daß durch den geringeren Nahrungswert dieser Flüssigkeit die Vermehrung bedeutend langsamer vor sich ging und daß sich in No. 4 zu wenig Bacillen vorfanden, um sich in einem solchen Nährboden zu entwickeln.

Noch deutlicher trat dies hervor bei dem Wasser mit Serum; hier waren ja schon im Röhrchen No. 2 fast keine Bacillen gewachsen, No. 3 zeigte nach 2×24 Stunden noch keine Trübung; 1 Oese enthielt hier nur einen Bacillus.

Will man also mit Sicherheit feststellen, ob sich in einer Flüssigkeit Bacillen vorfinden oder nicht, so muß ein großes Quantum derselben in Arbeit genommen werden, und es gestattet das Ausbleiben der Trübung nach 24 Stunden oder 2×24 Stunden bei 37° C noch nicht den Schluß, daß keine Bacillen vorhanden sind. Ganz unzulässig ist die Ansicht, wenn die Flüssigkeit einen niedrigen Gehalt an Nahrungsstoffen besitzt.

Die soeben erwähnten Versuche wurden mit der Abweichung wiederholt, daß 1 Oese Bouillonkultur von Pestbacillen in 10 g Bouillon

übertragen wurde. Nach tüchtigem Schütteln übertrug man 1 Oese in ein zweites Röhrchen, aus diesem wieder 1 Oese in ein drittes, weiter aus diesem dieselbe Menge in ein viertes und von diesem schließlich in ein fünftes Röhrchen. Diese 5 Röhrchen wurden in den Brutapparat bei 37° C gestellt. Am folgenden Morgen waren die 3 ersten Röhrchen trübe, das dritte aber nur wenig. No. 4 und 5 waren klar. — Gleichzeitig waren aus dem ersten Bouillonröhrchen, in welchem also 1 Oese Bouillonkultur übertragen war, 1 Oese übertragen worden in ein Röhrchen mit destilliertem Wasser und Serum 10:1 und auch 1 Oese in ein Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung mit Serum 10:1. Von diesen Flüssigkeiten wurden dieselben Verdünnungen durchgeführt wie bei der Bouillon und diese auch bei 37° C im Brutapparat gestellt. Nach 48 Stunden aber war hier in dem ersten Röhrchen ein geringes Wachstum zu konstatieren; in dem zweiten, also übereinstimmend mit dem dritten Bouillonröhrchen, war 3 Tage nachher noch keine Trübung bemerkbar. Agarkulturen ergaben ebenfalls ein negatives Resultat. Um nachzuforschen, ob die hier herein verbrachten Bacillen so wie in der Bouillon noch lebensfähig waren, wurden mit dem ganzen Inhalt jedes Röhrchens 2 Meerschweinchen intraperitoneal geimpft. Das Meerschweinchen, mit Wasser + Serum geimpft, starb nach 14 Tagen. Aus Milz und Leber wurden Reinkulturen von Pestbacillen erhalten. Das andere Meerschweinchen, geimpft mit der Kochsalzlösung + Serum, blieb gesund.

Von De Schweinitz und Dorset wurden die Filtrate immer bei Meerschweinchen und Kaninchen auf ihre Sterilität geprüft. Trotzdem bei diesem Verfahren niemals das Vorhandensein von Pestbacillen nachgewiesen wurde, starben die mit diesen Filtraten geimpften Schweine dennoch an einer Krankheit, welche der Schweinepest völlig ähnlich war, und es konnten aus den Organen dieser Tiere Schweinepestbacillen isoliert werden.

Bei den Versuchen von Poels wurden die Filtrate bloß durch Agarkultur sofort nach der Filtration geprüft.

Dorset, Bolton und McBryde haben in den Filtraten nie Pestbacillen nachweisen können, weder durch Kulturen noch durch Impfung kleiner Versuchstiere. Offenbar haben sie aber stets diese Kontrolle sofort nach der Filtration angestellt, und wie sich aus den oben beschriebenen Versuchen ergibt, bleiben die Kulturen alsdann fast ohne Ausnahme keimfrei, sogar wenn sie durch mehrere Wochen bei 37° C gehalten werden.

Bei ihrer Beschreibung der Filtration mit Serum teilen sie mit, daß das Serum verdünnt wurde, weil unverdünntes Blutserum ziemlich langsam filtrierte. Der Zusatz bezweckte auch, den Durchtritt eines etwaigen Virus zu erleichtern. Bei meinen Versuchen kam es niemals vor, daß unverdünntes Serum bei der Filtration Schwierigkeiten bot. Die Filtration von 500 g unverdünnten Serums durch einen Berkefeld-Filter forderte etwa 15 Minuten oder weniger, durch einen Chamberland-Filter F ein wenig mehr.

Ich fand aber, daß der Ansteckungsstoff, i. c. die Pestbacillen, in unverdünntem Serum den Filter nicht passiert, wohl aber in verdünntem.

Weiter bemerken sie, daß der Prozentsatz der Todesfälle bei Schweinen nach der Impfung mit nichtfiltriertem Serum viel größer war, als der der Tiere, die mit filtriertem Serum geimpft wurden, und daß die Krank-

heit im ersten Falle früher eintrat als im zweiten; in der filtrierten Flüssigkeit war also bedeutend weniger Ansteckungsstoff vorhanden.

Boxmeyer konnte in seinen Filtraten nach der Impfung von Versuchstieren ebensowenig Pestbacillen nachweisen, und dennoch konnte damit die Krankheit bei Schweinen hervorgerufen werden.

Betreffs Hottingers Mitteilung sind die Resultate auch hinsichtlich der Pathogenität des Pestbacillus so sehr abweichend von denen der anderen Forscher, daß hier ohne Zweifel ein sehr atypischer Schweinepestbacillus zur Verwendung kam. Unwillkürlich stellt man sich die Frage, ob die Kulturen rein waren, ob nicht vielleicht sogar ein ganz anderer Organismus in denselben vorhanden war.

Hutyras Versuche wurden mit einem 2-jährigen Schweine, das allerdings einem Bestande entnommen wurde, in dem Schweinepest herrschte, gemacht, aber das Tier litt an Brustseuche, so daß diese Versuche für unseren Zweck nur einen geringen Wert haben.

Nach den 1904 von Ostertag angestellten Versuchen wird die in Deutschland vorkommende Schweinepest nicht durch ein filtrierbares Virus veranlaßt, weil es nicht gelang, mit Filtraten von mit Schweinepest behafteten Schweinen diese Krankheit hervorzurufen.

Schmidt<sup>1)</sup> aber verlor am 10. Tage nach intravenöser Einspritzung von 1 ccm Filtrat eines Autolysates aus Schweinepestbacillen ein Kaninchen. Aus dem Herzblut und der Leber wurden Schweinepestbacillen isoliert. Hierbei erwähnt Schmidt: „Den Umständen nach muß es sich um eine zufällige Infektion gehandelt haben“. Auf Grund der Resultate meiner Untersuchungen halte ich es aber für wahrscheinlicher, daß sich Pestbacillen in dem von ihm benutzten Filtrat befunden haben und daß also keine zufällige Infektion vorlag.

Ein anderes Kaninchen, welches Schmidt mit einem ähnlichen Filtrat immunisieren wollte, starb nach 3 Injektionen; bei der Sektion fanden sich im Dickdarm drei pfenniggroße, gelbe Stellen, welche einen dunkelroten Hof hatten. Die gelben Herde traten vor, waren nicht ablösbar, sondern durchsetzten die Darmwand. Die Darmgefäße waren stark infiziert. Coccidiose nicht nachweisbar. Herzblut steril.

Die hier erwähnten gelben Herde stimmen überein mit denen, welche ich beim Kaninchen fand, in Versuch b beschrieb und wie solche öfters bei Kaninchen, welche langsam an Schweinepest sterben, angetroffen werden. Das von Schmidt erwähnte Kaninchen hatte bedeutend an Gewicht verloren, es war von 1225 g auf 915 g zurückgegangen, so daß man annehmen muß, daß diese Darmkrankheit sehr bald nach den ersten Injektionen einsetzte. Wiewohl sich das Herzblut steril erwies, scheint es mir dennoch nicht unwahrscheinlich, daß auch dieses Kaninchen an Schweinepest starb.

Am Ende seines Berichtes sagt Schmidt, daß „mit der Herstellung größerer Mengen von Filtraten trotz ihrer scheinbaren Einfachheit, mancherlei Schwierigkeiten verknüpft sind. In den zur Sterilitätsprüfung benutzten Bouillonröhrchen tritt Bakterienwachstum manchmal erst nach 48 Stunden ein, so daß also nach 24 Stunden noch nicht mit Sicherheit die Sterilität der Filtrate festzustellen ist“.

Welches die Ursache der Gegenwart von Keimen ist, wird nicht gesagt; es scheint mir sehr wahrscheinlich, daß hier oft Pestbacillen zu-

1) Schmidt, Immunisierung gegen Schweinepestbacillen mit Autolysaten, Schüttel-extrakten und Zerreibungsprodukten dieser Bacillen. 1906.

gegen waren, um so mehr, weil Schmidt von Schwierigkeiten bei der Herstellung größerer Mengen von Filtraten spricht, was übereinstimmt mit meinen Resultaten, daß Pestbacillen erst dann den Filter passieren, wenn ein bestimmtes Quantum an Flüssigkeit durch die Kerze gegangen ist.

Auf Grund dieser Erwägungen gestatte ich mir die Schlußfolgerung, daß die Pestbacillen, welche die in Deutschland vorkommende Schweinepest verursachen, ebensowohl wie die, welche sich in Holland vorfinden, einen Filter passieren können.

Als Ostertag Gelegenheit hatte, mit dem Ansteckungsstoff der amerikanischen Schweinepest zu experimentieren, erhielt er dieselben Resultate wie in Amerika. Die Prüfung auf Sterilität geschah aber auch hier offenbar sofort nach der Filtration.

Nach den Mitteilungen des Boardlaboratoriums glaubt man, in der Blutfiltration eine Methode gefunden zu haben, um in zweifelhaften Fällen zu entscheiden, ob die Tiere wesentlich mit Schweinepest behaftet gewesen waren. Auch das steht einigermaßen in Uebereinstimmung mit meinen Resultaten, weil in einigen Fällen von chronischer Schweinepest, bei denen die bakteriologische Untersuchung negativ ausfiel, nach der Filtration im Filtrat Pestbacillen nachgewiesen werden konnten.

Ob die Filtration jetzt schon eine brauchbare Methode für Aufstellung einer Differentialdiagnose sein wird, bezweifle ich. Erst dann, wenn mehrere Momente, welche auf die Filtration einwirken, genauer bekannt sind, kann über diesen Punkt ein richtiges Urteil gesprochen werden.

Theiler meint, daß sich in Transvaal eine Art Schweinepest vorfindet, bei welcher keine Pestbacillen nachgewiesen werden konnten; seine Methode der Untersuchung der Gekrösdrüsen scheint mir aber nicht die beste zu sein. Die Lymphdrüsen namentlich wurden mit einem glühenden Messer schwer angesengt, so daß es an den Drüsen haftete; dann wurde das Messer losgerissen, wobei ein Teil der Drüse daran hängen blieb. Dieses Stück der Drüse wurde bakteriologisch verarbeitet; meiner Meinung nach werden oft die sich darin vorfindenden Bacillen durch die Hitze des Messers getötet worden sein.

Von Koske gründet seine Schlüsse auf nur einen Versuch mit negativem Resultat.

Auf Grund des Ausgangs ihrer letzten Untersuchungen geben Dorset, Bolton und McBryde folgende Gründe gegen die maßgebende pathogene Bedeutung des Pestbacillus als Ursache der Schweinepest an: 1) die Schwierigkeit, diese Krankheit durch subkutane Injektion des Bac. chol. suis hervorzurufen; 2) daß die Krankheit, die durch den Pestbacillen hervorgerufen wird, nicht oder sehr wenig contagiös ist; 3) daß die Tiere, nachdem sie eine solche Krankheit überstanden haben, für eine spontane Infektion nicht immun sind.

Mehrere andere Forscher haben auch darauf hingewiesen, daß es schwer ist, Schweinepest bei Ferkeln durch subkutane Einspritzung einer Pestbacillenkultur hervorzurufen, dagegen gelingt die Infektion ziemlich leicht nach subkutaner Einspritzung von Blut oder feingeriebenen Organen von Tieren, die an dieser Krankheit verendet sind.

Salmon und Smith schreiben dies der hohen Virulenz zu, welche Bacillen aus kranken Tieren besitzen, wie auch dem Umstand, daß das eingespritzte Blut im Gewebe koaguliert und die Bacillen gegen die natürlichen Abwehrmittel der Körperflüssigkeiten und gegen die Phago-

cyten schützt, indem es ihnen zu gleicher Zeit ein Quantum geeigneter Nahrung darbietet, wodurch sie sich sehr bald vermehren und in großer Anzahl in den Körper vordringen können.

Um den Unterschied festzustellen, der sich offenbart bei Infektion mit bloßer Bouillonkultur von Pestbacillen, mit Bouillonkultur gemischt mit feingeriebener Milz eines gesunden Tieres, mit feingeriebener Milz eines nach Infektion mit Pestbacillen gestorbenen Kaninchens und mit feingeriebener Milz eines nach Fütterung mit Pestbacillen an Schweinepest gestorbenen Ferkels wurden 4 Ferkel geimpft. Die zu diesem Versuch benutzten Pestbacillen wurden alle einer, von einem an subakuter Schweinepest gestorbenen Ferkel herrührenden Kultur entnommen. Alle Ferkel waren gekreuzte Yorkshire, 4 Wochen alt, von einem Wurf und ca. gleichem Körpergewicht. Das mit Bouillon geimpfte Ferkel zeigte nach einigen Tagen weniger Freßlust und gesträubte Haare, welche Erscheinungen allmählich verschwanden; das Tier war schließlich wieder ganz normal.

Das Ferkel, geimpft mit Kultur und feingeriebener Milz eines Meer-schweinchens, zeigte nach 2 Tagen weniger Freßlust und war traurig, welche Erscheinungen langsam zunahmen, so daß das Tier nach 5 Tagen bedeutend erkrankt war. 2 Tage nachher starb es; die Haut war besonders am Unterbauch, an Hals und Ohren violettblau, Milz und Leber angeschwollen und blutreich; in den Nieren eine Menge Petechien, Lungenspitzen leicht entzündet, Gekrösdrüsen angeschwollen und rot, Darmkanal hämorrhagisch-fibrinös entzündet. Aus allen Organen wurden Pestbacillen isoliert.

Das dritte Ferkel, geimpft mit feingeriebener Milz eines an Schweinepest gestorbenen Kaninchens, war nach 2 Tagen schwer krank und starb in der Nacht von dem 5. auf den 6. Tag nach der Infektion. Die Haut war an verschiedenen Stellen rot, fast blau gefärbt, besonders an den Ohren und der Nase; Leber und Milz stark hämorrhagisch und angeschwollen, in den Nieren eine Menge Petechien; Gekrösdrüsen angeschwollen und rot, Darmschleimhaut rot und angeschwollen, übrigens normal. Kulturen aus den verschiedenen Organen ergaben alle eine Reinkultur von Schweinepestbacillen.

Das vierte Ferkel, geimpft mit feingeriebener Milz eines Ferkels, welches nach Einguß per os von Bouillonkultur gestorben war, war schon am folgenden Tage sehr krank. Die Störung nahm dergestalt zu, daß das Tier schon 50 Stunden nach der Infektion starb. Ohren und Unterfläche des Halses waren blau, von der Stelle der Injektion an der Innenfläche des Schenkels bis zwischen den Vorderfüßen war die Haut des Bauches violettblau, in dem sich ein stark subkutanen Oedem vorfand; Milz und Leber sehr angeschwollen, auf Nieren und Herz eine Menge Petechien, Gekrösdrüsen angeschwollen und rot, Dünndarmkanal hämorrhagisch entzündet mit blutigem, flüssigem Darminhalt, in der Bauchhöhle ziemlich viel seröse Flüssigkeit. Aus allen Organen, auch aus dem subkutanen Oedem des Bauches, wurden Pestbacillen in Reinkultur isoliert. Mit der fein zerriebenen Milz und Leber des dritten Ferkels wurde wieder ein Ferkel geimpft. An der Injektionsstelle entwickelte sich ein Absceß, in welchem die Pestbacillen sich in Reinkultur vorfanden. Nachher, bei der Schlachtung, fand sich chronische Schweinepest.

Aus oben erwähnten Versuchen ergibt sich klar, daß, wiewohl das Ansteckungsmaterial in allen 4 Fällen einen gleichen Ursprung hatte, dennoch ein großer Unterschied in Bezug auf Virulenz sich ergab, je nachdem das Kontagium durch ein Schwein oder ein Kaninchen gegangen

war, und daß Einspritzung (zu gleicher Zeit) mit feingeriebenem, blutreichem Gewebe von Einfluß ist.

Es ist nicht unmöglich, daß dieses Gewebe nicht nur den Bacillen zum Schutz und zur Nahrung dient, wie Salmon und Smith glauben, sondern daß es auch als Corpus alienum eine Lokalentzündung hervorruft, durch welche die Bacillen eine bessere Gelegenheit haben, in den Körper vorzudringen.

Aus Poels' Untersuchungen erhellt weiter, daß, wiewohl es durch subkutane Einspritzung schwer ist, Schweinepest hervorzurufen, solches aber ziemlich leicht bei kutaner Infektion mit Pestbacillen gelingt. Wurden bei jungen Ferkeln an der inneren Ohrfläche mittels einer Lanzette in die Haut kleine Taschen gemacht, in welche mit einer feinen Pinzette Wattepföpfchen, getränkt mit virulenten Pestbacillen, eingeführt wurden, so starben diese Tiere an Schweinepest. Bisweilen verlief die Krankheit sehr schnell mit den Symptomen von akuter Schweinepest, dann wieder entwickelte sich mehr die chronische Art und diese trat häufig auf, wenn die Ferkel älter oder die Pestbacillen weniger virulent gemacht waren. Die in dieser Weise verursachte Krankheit war kontagiös. In einem Stall, wo die Schweinepest niemals vorkam, durch diese Versuche aber eingeführt worden war, starben eine geraume Zeit nachher noch daselbst gezüchtete Ferkel an Pest.

Daß Ferkel, welche von einer Infektion mit Pestbacillen genesen, keine Immunität gegen natürliche Ansteckung haben sollten, wird hinlänglich durch die sehr günstigen Resultate widerlegt, welche man bei kutaner Impfung nach der von Poels angegebenen Methode mit Wattepföpfchen, getränkt mit geschwächten Pestbacillen bekommt. Außer der großen, mit Erfolg geimpften Anzahl von Ferkeln, die in dem Bericht über die Schweineseuche in Holland erwähnt wurden, findet diese Methode mehr und mehr ihren Weg und gibt den schlagenden Beweis, daß man durch diese Impfung erfolgreich der Krankheit entgegentreten kann, wenn junge, noch nicht angesteckte Ferkel geimpft werden. Auf Bauernhöfen, wo sonst die Krankheit so häufig auftrat, daß man sich genötigt sah, auf die Zucht zu verzichten, wurde diese Impfung mit Erfolg angewandt.

Durch Fütterung mit Pestbacillen kann die Krankheit leichter hervorgerufen werden als durch subkutane Einspritzung, ein Umstand, der auch in Uebereinstimmung steht mit dem, was man bei der natürlichen Infektion sieht. Zweifelsohne entstehen die meisten Fälle von Schweinepest durch Aufnahme des Infektionsstoffes mit dem Futter, wodurch die Erscheinungen seitens des Darmkanals hervortreten. Bei zufälligen subkutanen Infektionen, welche bisweilen bei den Kastrationen zu stande kommen, entwickeln sich meistens, wie auch bei Einspritzung mit Kulturen, Abscesse, in welchen die Bacillen in Reinkultur vorgefunden werden.

Wenn man den Ferkeln große Mengen von Pestbacillen in dem Futter gibt, so sterben diese in kurzer Zeit unter den Erscheinungen der akuten Pest; bei kleineren Mengen aber entsteht mehr die chronische Form der Krankheit.

Ein Ferkel, gekreuzt Yorkshire, 6 Wochen alt, bekommt 500 g Bouillonkultur in sein Futter gemischt. Am folgenden Tage schon ist das Tier schwer krank, Temperatur  $40,2^{\circ}$  C, mangelhafte Freßlust, Kotabsatz normal. Die Krankheitserscheinungen vermehren sich, Temperatur steigt bis auf  $41,2^{\circ}$  C, nach 2 Tagen tritt eine profuse Diarrhöe ein; das Tier schlägt alle Nahrung aus und will nur Flüssigkeit zu sich nehmen; am 5. Tage nach der Verabreichung der Kultur tritt der Tod ein. Die Haut ist an mehreren Stellen rot verfärbt; Leber und Milz sind sehr blutreich und stark vergrößert; der Magen ist diphtheritisch entzündet; Dünn- besonders aber Dickdärme sind hämorrhagisch



geschwollen, mit beginnender diphtheritischer Entzündung, wodurch dieselben aussehen, als wären sie mit Kleie bestreut; Gekrösdrüsen rot und markig geschwollen. Aus allen Organen werden Pestbacillen isoliert, indem auf Plattenkulturen aus den Därmen ebenfalls fast ausschließlich Pestbacillen wachsen.

Ein zweites Ferkel, in gleichem Alter, bekam an 3 nacheinander folgenden Tagen 10 g Bouillonkultur in seinem Futter; am 4. Tage war das Tier krank, zeigte Diarrhöe, weniger Freßlust, Temperatur bis zu 40° C. 6 Tage nach Anfang des Versuches war das Ferkel bedeutend krank; an der Unterfläche des Bauches große rote Flecken, Ohren und Rüssel bläulichrot; es war eine profuse Diarrhöe eingetreten. Am nächsten Morgen ging es zu Grunde. Milz und Leber stark vergrößert; in den Nieren und in der Herzwand eine Menge Petechien; Lungen stellenweise entzündet, Magen, Dünn- und Dickdärme diphtheritisch entzündet; Gekrösdrüsen rot und angeschwollen. Aus allen Organen, auch aus den entzündeten Lungenteilen, wuchsen ausschließlich Pestbacillen.

Ein drittes Ferkel bekam nur 10 g Pestkultur per os; am folgenden Tage war es etwas weniger heiter, Freßlust gut, Temperatur 40,3° C; am 2. Tage: Temperatur 40,9° C, Freßlust aber ziemlich gut; am Nachmittag trat Diarrhöe ein. Dieser Zustand hielt etwa 3 Tage an; Freßlust nahm ab, der Durst aber zu. Dann verschlimmerte sich die Krankheit jedoch ziemlich rasch. Die Temperatur stieg bis auf 41,3° C, Freßlust gänzlich verschwunden. Starke Diarrhöe. Das Tier verendete in der Nacht von dem 9. auf den 10. Tag nach Verabreichung der Kultur. Bei der Sektion konnte eine diphtherische Darmentzündung im Dick- und Dünndarm nachgewiesen werden. Aus allen Organen wurden Pestbacillen isoliert.

Aus diesen Versuchen geht also dasselbe hervor, was sich schon aus zahlreichen Experimenten anderer Forscher ergeben hatte, nämlich daß durch Fütterung mit Pestbacillenkulturen eine Krankheit hervorgerufen wird, die völlig derjenigen ähnlich ist, welche in natürlicher Weise entsteht, mit akutem wie mit chronischem Verlauf. Bei fast keiner anderen ansteckenden Krankheit gelingt es so leicht, wie eben bei der Schweinepest, mit Ansteckungsstoff, der im Laboratorium erzeugt war, die Krankheit zu veranlassen. Man denke nur an Rotlauf und Rauschbrand; von beiden ist die Ursache genau bekannt, und dennoch gelingt es fast nie, mit den betreffenden Kontagien bei den Tieren experimentell die Krankheit hervorzurufen.

Es würde schwer zu erfassen sein, daß es zwei verschiedene ansteckende Krankheiten gäbe, die klinisch und pathologisch-anatomisch identisch sind, bei denen die bakteriologischen Untersuchungen denselben Mikroorganismen zu isolieren gestatten würden und deren einziger Unterschied nur darin bestände, daß die eine Krankheit leichter übertragbar wäre als die andere, und daß dann die eine dieser Krankheiten nicht durch den *Bacillus* verursacht würde, der immer isoliert werden kann, sondern durch einen anderen, noch unbekanntem Mikroorganismus.

#### Versuche über Filtrierbarkeit der Bouillonkulturen von anderen Bacillen.

Um nachzuweisen, ob auch andere Bacillen durch einen Filter getrieben werden können, wurden mehrere Bouillonkulturen solcher Bacillen in der nämlichen Weise und unter den gleichen Bedingungen, wie bei den Versuchen mit Schweinepestkulturen, filtriert.

Es wurden nacheinander filtriert: *Bac. suisepiticus*, der *Bacillus* der septischen Pleuropneumonie bei Kälbern, der *Bacillus* der Geflügelcholera, *Bac. coli communis*, *Bac. rhusiopathiae suis*, alle aber mit negativem Resultat.

*Staphylococcus albus* und *St. aureus* aber gewährten ein positives Resultat, welches ich schon vermutete, weil bei der Filtration

des Eingeweidesaftes einiger Ferkel diese Kokken bisweilen in den Filtraten gefunden wurden.

Von den beiden Kokkenarten wurde eine 18 Stunden alte Bouillonkultur durch einen Berkefeld-Filter filtriert und das Filtrat in 7 Kölbchen aufgefangen. Sofort nach der Filtration schienen sie steril, denn Agarkulturen ergaben ein negatives Resultat. Nach 24 Stunden aber waren von dem *Staphylococcus aureus* die Kölbchen 6 und 7, von dem *Staphylococcus albus* die Kölbchen 4 und 5 ein wenig trübe; die mit denselben angelegten Kulturen ergaben diese Bacillen in Reinkulturen. Die übrigen Kölbchen sind keimfrei geblieben.

Die Bouillonkulturen dieser Bacillen waren keine Reinkulturen; auf den Agarröhrchen, aus denen sie angelegt waren, wuchsen auch viele ovale Bacillen; diese treten nicht durch die Poren des Filters.

Auch der *Bac. typhosus* Eberth wird filtriert durch den Berkefeld-Filter, und der Versuch ergibt ein Resultat, völlig demjenigen ähnlich, welches bei der Filtration des *Bac. suipestifer* erhalten worden war.

Von einer Bouillonkultur von Typhusbacillen, 24 Stunden alt, wurden 4 Kölbchen, jedes zu etwa 80 g, filtriert, welche sofort nach der Filtration keimfrei erschienen. Nachdem sie 24 Stunden bei 37° C gestanden hatten, erschien das vierte Kölbchen etwas trübe; eine hieraus auf Agar angelegte Kultur ergab eine einzige Kolonie. Am folgenden Tage war das Kölbchen ganz trübe; die Prüfung wies eine Reinkultur von Typhusbacillen nach. Derselbe Versuch, wiederholt durch einen Chamberland-Filter F und B, lieferte ein negatives Resultat.

Der *Bac. enteritidis* Gärtner passiert ebenfalls den Filter. Eine Kultur dieser Bacillen, filtriert durch einen Chamberland-Filter F, wurde, nachdem eine Agarkultur desselben steril geblieben war, bei einem Meerschweinchen intraperitoneal, bei einem anderen subkutan eingespritzt, beide Tiere starben nach 2 resp. 14 Tagen. Aus den Organen dieser Meerschweinchen wurden wieder die Enteritidisbacillen erzeugt.

Solche Versuche sind von großer Wichtigkeit. Beispielsweise bei Expeditionen und in Gegenden ohne reines Wasser glaubt man, durch Filtrierung des sich vorfindenden Wassers ein genießbares Getränk bekommen zu können. Sind aber in solchem Wasser viele Typhusbacillen vorhanden, dann genügt eine Filtration durchaus nicht, wie sich aus den Versuchen ergibt. Diese Insuffizienz ist auch von großer Bedeutung für die Wasserleitungsfiltration; wiewohl die hier verwendeten Filter von einer ganz anderen Zusammensetzung sind, muß doch angenommen werden, daß auch bei diesen zu bestimmten Zeiten die Durchlassungsfähigkeit für Bacillen größer sein wird als gewöhnlich, offenbar durch die Bildung einer schützenden Wand in den freien Räumen zwischen dem Kiesel und dem Sand der Filter, wodurch die adhäsive Wirkung, welche sonst ausgeübt wird, temporär aufgehoben werden kann, bevor die Filter durch Mikroorganismen und sonstige korpuskuläre Substanzen verstopft sind.

### Schlußfolgerungen.

1) Der Schweinepestbacillus kann unter bestimmten Umständen durch einen, aus nicht verglastem Porzellan oder aus Infusorienerde angefertigten Filter gehen.

2) Die Fähigkeit des Pestbacillus, durch einen Filter zu gehen, steht in engem Zusammenhang mit seiner Eigenschaft, in Körner zu zerfallen.

3) Die Fähigkeit der Körnerbildung muß als eine Stammeseigenschaft der Pestbacillen betrachtet werden.

4) Die Zusammensetzung der Flüssigkeit, in welcher sich die Bacillen befinden, ist von Einfluß auf die Filtration.

5) Bei der Filtration spielt die Größe der filtrierenden Teilchen eine relative Rolle. Die adhäsiven und abstoßenden Kräfte der Porenwände üben auf diese Teilchen einen Einfluß aus, mit welchem bis jetzt zu wenig gerechnet wurde.

6) *Bacillus suipestifer* ist die Ursache der Schweinepest.

7) Von keinem der Untersucher ist der überzeugende Beweis geliefert worden, daß sich in den von ihnen benutzten Filtraten wirklich keine Pestbacillen befanden.

8) Wenn Ferkel von einer Infektion mit den Bacillen der Schweinepest genesen, haben diese Tiere gegen die natürliche Ansteckung Immunität erworben. Die Schutzimpfung der Ferkel nach der von Poels angegebenen Methode ist augenblicklich das einzige Verfahren, welches günstige Resultate ergibt.

#### Nachschrift.

Nachdem diese Arbeit schon beendet war, erschien in der Zeitschrift für Infektionskrankheiten, parasitären Krankheiten und Hygiene der Haustiere. Bd. II. Februar 1907. Heft 2/3, eine ausführliche Abhandlung von Prof. Dr. R. Ostertag und Dr. A. Stadie: „Weitere Untersuchungen über die Filtrierbarkeit des Virus der Schweineseuche und der Schweinepest“, in welcher die Autoren hinsichtlich der Schweinepest zum folgenden Schluß kommen: „Mithin ist erwiesen, daß auch die deutsche Schweinepest, gleichwie die amerikanische Hogcholera, durch ein filtrierbares Virus bedingt wird, und daß der *Bac. suipestifer* erst sekundär in den Körper der pestkrank gewordenen Schweine eindringt.“

Dieser Schluß gründet sich auf die Resultate von 8 Versuchen mit filtriertem Material von Schweinen aus Schweinepestbeständen; 5 dieser Versuche lieferten ein positives Resultat.

Bei dem ersten Versuch wurden 2 Schweine geimpft mit Filtrat aus den Därmen und der Magenschleimhaut eines Schweines mit dem pathologisch-anatomischen Bilde einer chronischen Schweinepest. Von der bakteriologischen Untersuchung dieser Organe wird nichts mitgeteilt. Die geimpften Tiere entwickelten sich normal; bei der Tötung, 20 Tage nach der Impfung, konstatierte man die Gegenwart der chronischen Schweinepest. Kulturen aus den Eingeweiden lieferten ein negatives Resultat; durch Impfung wurde aber bei Mäusen der *Bac. suipestifer* nachgewiesen. Dieser Bacillus sollte sich in den mittels filtriertem Material mit Schweinepest infizierten Tieren sekundär angesiedelt haben. Die Kontrollferkel erwiesen sich bei Schlachtung als völlig normal. Der zweite Versuch nahm seinen Ausgang von einem mit chronischer Pest behafteten Läufer Schwein. Zwei Filtrate wurden angefertigt, nämlich eines aus einer Aufschwemmung der Herzblutkoagula und ein anderes aus den kranken Därmen. Ein Ferkel, mit Filtrat I geimpft, blieb

gesund und war bei Tötung ganz normal. Das Ferkel, welches mit Filtrat II geimpft wurde, erkrankte nach 13 Tagen und verendete 3 Tage nachher. Der Sektionsbefund wurde als Schweinepest gedeutet. Wie es scheint, ist keine bakteriologische Untersuchung vorgenommen worden, da kein Bericht darüber vorliegt; ebensowenig wird etwas über die bakteriologische Untersuchung des Läuferschweines erwähnt. Hätte man dieselbe vorgenommen, so würde man, meiner Meinung nach, gefunden haben, daß in dem Blut dieses mit chronischer Schweinepest behafteten Schweines keine Pestbacillen vorhanden waren, wohl aber in dem diphtheritisch entzündeten Darmteile, wodurch es sich erklärt, daß das mit filtriertem Blut geimpfte Tier gesund blieb; in dem Filtrat konnte kein Ansteckungsstoff vorhanden sein.

Bei dem dritten Versuch wurden wiederum 2 Ferkel mit dem Filtrat aus Blutkoagulis eines an chronischer Pest verendeten Schweines geimpft; beide Tiere blieben gesund. Ein zweites Filtrat wurde aus dem verdünnten Blutserum von 3 Schweinen desselben Bestandes angefertigt. Eines dieser Tiere (e) war, nach dem Sektionsbefunde, in dem subakuten Stadium der Krankheit. Mit dem Serum wurden 2 Ferkel geimpft, von denen das eine nach 13 Tagen verendete. Die Sektion ergab das Bild der Schweinepest. Mäuse mit Auflagerungen des Blind- und Grimmdarmes geimpft, verendeten nach 36 Stunden. Aus dem Herzblut wurden Pestbacillen isoliert. Vermutlich waren auch hier in dem Blut, aus welchem das erste Filtrat gemacht wurde, keine oder nur wenige Pestbacillen vorhanden, dagegen fehlten sie nicht in dem Filtrat II, wohin sie aus dem subakut erkrankten Schweine gelangten.

Bei dem vierten Versuch gingen die Autoren von 3 Schweinen mit einer gemischten Infektion von Schweinepest und Brustseuche aus. 2 Ferkel, mit einer nicht filtrierten Aufschwemmung von Lungengewebe geimpft, starben 10 Tage nachher, der Sektion nach ebenfalls an einer gemischten Infektion von Schweinepest und Brustseuche. Von einer bakteriologischen Untersuchung ist auch hier kein Wort gesprochen. 2 Ferkel, mit einem Aufschwemmungsfiltrat von Lungengewebe geimpft, wurden 20 Tage nach der Injektion geschlachtet. Bei der Sektion fanden sich Geschwüre in den Dickdärmen.

Ein fünftes Ferkel, mit dem Filtrat aus dem verdünnten Blut eines der 3 untersuchten Ferkel geimpft, starb 20 Tage nach der Einspritzung unter Erscheinungen von Schweinepest. Das Blut, aus dem dieses Filtrat gewonnen war, stammte von dem Ferkel, welches, wie die Sektion zeigt, mit einer akuten Krankheit, wahrscheinlich mit Schweinepest, behaftet gewesen war. Es darf also angenommen werden, daß in dem Blut viele Schweinepestbacillen vorhanden gewesen sind, wodurch es sich erklärt, daß das mit dem Filtrat geimpfte Ferkel an Schweinepest verendete; im Filtrat des Lungengewebes aber müssen sich weit weniger Bacillen befunden haben, so daß die damit geimpften Tiere wohl an Schweinepest erkrankten, jedoch nur in einem leichten Grade. Daß die mit Filtrat geimpften Ferkel keine Schweineseuche bekamen, stimmt mit meinen Resultaten, nämlich daß der *Bac. suisepiticus* nicht filtriert, überein.

Zu dem fünften Versuch benutzten die genannten Forscher ein 8 Wochen altes Ferkel aus einem Bestande mit Schweinepest. Nach der Sektion litt aber das Tier an Brustseuche. Die bakteriologische Untersuchung, welche aber nicht vollständig war, gab wenig Aufklärung.

Mit den Filtraten aus dem Blut und dem Lungengewebe wurden 2 Ferkel geimpft, mit den nichtfiltrierten Flüssigkeiten 4. Von den zuletzt

genannten 4 starb ein Ferkel 4 Tage nach der Impfung, wie das Tierexperiment auf Mäuse zeigte, infolge Brustseuche; die bakteriologische Untersuchung ergab kein Resultat, wegen eines Fehlers in der Beschaffenheit der Nährböden. 7 Tage später starb das zweite dieser Ferkel an einer hämorrhagischen Entzündung der Dünn- und Dickdärme; 16 Tage nach der Infektion das dritte unter Erscheinungen einer Septikämie, das Colon ein wenig angeschwollen, aber ohne diphtheritische Veränderungen.

Das letzte der 4 Ferkel mit den beiden mit Filtrat geimpften wurde geschlachtet, und alle drei waren mit chronischer Pest behaftet, die zu Geschwüren in den Därmen geführt hatte.

Mit filtriertem und mit nicht filtriertem Blut des zuerst gestorbenen Ferkels wurden von neuem 2 Ferkel geimpft, welche aber schon nach 4 Tagen geschlachtet und normal befunden wurden.

Um festzustellen, ob der Ansteckungsstoff in der zweiten Generation virulent sei, wurde ein Filtrat aus dem Blute des Ferkels gewonnen, das 16 Tage nach der Impfung mit nicht filtrierter Flüssigkeit verendet war. Ein subkutan damit eingespritztes Ferkel starb 10 Tage später an einer hämorrhagischen Darmentzündung.

Dann wurden auch Blut und Därme eines der geschlachteten Ferkel, welches an Darmgeschwüren erkrankt gewesen war, filtriert und mit dem Saft zwei Ferkel subkutan geimpft. Diese Tiere wurden 16 Tage nachher geschlachtet und es fand sich bei einem derselben Schweinepest vor.

Mäuse, mit Milz und Blut geimpft, starben nach 2, 3 und 4 Tagen und aus diesen Tieren wurden Pestbacillen isoliert. Aus dem Blut und aus den Därmen des zuerst gestorbenen Ferkels aus der zweiten Generation wurden wieder Filtrate angefertigt. Mit dem Blutfiltrat wurden 2, mit dem Darmfiltrat 1 Ferkel geimpft. Letzteres erwies sich nach der Schlachtung als normal, die beiden anderen aber starben an Schweinepest.

Nach diesen Versuchen ist also das filtrierte Blut auch in der zweiten wie in der dritten Generation noch virulent.

Bei den Versuchen VI, VII, VIII gelang es nicht, mit Filtraten aus Blut, Lungenflüssigkeit und Därmen von Schweinen, deren Sektion chronische Schweinepest ergeben hatte, Schweinepest hervorzurufen.

Da bei Prüfung der Filtrate diese sich immer keimfrei fanden, vermute ich, daß die Prüfung auf Sterilität immer sofort nach der Filtration oder nachdem sie im Eiskasten gestanden hatten, gemacht wurde. Obwohl verhältnismäßig große Quanta, 0,250 oder 0,2 ccm Filtrat, zu den Kulturversuchen verwendet wurden, ist diese Prüfung entschieden nicht hinreichend; das Filtrat muß im Brutapparat bei 37° C aufgestellt, daselbst 24 Stunden aufbewahrt werden, weil das Quantum der sich darin vorfindenden Mikroorganismen natürlich sehr klein ist und besonders weil der Nahrungswert der Flüssigkeit durch die Filtration sich sehr verringert hat.

Zum Filtrieren des Ansteckungsstoffes nahmen Ostertag und Stadie eine sehr glückliche Kombination. Sie fügten nämlich zu dem Blut oder zu dem Serum ein gleiches Quantum physiologischer Kochsalzlösung hinzu, und wie sich schon herausgestellt hat, gehen die Pestbacillen am leichtesten durch den Filter, wenn das Serum in diesem Verhältnis verdünnt ist. Hätte man das Serum rein oder mit mehr Flüssigkeit verdünnt filtriert, so würden die Resultate ohne Zweifel ganz anders ausgefallen sein.

In den Fällen, in denen die bakteriologische Untersuchung bei den Versuchsferkeln vorgenommen wurde, fanden sich Schweinepestbacillen

vor, überhaupt aber ist die Untersuchung nicht oder nicht gründlich angestellt worden. Wie dem auch sei, hierüber wird wenig mitgeteilt.

Ich zweifle nicht daran, daß man bei gründlicher Untersuchung bei allen Versuchstieren, die wirklich an Schweinepest fielen, auch den *Bac. suispestifer* gefunden haben würde.

Woher diese Bacillen kommen sollten, wenn man verneint, daß sie mit dem Filtrat eingespritzt wurden, wird nicht gesagt; daß sie bloß sekundär auftreten würden, bei Tieren, die durch einen anderen Virus infiziert worden sind, kann man ohne genügende Beweise nicht annehmen. Wären Pestbacillen vorhanden gewesen, so würden die Kontrolltiere nicht gesund geblieben sein, weil es feststeht, daß ein kleines Quantum Pestbacillen, besonders wenn dieselben per os aufgenommen werden, bei Ferkeln eine Krankheit mit letalem Verlauf hervorrufen kann.

Am Schlusse erlaube ich mir, Herrn Dr. J. Poels für die mir gewährte Unterstützung und das mir bewiesene Interesse bei dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

*Nachdruck verboten.*

**Züchtungs- und Tierversuche mit *Bacillus fusiformis*,  
*Spirochaete gracilis* und *Cladothrix putridogenes*.  
Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen  
gangränösen Entzündungen.**

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute der Universität zu  
Kolozsvár (Direktor: Prof. Buday).]

Von Dr. **D. Veszprémi**, Privatdozenten und I. Assistenten.

Mit 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Die Zusammensetzung der bei unseren erfolgreicherem Versuchen gebrauchten Nährböden ist die folgende:

Kaninchenserum	$\frac{1}{3}$	+	Perikardflüssigkeit	$\frac{2}{3}$	(3 + 6 ccm) = Sp
"	$\frac{2}{3}$	+	Bouillon	$\frac{1}{3}$	(5 + 2,5 " ) = Sl
Perikardflüssigkeit	$\frac{2}{3}$	+	"	$\frac{1}{3}$	(8 + 4 " ) = Pl
Hydrothoraxflüssigkeit	$\frac{2}{3}$	+	"	$\frac{1}{3}$	(8 + 4 " ) = Hl
Hydrokeleflüssigkeit	$\frac{2}{3}$	+	"	$\frac{1}{3}$	(8 + 4 " ) = Hkl
Ascitesflüssigkeit	$\frac{2}{3}$	+	"	$\frac{1}{3}$	(8 + 4 " ) = Al
Rinderblutserum	$\frac{1}{3}$	+	"	$\frac{2}{3}$	(4 + 8 " ) = Ml.

Ein Reagenzglas enthielt 7,5—9—12 ccm von diesen Nährböden, dennoch kann die Rede von aëroben Kulturen sein (anaërobe Kulturen machten wir auch in einigen Fällen, und zwar nach Buchner). Die Kulturen standen bei 37° C im Thermostaten (auch bei Zimmertemperatur oder bei Wärme von 22° C versuchten wir in einigen Fällen — der Vollkommenheit der Versuche wegen — zu züchten).

Nach diesem gehen wir zur Beschreibung der Kulturen über und halten es nicht für unnötig, noch einmal zu erwähnen, daß wir die aller-

ersten Kulturen aus dem Absceßteiler des 9. Kaninchens geimpft hatten, nachdem wir den Absceß mit der nötigen Asepsis geöffnet hatten. Es zeigte sich kein Unterschied, ob wir die Körnchen oder den flüssigen Teil des Eiters zu den Einimpfungen gebrauchten, dagegen wies die Entwicklung und das Verhalten der Kulturen einigermaßen einen Unterschied auf, je nach Zusammensetzung des Nährbodens, d. h. je nachdem wir mit Kaninchenserum oder mit menschlicher Transsudatflüssigkeit gemischten Nährboden gebrauchten. Sprechen wir zuerst über die letzteren.

**Stammkulturen auf den Pl(H1, Hk1, A1)-Nährböden.**

3<sup>2</sup>, 6, der Kultur nach 24 Stunden. Mäßige, gleichförmige Trübung; am Boden ein sehr feines, mehr flockiges als körniges Sediment. Starker Gestank, der an den Geruch dysenterischen Stuhles erinnert. Inhalt: Sehr viele Kokken, teils in Knäueln, teils in kurzen Ketten oder vereinzelt und zerstreut. Viele sehr feine, kurze, kaum 5  $\mu$  lange und sehr spitze fusiforme Bacillen, teils zerstreut, teils in kleinen Haufen. Beiläufig ebensoviele sich intensiv und gleichförmig färbende Bacillenformen verschiedener Länge, unter denen teils gerade gestreckte, mit scharf abgesetzten oder abgerundeten Enden, teils ein wenig gebogene kommaartige, teils gestreckt S-förmige unterschieden werden können. Längere fadenförmige Bakterien sind kaum nach langem Suchen zu finden, aber auch diese überschreiten nicht die Länge von 20—25  $\mu$ .

Nach 2 Tagen. Das Sediment ist reichlicher, starker unangenehmer Geruch, der den ganzen Thermostaten, ja nach Öffnen desselben sogar die Luft des ganzen Laboratoriums erfüllt. Auf Deckglaspräparaten haben wir denselben Befund, aber mit einer ausgesprochenen Vermehrung der Bakterien.

Nach 7 Tagen. An den Kulturen ist mit freiem Auge keine Veränderung wahrzunehmen. Bei der mikroskopischen Untersuchung waren wir überrascht, schon bei der ersten Einstellung hie und da eine außerordentlich feine, blasse Spirochäte zu sehen. Bei Untersuchung des Deckglaspräparates fanden wir dann immer mehr und mehr Spirochäten, manchmal ganz kleine Haufen und, wofern man sie zählen konnte, 8—10—15 in einer Gruppe; aber sobald sie dichter nebeneinander lagen, war es ganz unmöglich, sie voneinander zu trennen und zu zählen. Sie sind in jedem Gesichtsfelde in großer Anzahl vorhanden, aber wegen ihrer außerordentlich feinen Gestalt und ihrer sehr blassen Färbung fallen sie kaum auf. Das Auge muß sich sozusagen an sie gewöhnen, um sie sehen zu können. Ihre Länge ist verschieden, die meisten haben 4—5 Windungen, ja, es sind auch noch kürzere vorhanden; längere als 8—10—12-wellige zeigen sich nur selten. Diese letzteren sind auch etwas dicker und auch dunkler gefärbt. Ihre Enden sind deutlich zugespitzt und in ihnen ist weder ein Kern oder Chromatinkörnchen zu bemerken, sie färben sich immer gleichmäßig. Dort, wo sie sich unter fusiformen Bacillen oder anderen Bacillen befinden, sieht man ganz deutlich, daß sie mit diesen in keinem näheren Zusammenhange stehen, mit ihnen verschmolzen kann man sie nicht finden. Von den fusiformen Bacillen sind manche etwas gequollen, länger als die bisherigen, färben sich ungleichmäßig, ihre Mitte oder ihre Enden sind dunkler. Die Fadenbakterien sind in großer Menge vorhanden und sowohl von diesen wie auch von den Bacillenarten sind einzelne lückenhaft und weisen dunkle Körnchen auf.

Nach 14 Tagen. Am Boden des Reagenzglases ist ein 1—2 cm dicker, undurchsichtiger, körnig-flockiger Bodensatz, an den Seitenwänden des Glases stellenweise sedimentähnliche Auflagerungen. Der untere Teil der Flüssigkeit ist dick, gleichsam gallertig, der obere Teil dagegen hat sich aufgehellt und ist durchsichtig. Der üble penetrante Geruch erinnert an den faulender organischer Substanzen (stinkende Eiweißfäulnis). Die Luft in dem Thermostaten stinkt unausstehlich und im Laboratorium spürt man den Gestank von weitem. Zu erwähnen ist, daß derzeit im Thermostaten schon viele entsprossene Kulturen, nicht nur Stammkulturen, sondern auch weitere Generationen zusammen waren; dadurch ist das Entstehen des so intensiv unangenehmen Geruches zu erklären. Die fusiformen Bacillen, Fadenbakterien und andere Bacillenarten sind gequollen, körnig, die Fäden enthalten Vakuolen. Die Spirochäten färben sich gleichmäßig.

#### Uebertragungen.

II. Generation. Verhält sich ebenso wie die I. Generation.

Nach 5 Tagen zeigen sich außer den Fusiformen, Fadenbakterien und Bacillenformen viele Spirochäten, aber dennoch weniger als in der I. Generation nach 7 Tagen. Auch hier zeichnen sie sich durch ihre außerordentliche Feinheit und ihre blasse Färbung aus. In den folgenden Tagen konnte — ähnlich wie in der I. Generation — eine Vermehrung der Bakterien wahrgenommen werden.

III. Generation (1. Serie).

Nach 24 Stunden ist noch kein Zeichen der Entwicklung zu konstatieren, keine Trübung, weder Bodensatz noch übler Geruch. Auch nach 5 Tagen kein Erfolg, selbst in den folgenden Tagen nicht.

III. Generation (2. Serie).

Nachdem in der ersten Serie die Uebertragungen aus der II. Generation nicht gediehen sind, übertrugen wir neuerdings aus der II. Generation. Nach 24 Stunden, nach 3—4—5 Tagen ist noch kein Lebenszeichen auf den Nährböden. Am 6. Tage, gleichsam überraschend, empfindet man mäßigen üblen Geruch und am Boden des Reagenzglases ist geringes, feinkörniges Sediment. Im Deckglaspräparate sehen wir sehr schöne Spirochäten in großer Menge, hier und dort in kleinen Klumpen, und außer den wenigen Kokken noch viele kleine, spitze Fusiformen, ferner kommaartige Bacillen von verschiedener Länge, weiter sehr schöne lange Fäden. Die letzteren sind in sehr verschiedener Richtung gekrümmt, bald geknickt, bald bogenartig, bald schlingenförmig zurückgebogen. Sowohl die Fäden als auch ein großer Teil der Bacillenformen zeigen eine schöne gleichförmige Färbung, manche sind ungleichmäßig, gleichsam varicenartig, oder gleichmäßig gequollen, und weisen in längeren oder kürzeren Abschnitten oder in Körnerform eine stärkere Färbung auf. Diese Generation enthält also zuerst so lang gewachsene Fäden, während in den bisherigen nur Bacillenarten oder höchstens 30—40  $\mu$  lange Fäden waren.

Nach 7 Tagen ist die Kultur reichlicher, die Trübung gleichmäßig und genügend Bodensatz. Der mikroskopische Befund wie bei der vorigen Untersuchung.

Nach 9 Tagen beginnt der untere Teil der Kultur sich zu verdicken, wird gallertig, der obere hellt sich auf.

Nach 12 Tagen ist der untere Teil der Flüssigkeit schon ganz gallertig, gleichsam erstarrt, kaum durchscheinend, der obere Teil ist dünnflüssig, rein, durchsichtig, wie in der I. Generation.



Die 11 Generationen hindurch mittels Impfungen weiter erhaltenen Uebertragungen gediehen und entwickelten sich im großen und ganzen ähnlich den beschriebenen Kulturen, so daß ihre Beschreibung überflüssig ist. Doch müssen wir hervorheben, daß bei diesen späteren Generationen auch solche Kulturen waren, wo sich die Spirochäten schon nach 3 Tagen zu zeigen begannen, obgleich wir ihr Erscheinen in größerer Menge mit möglichster Beständigkeit auf den 5. Tag ansetzen können. Die Fadenbakterien vermehrten sich ebenfalls nur während 3—6 Tagen in größerer Anzahl, d. h., richtiger gesagt, wir fanden nur nach diesem Zeitraume auffallend lange Fäden. Im Durchschnitt erscheinen nach 10 Tagen die Involutionsformen und zwar sowohl die der Fusiformen als auch die der anderen Bacillenarten, d. h. der Fadenbakterien. Als bester Zeitpunkt für die Uebertragung bewährte sich der 10.—12. Tag, später hatten die Uebertragungen nur ausnahmsweise Erfolg, in einem Falle gedieh aber auch eine am 19. Tage bewerkstelligte.

Bei Zimmertemperatur, bei 22° C, blieben die Nährböden immer steril bzw. entwickelten sich bei 22° C manchmal Kokken.

Die Filterpapierstücke, die wir in *Plumbum acet.* getaucht hatten und in den oberen Teil des Reagenzglases gelegt haben, wurden schon nach 6—12 Stunden dunkelgrau, nach 24 Stunden ganz schwarz, woraus man sicher auf Bildung von Schwefelhydrogen schließen kann.

Kulturen auf den mit Kaninchenserum gemischten Nährböden (Sp. Sl).

Diese schildern wir deshalb separat, weil sie sich etwas abweichend von den vorigen entwickelten.

Kultur 3' und b etc. Nach 24 Stunden ist in einigen Reagenzröhrchen eine feine Trübung, in anderen mäßiger Gestank und am Boden wenige, sehr feine Körnchen wahrnehmbar. In den ersteren sind nur Kokken, in den letzteren sehr feine spitze Fusiformen, wenige Bacillenarten und vereinzelt 1—2 Fäden sowie wenige Spirochäten zu sehen.

Nach 48 Stunden ist bei jeder Kultur der Geruch stärker, Körnchen treten in großer Zahl auf, aber sie sind noch winzig, kleiner als Mohnkörner.

Nach 3 Tagen zeigt sich eine auffallende Veränderung. An den Kulturen spürt man einen sehr intensiven, putriden, an faulenden Stuhl erinnernden Gestank. An den Wänden der Reagenzröhrchen haben sich nadelstichartige Gasbläschen angesetzt und beim Schütteln steigen solche auch aus der Flüssigkeit in großer Menge auf, ebenso auch beim Umrühren der Flüssigkeit mit einer Platinöse, so daß die Oberfläche der Flüssigkeit ganz fein schaumig wird, zugleich wird der Geruch viel intensiver, fast unausstehlich. Der Boden des Reagenzglases ist mit weißen Körnchen von der Größe der Mohnkörner besetzt und eben solche sind etwas höher an den Wänden des Glases. Die Körnchen sind nicht gleichmäßig, von runder Oberfläche, sondern mit sehr feinen Knoten und Höckern besetzt. Mikroskopisch untersucht, bestehen sie aus einer Masse von Fusiformen, kürzeren und längeren Fäden und Bacillenformen neben vielen Kokken; Spirochäten sind keine vorhanden. Nach 5 Tagen sind die Körnchen größer, hirsekorn groß, der Nährboden ist in seiner ganzen Masse leicht gallertig erstarrt, so daß man die Körnchen vom Boden kaum herausfischen kann.

An einzelnen der kürzeren Fäden und der Bacillenformen, besonders jenen, die bestimmt dem Involutionsstadium entsprechen, zeigte sich zwar immer nahe dem Bacillenende ein sporenartiges, rundliches oder ovales

umschriebenes Körnchen. Diese kleinen Gebilde färbten sich bei Sporenfärbung lebhaft rot, während der Bacillenkörper sich mit Methylenblau färbte. Solche vermochten wir aber bloß auf 2 Präparaten nachzuweisen.

In den späteren Tagen kann man an den Kulturen die interessante Veränderung wahrnehmen, daß sich über dem gallertig geronnenen Teil fast farbloses oder nur blaßgelblich gefärbtes Serum auszuschcheiden beginnt, daß der gallertige Teil brüchig zerfällt und sich am Boden des Glases samt den Körnchen als Bodensatz ansammelt.

Dasselbe Verhalten, nämlich Körnchenbildung, Gerinnung, Wiederverflüssigung, wiesen auch jene Kulturen auf, deren Nährboden aus Rinderserumgemisch bestand (M1), aber niemals so ausgeprägt und sicher, wie eben die Kaninchen Serum enthaltenden Nährböden.

An den eben beschriebenen Kulturen war es auffallend, daß man die Spirochäten auch in den ersten Tagen finden konnte und daß sie später wieder verschwanden, ja sogar, daß wir in den späteren Generationen, die sich auf Sp, Sl gesetzten Nährböden entwickelten, Spirochäten nie zu sehen vermochten.

Da wir uns überzeugen wollten, ob die auf Sp sich körnerartig entwickelten Kulturen dieselben Eigenschaften auf Pl-Nährböden bewahren, impften wir gleich aus der I. Generation in den ersten Tagen auf Pl-Nährböden in mehreren Reagenzglaschen. Diese ergaben aber Kulturen, die den ursprünglichen nicht ähnlich waren, sondern sich wie die zuerst beschriebenen auf Pl-Nährböden wachsenden Kulturen verhielten; es bildete sich nämlich ein mehr flockiges als körniges Sediment, der Nährboden klärte sich zwar, aber ohne vorher geronnen zu sein. Beachtenswert ist aber, daß alle auf Pl entwickelten späteren Generationen insgesamt Spirochäten in großer Menge enthielten. Die Erklärung dieses Umstandes kann ohne Zweifel nur die sein, daß die aus dem Eiter des Kaninchenabscesses in großer Menge auf die erste Sp-Generation übertragenen Spirochäten ihre Lebensfähigkeit während der paar Tage — bis sie aus dem Sp-Boden auf den ihrer Vermehrung besser zusagenden Pl-Nährboden gelangten — nicht verloren hatten.

Ebenso muß auch die Erfahrung besonders erwähnt werden, daß die aus Sp auf Pl-Nährboden übertragenen und sämtliche Bakterienarten enthaltenden Kulturen, wenn sie wieder auf Sp- oder Sl-Boden geimpft wurden, neuerdings Körnchen bildeten und die Entwicklung und Vermehrung der Spirochäten ausblieb. Diesen Versuch wiederholten wir mehrere Male mit demselben Erfolg. Während aber die Pl-Kulturen bei ihrer weiteren Uebertragung immer sicher gediehen sowie durch 9—10—11 Generationen hindurch erhalten werden konnten, konnten die Sp- und Sl-Kulturen über die 2. und 3. Generation schon nicht mehr übertragen werden, weder auf dieselben noch auf andere Nährböden.

Eine weitere interessante Erfahrung machten wir in den folgenden Fällen. Die Sp-Kulturen enthielten nach 24 Stunden — abgesehen von verhältnismäßig wenigen Kokken — zuweilen Riesenmengen von Fusiformis-Bacillen. Nun schienen solche Kulturen geeignet zu sein, es zu versuchen, ob es nicht gelingen würde, die Fusiformen — wenn auch mit den Kokken — von den anderen Mikrobenarten zu isolieren. Aus diesem Grunde impften wir, sobald wir wahrnahmen, daß nur die Fusiformen in großer Menge vorhanden waren, immer spätestens binnen 24 Stunden sofort auf frische Nährböden. Das Ergebnis war in einigen Fällen, daß bei diesen neuen Impfungen von der Vermehrung der Fusiformen schon nicht mehr die Rede sein konnte, an den folgenden da-

gegen überhaupt gar keine Zeichen ihrer Entwicklung gefunden wurden, die Kokken aber auch weiter gut gediehen. Wir konnten also die Fusiformen nicht einmal 2 Generationen hindurch isoliert erhalten. Das ist um so interessanter, daß sie, wenn wir sie nur nach Auftreten aller Mikrobenarten überimpften, ganz sicher gezüchtet werden konnten. Dieser Umstand spricht jedenfalls dafür, daß die Symbiose sämtlicher Bakterien für die beständige Vermehrung und Lebensfähigkeit dieser Mikroben durch viele Generationen hindurch eine Hauptbedingung sei und unserer Meinung nach auch für die Erhaltung ihrer Virulenz.

Ueber die nach Buchner anaërob gediehenen Kulturen wollen wir nur so viel erwähnen, daß wir teils aus der 5. (Pl, Sp), teils aus der 6. (Pl, Sp) Generation der mit 3 bezeichneten Stammkultur auf Pl.-Boden geimpft haben. Die Entwicklung dieser Kulturen sowie ihre Uebertragung durch einige Generationen hindurch ergaben ein dem obigen ähnliches Resultat. Unter den aus den Kulturen gemachten Deckglaspräparaten waren auf 1—2 Präparaten, nach van Ermengem gefärbt, rings um die fusiformen Bacillen Geißeln nachweisbar.

#### Tierimpfungen mit Kulturen.

Mit der Kultur 6, I. Generation, impften wir auf 2 Kaninchen (A und B) intramuskulär.

Kaninchen A. 1040 g. Am 4. Tage ist eine mäßige Schwellung sichtbar. Nach 14 Tagen ist es schon ein haselnußgroßer Absceß, der in den folgenden Tagen mäßig wächst. Am 19. Tage öffneten wir den Absceß. Aus der tiefliegenden kleinen Höhle entleert sich dicker, überriechender, weißlicher Eiter, in welchem Spirochäten, fusiforme Bacillen, lange Fäden, längere und kürzere Bacillen von verschiedener Form und Kokken in genügend großer Menge zu finden sind. Am 5. Tage nach der Incision entleert sich sehr überriechendes, dünnes, eitriges Sekret, in der Tiefe sind bloßgelegte, mit fahlschmutzig-grauem Belag bedeckte Muskelbündel. 27 Tage nach der Impfung ging es zu Grunde. Gewichtsverlust 180 g. Unter der Haut des rechten Oberschenkels war eine kindfaustgroße Höhle und eine zwischen 2 Muskelbündel in die Tiefe und gegen den Bauch dringende schmale Spalte, welche dicken Eiter enthält. Die Wandung der Höhle wird von fahlschmutzig-grauen nekrotischen Auflagerungen bedeckt. Der bakteriologische Befund ist wie oben.

Kaninchen B. 1060 g. Nach 4 Tagen ist mäßige Schwellung vorhanden. Nach 9 Tagen ein haselnußgroßer Absceß unmittelbar unter der Haut. Am 17. Tage fanden wir den Absceß aufgebrochen. Aus der Höhle kann wenig dicker, stinkender Eiter herausgedrückt werden, in dem sehr schöne Spirochäten, dann schöne lange Fäden, Bacillenformen, Fusiformen und wenige Kokken gefunden werden können. Am 19. Tage Exitus. Gewichtsverlust 220 g. Sektion: Am ganzen inneren Teil des Schenkels ist eine flache, mit außerordentlich überriechendem, putridem, dünnflüssigem, fadenziehendem Exsudat gefüllte Höhle, die nach unten bis zum Knie, nach oben und nach links in das subkutane Gewebe des Bauches zieht. Die Muskelbündel sind wie präpariert, weisen spaltförmige Höhlen auf, über welche flockige, nekrotisierte, ein wenig schmutziggrüne Muskel- und Sehnenfetzen ausgebreitet sind. Die innere Untersuchung weist keine Veränderungen auf. Der bakteriologische Befund ist wie oben.

Mit dem Eiter, den wir beim Öffnen des Abscesses aus Kaninchen A erhalten hatten, impften wir 2 Kaninchen, E und F, intramuskulär.

Von diesen erschien zwar bei E an der Impfstelle nach einigen Tagen eine mäßige Schwellung, ging jedoch langsam wieder zurück, so daß sich ein Absceß gar nicht entwickelte. Das Tier blieb gesund, nahm an Gewicht zu und wir ließen es weiterleben.

Kaninchen F. 1020 g. Nach 2 Tagen erschien eine diffuse Schwellung von der Größe einer Haselnuß. Der Absceß wächst außerordentlich langsam, wobei das Tier beständig, aber ebenfalls in sehr langsamem Tempo, abmagert, bis es am 35. Tage erliegt. Gewichtsverlust 410 g. Sektionsbefund: In der Tiefe zwischen 2 Muskelgruppen befindet sich ein gut abgegrenzter Absceß von Bohnengröße, der als Ganzes herausgenommen wurde. Aus dem Absceß konnte man sehr dicken, fast comedoartigen, kaum stinkenden Eiter herausdrücken, in dem sich auch verkalkte Körnchen befanden. Mikroskopisch untersucht, waren auffallend viele Spirochäten, wenige Fusiformen und Fadenbakterien, größtenteils körnig entartet, und sehr wenige Kokken nachzuweisen.

Mit der II. Generation der Kultur 6 haben wir 2 Kaninchen (C und D) intramuskulär geimpft.

Kaninchen C. 1290 g. Nach 12 Tagen erschien eine Schwellung von Haselnußgröße, die fest gespannt blieb und kaum ein wenig erweichte. Am 57. Tage gelang es uns, mit einer sterilen Spritze einige Kubikcentimeter weißen, außerordentlich verdickten und ziemlich stinkenden Eiters zu entnehmen, in welchem wir lange Fäden und Bacillen in größerer Anzahl und Fusiformen sowie Spirochäten und Kokken gefunden haben. Die Mikroben färbten sich im allgemeinen schwach. Das Tier erliegt am 90. Tage mit einem Gewichtsverlust von 510 g. Sektion: Ueber der unteren Muskelgruppe ist eine nach hinten und innen reichende Höhle von der Größe eines Hühnereies, deren Inhalt rahmartiger, dicker, kaum stinkender, körniger Eiter bildet. Der bakteriologische Befund ist wie oben.

Kaninchen D. 1290 g. Nach 4 Tagen ist eine starke diffuse Schwellung vorhanden. Am 6. Tage erliegt schon das Tier. Gewichtsverlust 110 g. Sektionsbefund: Die Haut am ganzen inneren Teil des rechten Oberschenkels erscheint schmutzig-grünlich und Fluktuation zu fühlen. Beim Einschneiden war sowohl im Bindegewebe wie auch zwischen den Muskelbündeln penetrant stinkendes, mehr dünnflüssiges, schmutzig-braunes, putrides Exsudat zu sehen. Zwischen den Muskeln sind zahlreiche Höhlen, die miteinander kommunizieren, ihre Wandungen sind entweder mit schmutzig grünlich-braunen oder fahlgrauen gangränösen Gewebsfetzen belegt. Diese Veränderung reicht nach unten bis zum Knie. Die inneren Organe sind normal. Unter dem Mikroskop sieht man in großer Zahl schöne Spirochäten, fusiforme Bacillen, auffallend wenig lange Fäden, dagegen sehr viele verschiedenartige Bacillenformen und Kokken.

Mit den Körnchen der VII. Sp-Generation der Kultur 3 impften wir die Kaninchen G und H.

Kaninchen G. 920 g. Bei beständiger Abmagerung erliegt es nach 48 Tagen und während dieser Zeit bildete sich ein langsam wachsender Absceß von der Größe einer kleinen Nuß, aus welchem sich weißlich-grauer, zäher Eiter entleert mit darin enthaltenen Körnchen von Stecknadelkopfgröße. Der Eiter enthält Fadenbakterien, Bacillen, auffallend wenig Fusiformen und Kokken; Spirochäten gelang es nicht nachzuweisen.

Kaninchen H. 1370 g. Das Tier blieb ziemlich lange, 134 Tage, am Leben. Während dieser Zeit nahm es an Gewicht anfangs zu, während 36 Tagen hat sich ein Absceß von Nußgröße gebildet, der aufbrach. Allmählich heilte die Aufbruchsstelle zu, aber unter ihr konnte man noch immer kleine Knoten fühlen. Etwa vom 50. Tage an begann es abzumagern, es entwickelte sich langsam ein Marasmus und am 134. Tage ging es zu Grunde. Gewichtsverlust 300 g. Sektion: Unter der Haut wurden auf einer etwa hellergrößen Fläche mohn- bis hirsekorngröße eingedickte Eitergruppen gefunden, in der Tiefe aber zwischen den Muskeln war eine ebenfalls dicken Eiter enthaltende Höhle von der Größe einer Nuß. Ihre Umgebung war ein wenig vernarbt und schiefergrau gefärbt. Unter dem Mikroskop konnte man weder Spirochäten noch fusiforme Bacillen finden, sondern nur wenige körnige Fäden, Bacillen und Kokken.

Zwei Kaninchen (I und K) haben wir mit Kulturen in die Ohrvene geimpft, beobachteten sie während 3 Monaten, aber sie zeigten gar kein Zeichen der Erkrankung.

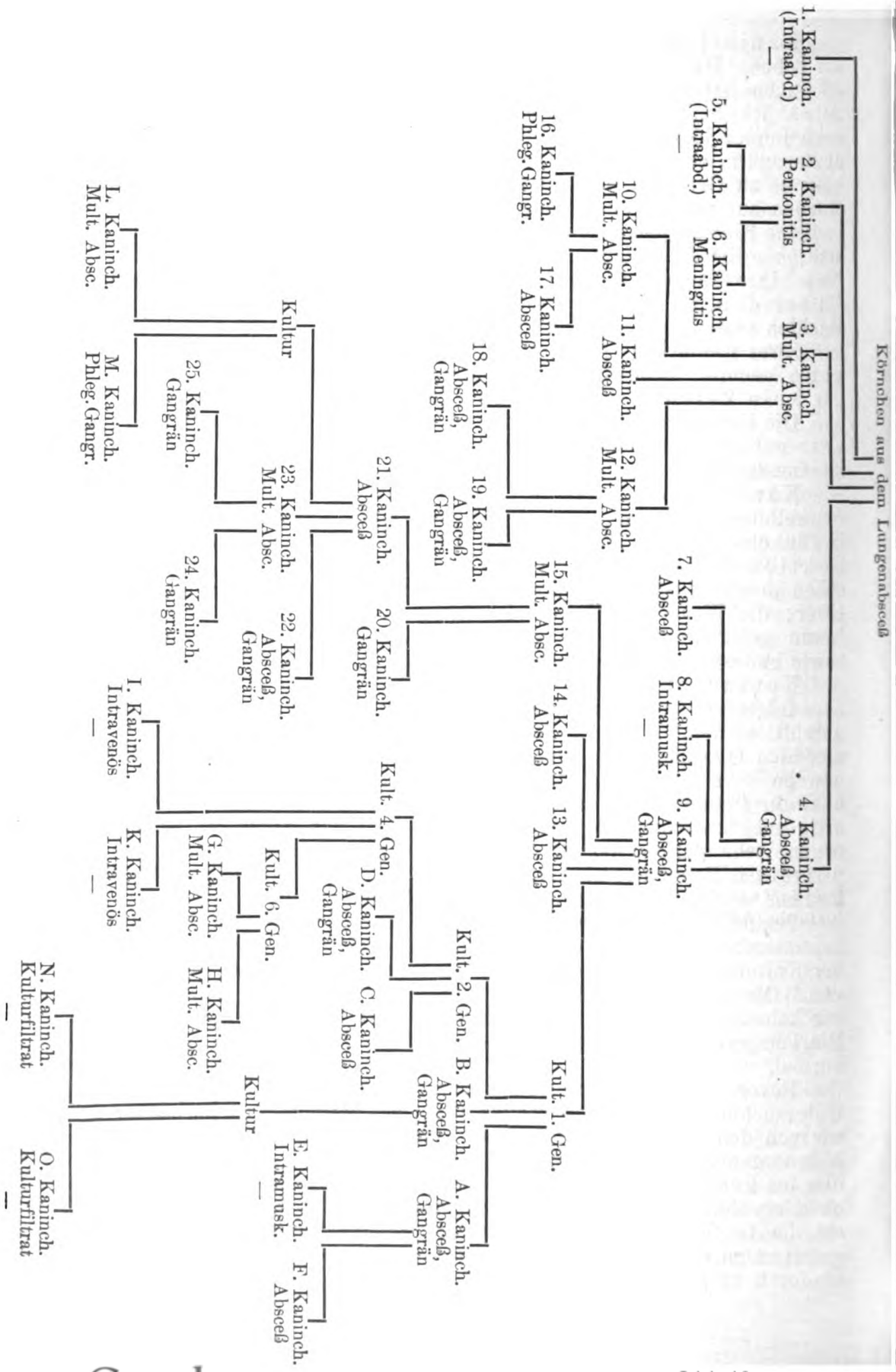
Die Kaninchen L und M impften wir mit einer anderen Kultur und zwar mit einer aus dem Abscesse des Kaninchens 21 gezüchteten Kultur intramuskulär.

Kaninchen L. 900 g. Nach 8 Tagen ist eine haselnußgroße Schwellung vorhanden, nach 16 Tagen zeigt sich ein Absceß von der Größe einer großen Nuß. Am 17. Tage Exitus. Gewichtsverlust 280 g. Sektionsbefund: Die Muskelbündel sind sozusagen präpariert, zwischen ihnen ist schmutzig-grauer, übelriechender, dünner, fadenziehender Eiter; die Wand der Höhlen ist fahlgrau, nekrotisch oder schmutziggelblich gefärbt. Im Eiter sind schöne Fusiformen, wenig Spirochäten sowie Fadenbakterien, mehrere Bacillen und sehr viele Kokken zu sehen.

Kaninchen M. 1100 g. Nach 8 Tagen diffuse Schwellung, die in den folgenden Tagen zunimmt; ein umschriebener Absceß kann nicht gefühlt werden. Nach 12 Tagen Exitus. Sektionsbefund: An der medialen Oberfläche des Oberschenkels ist in dem subkutanen Bindegewebe sehr übelriechender, bräunlich-grünlicher, putrider Eiter, der über die Inguinalbeuge hinaus auch auf den Bauch reicht und phlegmonartig auch zwischen die Muskeln. Die Wand der Höhle ist schmutziggelblich, sehr stark stinkend, und mit wenig Gewebsfetzen bedeckt. Im putriden Exsudat sind viele Fusiformen, Spirochäten und Bacillenformen, wenig Fäden und sehr viele Kokken zu finden.

Schließlich impften wir subkutan 2 Kaninchen, N und O, mit dem bakterienfreien Filtrate einer Kultur, um auch die toxische Wirkung der Kulturen zu studieren. Beide Kaninchen beobachteten wir im Laufe von 3 Monaten, wir maßen beständig ihre Temperatur, jedoch konnten wir kein Zeichen irgend einer Reaktion oder Erkrankung wahrnehmen. Die Temperatur war immer, auch sogar in den Stunden nach der Impfung, normal.

Bevor wir die Beschreibung unserer sämtlichen Experimente und Untersuchungen beendigen, wollen wir noch darüber kurz berichten, daß wir von den einzelnen Fällen dieser letzten Tierversuche die fraglichen Mikroorganismen neuerdings züchteten. Und zwar gelang es uns, aus den bei Kaninchen B, D, I und M ausgebildeten Abscessen auf den schon oben erwähnten Nährböden und in derselben Art sowohl die Spirochäten als die fusiformen Bacillen sowie die Fadenbakterien in großer Zahl gedeihen zu sehen und dieselben durch mehr oder weniger Generationen hindurch zu züchten.



Wenn wir die von verschiedenen Autoren mit Kulturen gemachten Tierimpfungen des Vergleiches halber durchsehen, machen ihre Berichte den Eindruck auf uns, daß jene noch weniger erfolgreich waren, als die mit vom Menschen stammenden Material gemachten Tierversuche. Vincent sah nach subkutaner oder intramuskulärer Einimpfung seiner Kultur Absceß- und Fistelbildung und Auftreten von nekrotischen Knoten, in welchen er außer anderen Mikroben auch den Fusiformen und die Spirochäten fand. Niclot und Marotte haben in 3 Fällen mit Kulturen geimpft und zwar in einem Falle mit solchen, die fusiforme Bacillen und Spirochäten enthielten, in den zwei anderen Fällen mit nur Fusiformen enthaltender Kultur; das Ergebnis war eine nicht eben schwere Eiterung, die heilte. Veillon und Zuber verursachten mit fusiforme Bacillen enthaltender „reiner“ Kultur kleine Abscesse. Verhältnismäßig noch schwerere und mit Exitus der Tiere einhergehende Veränderungen beobachtete Eichmeyer. Bei 3 teils subkutan, intramuskulär, teils in die Bauchhöhle oder in die Conjunctiva geimpften Meerschweinchen bildeten sich stinkende gangräneszierende Abscesse. Im Exsudate fand er neben Kokken fusiforme Bacillen und Fadenbakterien; die Spirochäten erwähnt er nicht. Bei diesen kurz geschilderten Erfolgen, verglichen mit dem Resultate unserer Versuche, abgesehen von der größeren Zahl unserer erfolgreichen Impfungen, ist besonders die Verschiedenheit hervorzuheben, daß in unseren Fällen der Hang zum gangränösen Zerfall ausgebildeter, der Hang zur Heilung sehr beschränkt war, sowie besonders auch der Umstand, daß im Eiter sowie im putriden Wundsekret Spirochäten beständig in großer Menge vorhanden waren, mit Ausnahme der Kaninchen G und H; aber die zu ihrer Impfung gebrauchten Kulturen enthielten auch keine Spirochäten.

Aus den zu Beginn des III. Abschnittes beschriebenen Züchtungsversuchen geht hervor, daß es gelang, alle 3 Mikrobenarten zusammen auch aus Kaninchenabscessen in mehreren Fällen nicht nur zu züchten, sondern sie durch verhältnismäßig viele Generationen hindurch auch am Leben zu erhalten. Aus den im zweiten Teil des Kapitels zusammengefaßten Tierimpfungen geht weiter hervor, daß die fraglichen Mikroorganismen auch in den Kulturen ihre Virulenz, ihre Fähigkeit, Krankheit zu erregen, beibehielten, denn bei den mit Kulturen subkutan oder intramuskulär geimpften Kaninchen traten Veränderungen auf, die denen der ersten Tierversuchsreihe ganz ähnlich waren und zwar entweder eiterige oder gangränöse Abscesse. Aus diesen Abscessen gelang es uns schließlich, alle Mikrobenarten zusammen wieder zu züchten.

Was anderenteils die Würdigung unserer Züchtungsversuche betrifft, müssen wir es leider bekennen, daß es uns ähnlich den meisten Autoren nicht gelang, eine Reinkultur der fraglichen Mikroben zu erhalten, obgleich wir es mehrere Male versuchten. Diesbezüglich können wir die Erfahrung hervorheben, daß es uns zwar manchmal gelang, die fusiformen Bacillen mit den Kokken zusammen, von den anderen Mikrobenarten geschieden, auf einen frischen Nährboden zu übertragen, aber weiter als 2 Generationen hindurch blieben sie nicht lebensfähig. Wir gestehen auch, daß wir den Grund dieses Mißlingens nicht darin suchten, als ob diese Bakterien, eines ohne das andere, also in Reinkultur nicht gezüchtet werden könnten, sondern unsere diesbezüglichen Versuche mißlingen vielleicht deshalb, weil wir keinen günstigen, den Lebensbedingungen der betreffenden Bakterienart zusagenden Nährboden gebrauchten und da wir nicht nach einer solchen Methode arbeiteten, die erfolgreich sein

konnte. Desto mehr müssen wir das Mißlingen auf unsere unvollkommene Untersuchungsmethode zurückführen, weil wir eben über die fusiformen Bacillen solche Berichte kennen, welche angeblich von Reinkulturen sprechen (Ellermann, Lewkowicz), ja in neuerer Zeit gelang es Mühlens sogar, Spirochäten auf künstlichem festen Nährboden in einer nur mit sehr wenig Kokken gemischten Kultur zu finden. Anderenteils wenn wir bedenken, daß eben dieselben Mikroben auch allein in den Produkten der pathologischen Vorgänge vorkommen, müßten sie zugleich auch in Reinkultur gezüchtet werden können. Dennoch kann man bezüglich der Reinkultur der fusiformen Bacillen einen auffallenden Umstand beobachten und zwar, daß diese Kulturen sehr beschränkte Zeit hindurch lebensfähig bleiben, nur sehr selten und durch wenige Generationen hindurch am Leben erhalten werden können. Jedenfalls kann man die Ansicht nicht von der Hand weisen, daß eine Lebensbedingung dieser Bakterienarten die Symbiose ist.

Wenn also auch wir uns mit Reinkulturen nicht rühmen können, obgleich wir auch nur über gemischte Kulturen sprechen können, müssen wir den Erfolg unserer Züchtungsversuche dennoch für wertvoll halten, einerseits nicht nur aus dem Grunde, daß in unseren Kulturen außer den Fusiformen und Fadenbakterien auch die Spirochäten gediehen, sondern andererseits, weil sie verhältnismäßig durch viele Generationen hindurch am Leben erhalten werden können, auffallend sich vermehrten und ihre Virulenz behielten. Und auf Grund dessen müssen wir unsere Versuche eben mit Bezug auf die Spirochäten als einzig dastehend betrachten. Abgesehen zwar von den Fällen, wo man bei den allerersten Impfungen in der Kondensationsflüssigkeit des Nährbodens auch Spirochäten gefunden hat, manchmal auch schon in einigen Tagen, gelang es nur Silberschmidt, dieselben in 1-proz. essigsaurer Bouillon angeblich durch 3 Generationen zu züchten, und Niclot und Marotte sahen sie sich in einer Generation vermehren. Unsere Züchtungsversuche, verglichen mit jenen anderer, wäre überflüssig nach Eichmeyers zusammenfassender Arbeit die von einzelnen Forschern erreichten Erfolge ausführlich darzulegen. Es wird vielleicht genügen, uns nur darauf zu beschränken, jene gemeinsamen Züge hervorzuheben, die aus den verschiedenen Versuchen konstatiert werden können. So stimmen die Erfolge mit den unsrigen in erster Linie darin überein, daß zur Züchtung der fusiformen Bacillen jene flüssigen Nährböden die günstigsten sind, welche verhältnismäßig viel tierisches Eiweiß enthalten, also besonders mit Blutserum sowie mit menschlichem Transsudat gemischte Nährböden (Niclot und Marotte, Netter, Gross, Czaplewsky, Vincent, Carnot und Fournier, Weaver und Tunidiff). Aber außer diesen züchteten ihn Silberschmidt, Seitz in Bouillon, Uffenheimer in sterilem menschlichen Speichel oder sahen ihn sich vermehren im Kondenswasser fester Nährböden. Ausnahmsweise erhielten sie *B. fusiformis*-Kulturen auf festen mit eiweißreichen Flüssigkeiten gemischten Nährböden gewöhnlich auf Agar oder zuweilen auf erstarrtem Blutserum, wie Abel, Niclot und Marotte, Thiry. Es ist interessant, daß der *B. fusiformis* als „Reinkultur“ nur auf Serum oder Ascitesagar gedeiht, und zwar in streng anaërober Weise. Dafür sprechen jene wenigen scheinbar erfolgreichen Versuche, welche Rist, Veillon und Zuber, Ellermann, in neuester Zeit Lewkowicz in übrigens kurzen, vorläufigen Berichten erwähnen. Ersteren gelang es auf Serumagar, letzterem auf Serumzuckeragar anaërob, angeblich von anderen Bakterien ganz



getrennt gewachsene fusiforme Bacillenkulturen zu sehen. Beurteilen wir aber streng diese Reinkulturen, so können wir nicht umhin, darauf zu verweisen, daß sowohl in Ellermanns wie auch in Lewkowicz's Beschreibung ganz bestimmt auch lange Fäden eine Rolle spielen. So sagt z. B. Ellermann bei der Charakteristik des in seiner Kultur gefundenen Bakteriums: „Die Länge beträgt 5—12  $\mu$ , zuweilen werden „sehr lange Fäden“ gebildet.“ Lewkowicz läßt eine noch größere Veränderlichkeit des *B. fusiformis* zu: „Der Bacillus zeichnet sich durch eine ziemlich große Polymorphie aus (Fig. 1—8). Nur aus ganz jungen Kulturen erhalten wir gewöhnlich regelmäßig geformte Stäbchen mit abgerundeten Enden im Uebergewicht. Manchmal sind die Bacillen ausgeprägt spindelförmig. Den Bacillen gesellen sich oft ziemlich zeitig lange „fadenförmige“ oder lange spindelförmige, spitz gegen die Enden zulaufende Gebilde zu.“ Unter seinen Zeichnungen zeigen die 2., 3., 5.—6. aber bestimmt solche Fäden, die man wirklich nur mit einem guten Willen für fusiforme „Bacillen“ ansehen kann, so daß wir auf Grund dessen nicht ohne Ursache bezweifeln, ob sie mit Recht als „Reinkulturen“ gelten können. Alle hier angeführten Züchtungsversuche gelangen hinsichtlich der Zeitdauer und Uebertragung nur in beschränktem Maße. Eichmeyer ist der einzige, der in einigen Fällen von Stomatitis ulcerosa und Stomatitis mercurialis in gemischter Kultur die fusiformen Bacillen durch 14—27 Generationen hindurch züchtete und zwar in Bouillon oder in Blutserum in aërober Weise. Wir wollen aber hervorheben, daß Eichmeyers Kulturen und seine so vielen Generationen sich in verhältnismäßig kurzer Zeit entwickelten, und zwar aus dem Grunde, weil er die Kulturen gewöhnlich am 2. Tage oder zuweilen am 4. Tage auf frischen Nährboden übertrug. Die Züchtung gelang sowohl in unseren Versuchen wie auch anderer immer im Thermostaten, so daß als günstige Temperatur die von 37° C gelten kann.

Die Kulturen produzierten ausnahmslos einen sehr unangenehmen Geruch, den die verschiedenen Forscher verschieden charakterisieren, so vergleichen sie ihn mit dem Geruch von faulen Eiern, Gangrän, Stomakace, Faeces, dysenterischem Stuhl, Knoblauch. Seitz und Silberschmidt nahmen echte Gasbildung, nämlich das Vorhandensein von stinkenden Gasen wahr. Wir beobachteten bestimmt Gasentwicklung in unseren Kulturen und zwar besonders intensive auf mit Kaninchen-serum gemischten Nährböden, die infolge der Entwicklung von Gasbläschen ganz schaumig wurden. Wir können auch sicher behaupten, daß unter den entwickelten Gasarten in großer Menge Schwefelhydrogen war, was auch dadurch bewiesen wird, daß das über die Kultur gehaltene Plumb. acet.-Papier sich schwärzte. Wir möchten diese stinkende Gasentwicklung und im allgemeinen den penetranten Geruch der Kulturen auf Eiweißzerfall, Eiweißfäulnis zurückführen, schon deshalb, weil der Geruch ähnlich dem bei Fäulnis eiweißreicher organischer Substanzen ist. Es wäre interessant, zu beweisen, welche von den wenigstens 4 Arten in der Kultur vorhandenen Mikroben an der Gasbildung den Löwenanteil hat. Eben wegen des Zusammenlebens der verschiedenen Mikroben können wir hierauf keine bestimmte Antwort geben. Eine diesbezügliche gewisse Orientierung lassen unsere Kulturen doch zu. Wir haben nämlich erfahren, daß der Gestank dann am intensivsten war, als die Fadenbakterien sich in großer Zahl zu entwickeln begannen, also auf 2—3 Tage alten Kulturen, eben dann trat in den Sp-Kulturen die intensive Gasbildung auf. Aber die 24-stün-

digen, namentlich gemischten Kulturen — die schon damals Fusiformen enthielten — waren kaum stinkend. Es ist zwar wahr, daß die reinen Pl-, Hl- und Al-Kulturen schon nach 24 Stunden ziemlichen Gestank verbreiteten, aber mikroskopisch konnten wir schon das Vorhandensein von Fadenbakterien und von diesen ähnlichen anderen Bacillenarten in großer Zahl finden. Hieraus würde hervorgehen, daß der Gestank der Kulturen mit der Entwicklung der Fadenbakterien Schritt hält. Wenn wir nun auch das in Betracht ziehen, daß die meisten Autoren mit erstaunlicher Einigkeit den unseren ähnliche Fadenbakterien und Bacillenformen beschrieben, weiter, daß es uns gelang, aus einem Anginafall nur Fadenbakterien mit Kokken gemischt zu züchten und daß diese Kulturen ebenso wie die vorigen einen penetranten Gestank verbreiteten, können wir uns der Wahrscheinlichkeit nicht verschließen, daß in den Kulturen, aber im allgemeinen bei solchen pathologischen Vorgängen, wo die fraglichen Mikroben gemeinsam vorkommen, mit der Erzeugung des Gestankes die Fadenbakterien beschuldigt werden können. Einige Autoren (Uffenheimer, Dopter) sind der Meinung, daß bei der Entwicklung des Gestankes nicht der Fusiformis-Bacillus, sondern vielleicht die Spirochäten eine Rolle spielen. Auch klinische Beobachtungen können diese Annahme unterstützen, daß nämlich die Anwesenheit von Fusiformen und Spirochäten nicht immer mit stinkenden Prozessen einhergeht, weil auch mehrere solche Anginafälle beobachtet sind, bei welchen trotz dem Vorhandensein sehr vieler dieser Mikroben der Fötör fehlte. Máthé dagegen hebt hervor, daß er in vielen rein „fusospirillären“ Anginafällen Fötör überhaupt nicht wahrnahm. Uebrigens kann diese Frage ohne jeden Zweifel nur dann beantwortet werden, wenn es gelingt, diese Bakterien tatsächlich in Reinkulturen zu züchten.

Wir müssen noch einige Worte der Entwicklung der Kulturen in aërober oder anaërober Weise widmen. In dieser Hinsicht scheinen die Versuche stark voneinander abzuweichen. Während nämlich die Mehrheit der Forscher über in aërober Weise gezüchtete Kulturen berichtet, ergreifen einzelne mit Bestimmtheit für die anaërobe Art Partei namentlich hinsichtlich der Fusiformen und der Spirochäten. Unserer Meinung nach ist dieser Unterschied nur scheinbar. Jedenfalls müssen wir den zwei Umständen Rechnung tragen, daß von gemischten Kulturen und von in organischen Substanzen Fäulnis erregenden Bakterien die Rede ist. Mit Rücksicht auf diese Umstände müssen wir daher annehmen, daß im Nährboden ganz verschiedene Gase entstehen, welche auf diese Weise mit den der anaëroben Züchtung zusagenden Gasarten gesättigt werden, und das zur Aërobiose nötige Oxygen fehlt. Wir dürfen uns nun darüber nicht wundern, daß strenge Anaërobier in Kulturen in Gesellschaft anderer Mikroben auf dünn-schichtigen und besonders auf flüssigen Nährböden in scheinbar aërober Weise gedeihen. Wir müssen deshalb Beitzke vollkommen Recht geben, wenn er in seinem zusammenfassenden Berichte diesbezüglich sagt: „... ist es eine schon recht lange bekannte Tatsache, daß strenge Anaërobier in Gesellschaft anderer stark Sauerstoff bedürftiger Bakterien auch unter aëroben Verhältnissen zu gedeihen vermögen.“ Hinsichtlich der Anaërobiose wären wir demnach der Meinung, daß sozusagen alle Bakterien sowohl die fusiformen Bacillen als die Spirochäten sowie auch die Fadenbakterien zwar den anaëroben Mikroben angehören, aber zusammen oder in Gesellschaft noch anderer auch auf in aërober Weise gehal-

tenen Nährböden zu gedeihen sowie sich zu vermehren vermögen.

Nachdem wir nun in dem bisherigen in jeder Hinsicht unsere Versuche und Untersuchungen bekannt gemacht und die aus ihnen gezogenen Folgerungen am Ende der einzelnen Abschnitte besprochen haben, können wir auf die das eigentliche Objekt unserer Untersuchungen bildenden Mikroorganismen übergehen, auf ihre aus Versuchen, zum Teil dagegen aus den bisherigen Kenntnissen nach Möglichkeit festgestellten morphologisch-biologischen Eigenschaften und zwar werden wir ihre zusammenfassende Charakteristik einzeln geben.

#### *Bacillus fusiformis.*

Im menschlichen Material 6–7  $\mu$  lange, in der Mitte etwas dickere, an beiden Enden entschieden zugespitzte Bacillen, die sehr zutreffend „spindelförmige“ Bacillen genannt werden. Während sie in frischen Kulturen etwas feiner und kürzer sind als die vorigen, 3–4  $\mu$  lang (Fig. 26), sind sie im Gegenteil bei Tieren gewöhnlich den beim Menschen gefundenen ähnlich. In alten mehrtägigen Kulturen zeigt ihre Form und Größe ebenfalls einen Unterschied, indem sie viel länger werden, sogar auch 10–12  $\mu$  lang, steif und körnig sind. In dieser letzten Form stellen sie offenbar entartete Involutionsformen dar, färben sich aber zuweilen überraschend gleichmäßig; eben solche fanden wir zuweilen bei Kaninchen im Eiter von lange Zeit hindurch bestehenden Abscessen. Ein anderes Mal ist ihre Mitte sehr verdickt, fast kugelförmig aufgeblasen und ihre beiden Enden spitzen sich unvermittelt oder allmählich zu (Fig. 23). Interessant ist, daß sie im menschlichen Material sehr lange Ketten bildeten (Fig. 2) und zwar so, daß sich die einzelnen Glieder ganz getrennt entwickelten, vollkommen spindelförmigen Bacillen entsprachen und nie miteinander zu unterbrochenen Fäden mit regelmäßigem Rand verschmolzen; deshalb kann auch diese ihre Anordnung überhaupt nicht „fadeförmig“ genannt werden, sondern richtig nur „kettenförmig“. Diese Anordnung vermochten wir übrigens in Kulturen kein einziges Mal zu sehen, in Kaninchenabscessen nur selten, und auch dann bildeten höchstens 4–5 Bacillen eine kurze Kette. Im übrigen finden wir in den Berichten nur wenige Beispiele hierfür. Vincent erwähnt die kettenförmige Anordnung, auch Perthes stellt solche dar, unter den Abbildungen aus Eichmeyers Veröffentlichung gibt es eine (Taf. I, Fig. 6), in der solche fusiforme Ketten zu sehen sind, die in Längsreihen gelegene Lücken und Vakuolen besitzen. Wir müssen annehmen, daß dies tatsächlich Ketten von fusiformen Bacillen sind, obgleich er sie bei der Beschreibung immer Fäden nennt. Nachdem nun diese in mehreren seinen Kulturen ganz anders charakterisiert sind, sie werden nämlich tatsächlich meistens als Fäden beschrieben, müssen wir uns unten eingehender mit ihnen beschäftigen. Wir glauben, daß gerade in dieser Hinsicht auch mehrere Forscher irrten, indem sie unter ihren gefundenen Bakterien solche Formen beschreiben und zwar lange Fäden, die sie nicht so sehr auf Grund ihrer wirklichen und ausgeprägten Aehnlichkeit, sondern mit einer gewissen Geneigtheit zu den spindelförmigen Bacillen zählen. Auf Grund unserer Beobachtungen und der Erfahrungen anderer müssen wir erklären, daß die fusiformen Bacillen immer sehr charakteristische und infolgedessen von den anderen Bakterien schon durch ihre Gestalt scharf abgeordnete Mikroorganismen sind, deren jüngere Individuen im allgemeinen etwas kürzer sind, deren

Involutionsformen aber sehr verschieden lang sein können, die aber 15—20  $\mu$  kaum übertreffen können, während ihre spindelförmige Gestalt auch dann gut erkannt werden kann, die Färbung solcher aber ist schon ziemlich ungleichmäßig oder lückenhaft.

Hinsichtlich der Färbung der fusiformen Bacillen haben wir erfahren, daß sie mittels eines 2—3mal mit destilliertem Wasser verdünnten Karbolfuchsin am besten gefärbt werden können. Man färbt ohne Erwärmen 2—3 Minuten lang. Im allgemeinen geben sie eine genügend intensive, gleichmäßige Färbung, die fusiformen sind aber, wenn im Präparat auch andere Bacillen sind, im Verhältnis zu diesen blasser. Mit Gentionviolett, Methylenblau (Loeffler), Giemsa, Tionin gefärbte Präparate sind nicht besser als die mit Fuchsin gefärbten. Ihr Verhalten zu der Gram- oder Weigertschen Färbungsmethode variiert ziemlich. Während sich in einzelnen Präparaten die Bacillen genügend intensiv färben, erblassen sie in anderen auch bei vorsichtiger Entfärbung. Noch mehr fiel ihre variierende Färbungsweise beim Versuchsmaterial auf; so können sie in dickem Eiter nach Gram viel besser gefärbt werden als in jauchigem Exsudate; in aus Kulturen gemachten Deckglaspräparaten entfärben sie sich dagegen fast gänzlich. Verhältnismäßig am beständigsten färben sie sich nach Weigert in Schnitten. So kann also — unserer Meinung nach — die Gram- oder Weigertsche Färbung zu ihrer Unterscheidung von anderen zufälligen Fusiformen nicht sichere Aufklärung geben. Bei der von uns gebrauchten und bis zum Kochen erwärmten Färbungsflüssigkeit sahen wir zwar stark gefärbte Fusiformen, aber in den ebenso gefärbten Präparaten waren auch die Spirochäten, die sich, wie wir mit Recht behaupten können, nach Gram oder Weigert prompt entfärben, genügend dunkel gefärbt. Bei der Gram- oder Weigertschen Färbung scheinen besonders gut hervor die Körnchen und Vakuolen der Involutionsformen, die sich — wie es uns dünkt — nach dieser Methode viel besser färben als die jungen Formen; z. B. sehr starke Färbung zeigen eben jene Fusiformen, die die größten Gestaltsveränderungen aufweisen, also die sehr langen, gedehnten, dicken oder in der Mitte fast aufgeblasenen, die sich im Involutionsstadium befinden. Wir können auch noch erwähnen, daß die fusiformen Bacillen in Schnitten bei Levaditischer Silberimprägation auch blasser sind als andere Bakterien; so sind die Fäden und ihre Bacillenfragmente sowie die Kokken fast ganz schwarz, die Fusiformen dagegen mehr braun oder sogar hellbraun gefärbt, was auch die Beobachtungen Feldmanns bestärken.

Die Sporenfärbung ergab beim Fusiformen immer negativen Befund; übrigens sahen wir auch nie eine solche Gestalt, die wir für einen sporenhaltigen Bacillus halten konnten, weder in den Kulturen noch bei Tierversuchen. Ebenso nahmen wir kein einziges Mal wahr, daß der Fusiformis eine Kapsel hätte. In dieser Hinsicht stimmen die Erfahrungen sämtlicher Forscher überein, außer Hecht, der behauptet, in Fusiformen auch Sporen gesehen zu haben.

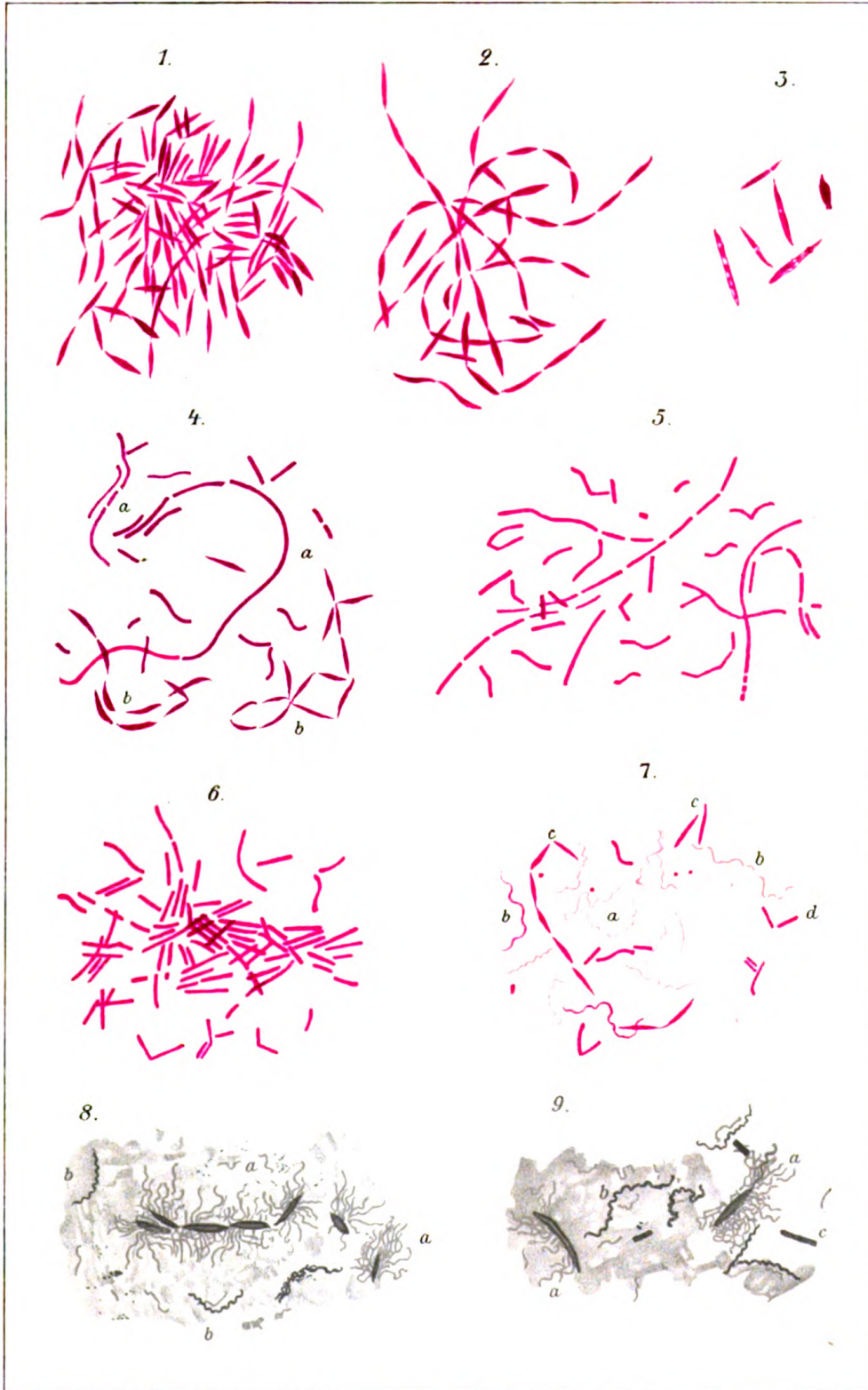
Ihr Züchtungsverhalten haben wir bei Beschreibung unserer Kulturen zur Genüge charakterisiert, und so wollen wir unter seinen biologischen Eigenschaften die Bewegungsfähigkeit ins Auge fassen und über unsere folgenden Erfahrungen berichten. Es ist uns kein einziges Mal gelungen, in menschlichem Eiter oder in Kultur und im Material der Tierversuche, weder in Nativpräparaten, noch im hängenden Tropfen, eine intensive, lebhaftere Bewegung des Fusiformen festzustellen. Jene

zweifelhafte, geringe Ortsveränderung, die zuweilen wahrnehmbar war, mußten wir immer eher für eine molekulare Bewegung halten, so daß wir unsererseits von den in unserem Falle vorgefundenen fusiformen Bacillen Eigenbewegung ganz und gar nicht voraussetzen konnten und deshalb auch die Geißelfärbung eine Zeitlang unberücksichtigt gelassen haben. Als wir aber in einem Nativpräparat, das von einer Angina ulcerosa stammte, Gelegenheit hatten, sich besonders lebhaft bewegende Fusiformen zu sehen, deren sehr rasches Vorschreiten und deren Bewegung in den verschiedensten Richtungen nur wie die der Typhusbacillus aufgefaßt werden konnte, mußten wir fast sicher annehmen, daß diese Bacillen sehr viele Geißelfäden besitzen müssen. Wir haben uns in dieser Annahme auch nicht getäuscht, denn wir gelangten nach mehreren erfolglosen Versuchen mit der Van Ermengemschen Geißelfärbung auch zu solchen Präparaten, in welchen man fast unzählbare, rings um den Bacillus geordnete Geißeln sehen konnte; bald gelang uns das auch mit der Loefflerschen Färbung, obgleich nur schwieriger und in weniger schönen Präparaten. Diese Beobachtung führte uns dann dahin, auch in dem Fall, der den Gegenstand unserer Untersuchungen bildet, die fusiformen Bacillen auf Geißeln zu prüfen. Es gelang uns dann, in ebenfalls nach Van Ermengem gefärbten Präparaten tatsächlich eine Menge solcher Bacillen zu sehen, zuweilen auch kurze Fusiformisketten, die ohne jeden Zweifel mit Geißeln versehen waren. Die Geißeln umgeben, wie dieses auch aus den ganz treuen Zeichnungen ersichtlich ist (Fig. 8 u. 9), in sehr großer Anzahl den Bacillus vollkommen, und so sehen sie in dieser Hinsicht dem Typhusbacillus sehr ähnlich. Es gelang die Geißelfärbung auch in Präparaten, die sowohl vom Menschen, als auch aus Kulturen stammten; in den ersteren auch nach Loeffler gefärbt, in den letzteren bloß nach Van Ermengem. Wir können aber erwähnen, daß auch die Van Ermengemsche Färbungsmethode nicht gerade immer entspricht, denn unter zahlreichen Präparaten trifft man zuweilen kaum 2—3, in welchen die Geißelfärbung gelungen ist, und auch noch in diesen Präparaten finden wir nur in einigen Partien tatsächlich schön gelungene Färbung. Obgleich manche eine mehr oder weniger lebhaftere Eigenbewegung gesehen haben, so Raoult und Thiry, Bernheim, Abel, Letull, vermochten sie Geißelfäden nicht zu finden. Ausschließlich Graupner erhielt bei Geißelfärbung lange wellige Gebilde, und zwar je eines an den Enden der Bacillen, je zwei aber lagen an den Seiten. Wir wollen es nicht bezweifeln, daß Graupners erwähnte Gebilde nicht Geißeln seien, aber wenn — wie wir uns im Obigen davon gründlich überzeugt haben — die Geißeln wirklich so zahlreich sind, wie wir sie in vielen Präparaten an den Bacillen sahen, dann müssen wir uns verwundern, daß Graupner sie nicht ebenso fand, sondern viel weniger, und zwar in bestimmter Anzahl und in regelmäßiger Anordnung. Die zahlreichen Geißelfäden in Betracht gezogen, kann die Eigenbewegung der fusiformen Bacillen ohne Zweifel angenommen werden. Daß trotzdem weder wir noch viele andere Forscher in Nativpräparaten ihre Eigenbewegung nicht gesehen haben, kann sehr verschiedene Ursachen haben. Möglich, daß sie in äußeren Verhältnissen, wie die Veränderung der Temperatur, das Abkühlen der Bacillen, schädliche Wirkung des flüssigen Mediums oder seine für Bewegung ungünstige Beschaffenheit, zu suchen ist, wie z. B. auch Graupner erwähnt, daß die Bewegung schon in physiologischer

Kochsalzlösung und im menschlichen Serum sehr rasch aufhört; in Leitungswasser dagegen, das scheinbar die geeignetste Flüssigkeit ist, bewegen sich die Bacillen etwa 20 Minuten lang. Auch wir sahen die aus dem Anginafall stammenden Bacillen in Leitungswasser und auch in Bouillon sehr lebhaft sich bewegen, sogar  $\frac{1}{2}$  Stunde lang, nicht aber im hängenden Tropfen, sondern bloß in Nativpräparaten, die wir zum Studieren der Bewegung und anderer biologischer Eigenschaften ganz geeignet und hinreichend gefunden haben. Namentlich wenn wir in entsprechender Weise, z. B. mit Vaseline und Wachs, das Deckgläschen noch rings umgeben. Eichmeyer hält das Abkühlen für sehr schädlich, sogar auch für die Züchtung. Aber der Grund des Nichtgelingens der Geißelfärbung kann auch im Verfahren selbst liegen, obgleich nach Baron die negativen Erfolge weniger von der Methode, als vielmehr von bisher noch unbekanntem Momenten abhängen. Wir sind auch der Meinung, daß nicht so sehr das Färbungsverfahren, als vielmehr die Vorbereitung der Präparate zur Färbung oft der Grund des negativen Resultates ist. Wenn wir nämlich die Deckglaspräparate aus fibrinösen oder aus eiterigen Produkten herstellen, bringen wir immer, wenn auch — was übrigens ebenfalls nicht erwünscht ist — die Bacillen in großer Menge vorhanden sind, eine große Menge Eiweiß und Eiterzellen auf das Präparat; aus Abscessen oder aus gangränösen Prozessen gelangt so viel gerinnende Substanz beim Fixieren auf das Präparat, daß dieser Umstand an sich die Geißelfärbung — unserer Meinung nach — verhindern kann. Dagegen können wir in Präparaten, wo wir mit dem Wasser — Leitungswasser — das stark verdünnte Material auf ein gut gereinigtes Deckglas gleichmäßig und in sehr feiner Schicht auftragen, sicher mehr Erfolg erwarten. Wir haben sowohl das vom Menschen stammende Material, wie auch die Kulturen mit verhältnismäßig zerrieben und schreiben es gerade diesem Umstande zu, daß wir zu relativ so schönen und gut differenzierten Präparaten gelangt sind. (Wir wissen wohl, daß auch bei den Bakterien, die bekannterweise Geißeln besitzen, bei der Geißelfärbung ein sehr sorgfältiges und vorsichtiges Verfahren beansprucht wird, und wir müssen besonders darauf achten, daß das Präparat frei von eiweißartigen oder beim Erhitzen einen Niederschlag gebenden Flüssigkeiten sei, weshalb auch die mit Wasser verdünnten und auf schrägem Agar gezüchteten Kulturen geeigneter sind.) Jedenfalls wäre es interessant und bezüglich der Naturgeschichte des Fusiformen wichtig, die bei verschiedenen Erkrankungen vorgefundenen Bacillen in dieser Hinsicht zum Objekt einer systematischen Untersuchung zu machen.

Nach diesem taucht die Frage auf, mit welchen die in anderen Fällen beobachteten, von uns beschriebenen Fusiformen identisch seien, ferner ob auf Grund unserer bisherigen Untersuchungen zwischen den bei verschiedenen pathologischen Prozessen figurierenden fusiformen Bacillen solche bestimmte und beständige Unterschiede festgestellt werden können, auf Grund deren es begründet wäre, verschiedene und verschiedenen Arten angehörige fusiforme Bacillen anzunehmen?

Der überwiegende Teil der Berichte beschäftigt sich mit jenen besonderen Arten der Angina bzw. mit ihrer Bakteriologie, welche sie mit den fusiformen Bacillen und den Spirochäten in ätiologischen Zusammenhang bringen. Es ist ganz natürlich, daß es vollkommen begründet ist, die bei nämllichem Krankheitsbild und bei nämllichem bak-



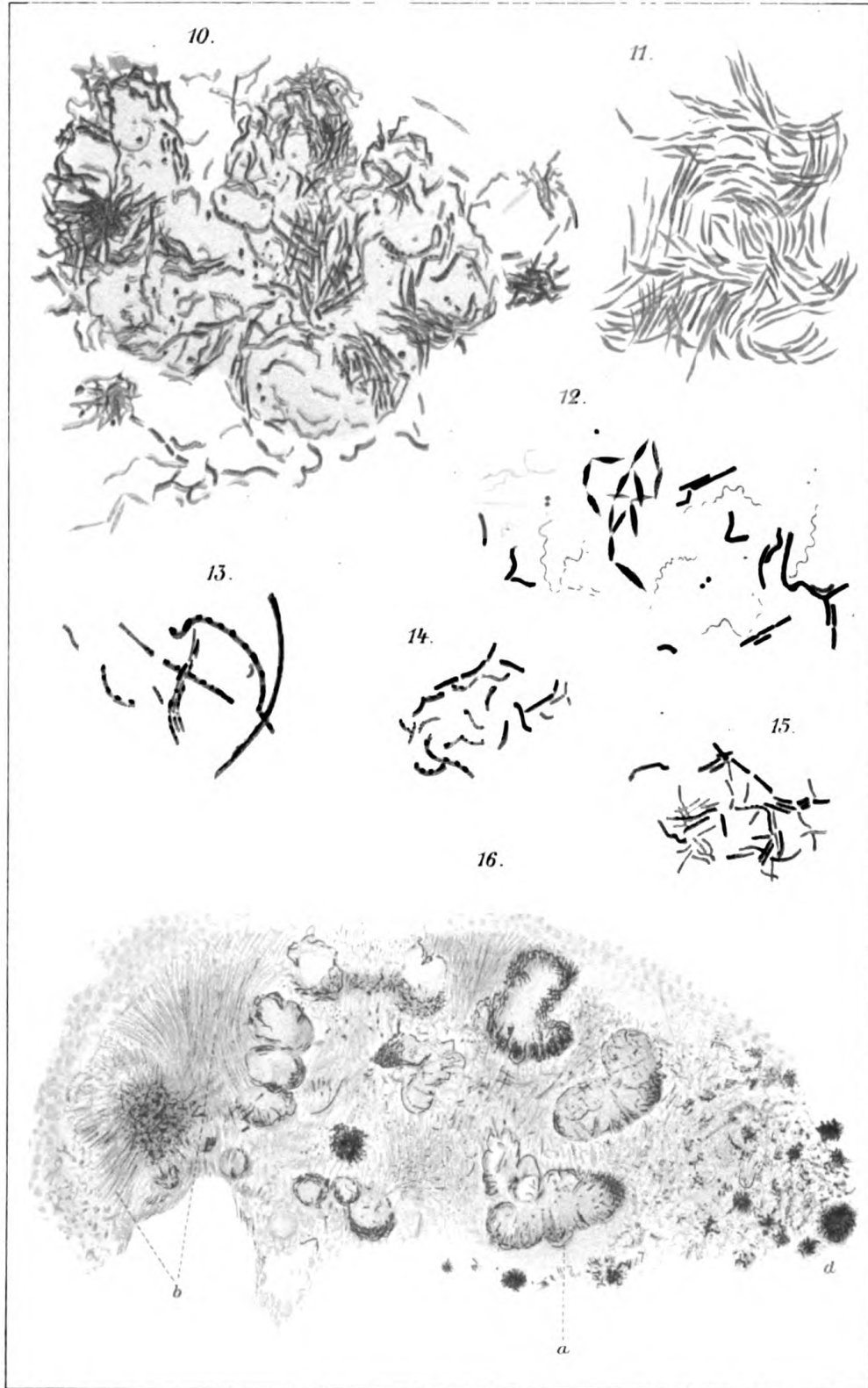
Veszpréni gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.





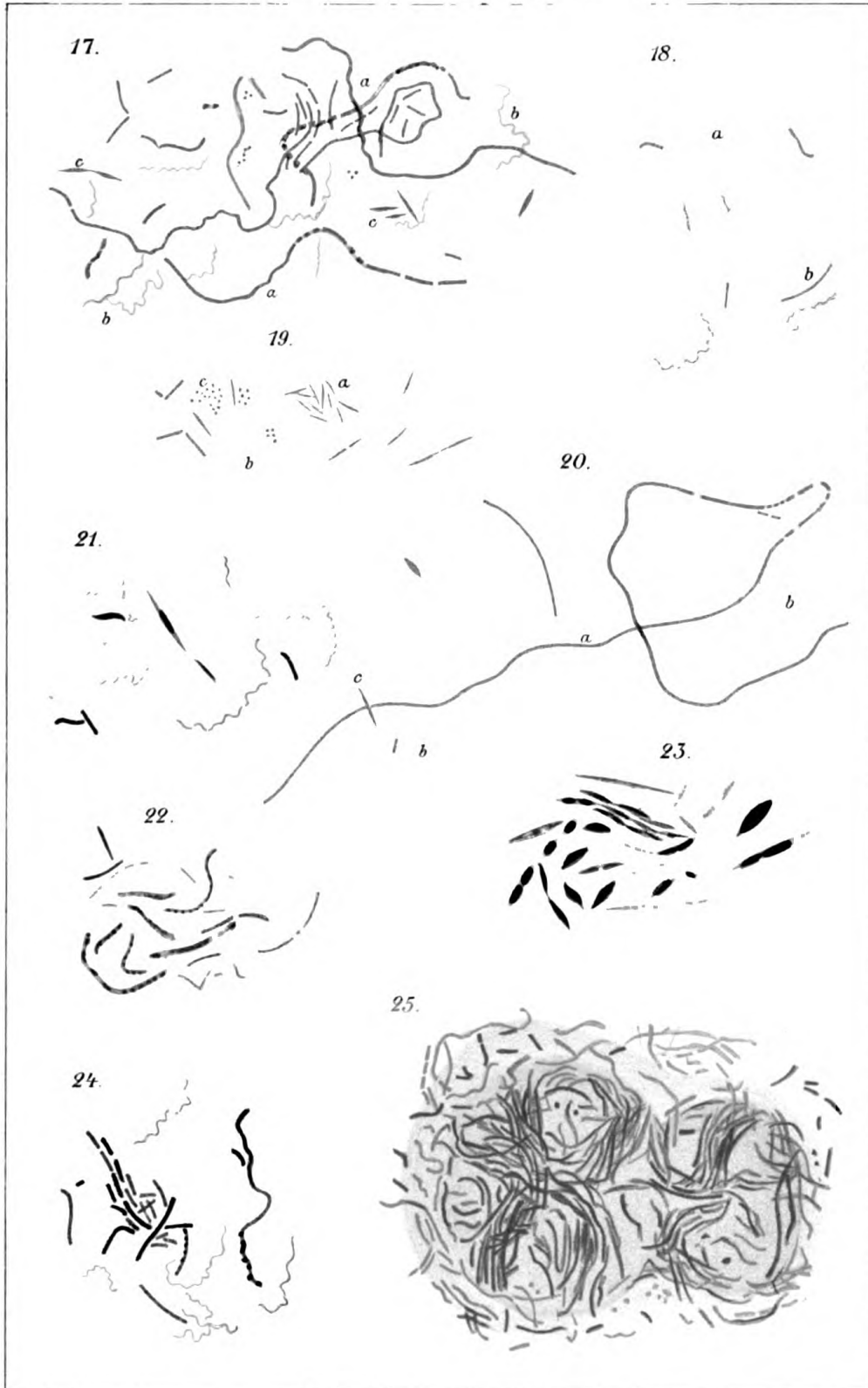


Veszprémi gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



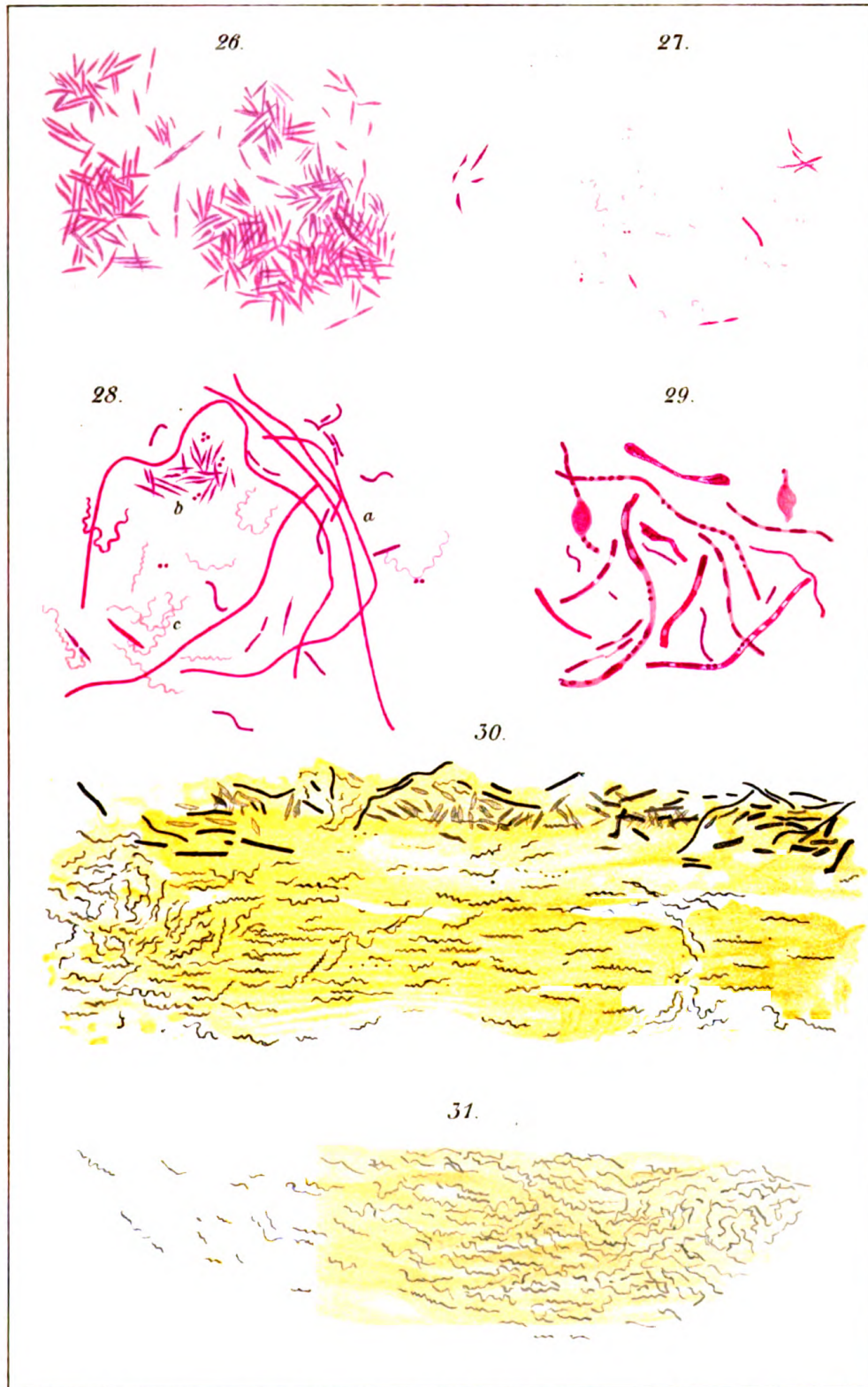


Veszpréni gez

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith Anst v Johannes Arndt, Jena.





Veszprémi gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



teriologischen Befund in diesen Fällen gefundenen Fusiformen als die nämlichen bezw. als ein und derselben Art angehörig anzusehen. Aber alle diese Fälle müssen als Infektionen von der Mundhöhle aus betrachtet werden, und eben denselben Ursprung haben auch jene eiterigen oder nekrotischen Krankheiten der Mundhöhle, des Rachens, der Tonsillen, des Oesophagus, sowie der Gesichtsknochenhöhlen etc., bei welchen ebenfalls fusiforme Bacillen für sich allein oder doch in vorherrschender Zahl gefunden worden sind. Heute schon ist es eine allgemein anerkannte Tatsache, daß der *Fusiformis*-Bacillus eine beständige Form der Mundbakterien ist. Nachdem aber auch unser Fall auf eine Infektion, die wohl von der Mundhöhle ausgegangen ist, zurückzuführen ist, haben wir gar keinen Grund, unsere Fusiformen für eine andere Art zu halten, als wir in den eben erwähnten Fällen gefunden haben. Nur dann könnte ein Zweifel entstehen, wenn wir annehmen könnten, daß auch in der Mundhöhle verschiedenartige fusiforme Bacillen gediehen sind.

Die zufälligen Verschiedenheiten müssen unserer Meinung nach gesucht werden: 1) in der Form — richtiger in der Größe; 2) in den Färbungsverhältnissen; 3) in ihren biologischen Eigenschaften und schließlich 4) in der Beschaffenheit der von ihnen verursachten oder hervorrufbaren pathologischen Veränderungen. (Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## *Spirillum giganteum* und *Spirochaete balbianii*.

[Aus dem kgl. Institut für Infektionskrankheiten, Berlin.]

Von Dr. Ad. Hölling.

In den *Compt. rend. hebdomadaires des séances de la Soc. de Biol. T. LXII. 1907. p. 213* berichtet Herr Swellengrebel von seinen Beobachtungen über *Spirillum giganteum* (Migula) [Syn. *Spirillum volutans* (Kutscher)]. Er hat hier ganz ähnliche Verhältnisse vorgefunden hinsichtlich Bau, Kern und Teilung, wie er sie schon früher für *Bac. maximus* beschrieben hat. Gegen Ende seiner Erörterungen zieht er die *Spirochaete balbianii* (Certes) in den Kreis seiner Erörterungen; er vergleicht sie mit *Spirillum giganteum* als einem sehr artähnlichen Organismus, und spricht schließlich in Anlehnung an Laverans und Mesnils Auffassung die Ansicht aus, die *Spirochaete balbianii* sei ebenso wie das *Spirillum giganteum* zu den Bakterien zu rechnen.

Meine eigenen, auf Anregung und unter Leitung des Herrn Privatdozenten Dr. Hartmann angestellten Untersuchungen über dieselben Objekte, wie sie Swellengrebel studiert hat, haben mich zu ganz anderen, fast entgegengesetzten Resultaten geführt.

Bei Beschreibung des *S. giganteum* spricht Swellengrebel zuerst von einem Chromatinfaden, der spiralenförmig in der Zellperipherie verlaufe und lebend wie gefärbt sichtbar sei: Dieser Faden zerfalle bisweilen in achromatische Stellen und Chromatinkörner und teile sich sodann in der Längsrichtung, ebenso wie der *Bac. maximus*. Der Faden bestehe wohl mit Sicherheit aus Kernsubstanz.

Was die Chromatinspirale betrifft, wie sie Swellengrebel hier beschreibt, so habe ich unter normalen Umständen davon weder in lebenden, noch auch in gefärbten, einwandfreien Präparaten etwas entdecken können. Mir sind auch aus der Literatur Angaben über ähnliche Beobachtungen nicht bekannt geworden, obgleich an Arbeiten über *S. giganteum* kein Mangel ist.

Was ich in Giemsa-Ausstrichen eintägiger Kulturen erblicken konnte, war ein deutlich ausgeprägtes, zart blaues, alveoläres Plasma und darin zerstreut viele rote, kleine Körnchen, die der Zellperipherie angelagert waren. Die entsprechenden, nach Heidenhains Eisenhämatoxylinmethode behandelten Präparate ergaben gleichfalls schaumartiges Plasma mit eingelagerten schwarzen Körnchen. Bei der Untersuchung im Leben zeigte sich wieder dasselbe Bild: deutlich alveoläres Plasma und darin kleine, stark lichtbrechende Körner.

In den folgenden Tagen war das Bild der älter werdenden Kulturen insofern verschoben, als die Körnchen in geringerer Anzahl, aber um ein bedeutendes größer in den Zellen auftraten, bisweilen schon in Gestalt von Kugeln mit deutlich sichtbarer Membran.

Diese Vorgänge innerhalb der Zellen in ihren stets wechselnden Stadien sind von mir eingehend studiert; ihre Deutung und Erklärung möchte ich mir aber für eine spätere ausführliche Veröffentlichung über *S. giganteum* vorbehalten. Es sei gesagt, daß man bei Beobachtung der verschiedenen Phasen, welche die Körner durchmachen, den unabweisbaren Eindruck gewinnt, daß es sich bei ihnen um für das Leben und die Fortpflanzung der Zelle wichtige Faktoren handelt.

Um noch einmal auf die Chromatinspirale Swellengrebels zurückzukommen, so kann man im Leben, in Giemsa- oder Heidenhain-Präparaten Entsprechendes zu Gesicht bekommen, auch die achromatischen Stellen und die Chromatinkörner, wie Swellengrebel es beschreibt, sind zu sehen, überhaupt ganz ähnliche Kernbilder, um es gleich hier zu sagen, wie sie die *Sp. balbianii* aufweist, aber nur, wenn man zum Gegenstand der Untersuchung Präparate nimmt von älteren Bouillon- oder Agarkulturen, die einem frühzeitigen Alterszerfall oder infolge unkontrollierbarer Veränderung des Mediums einer dauernden Plasmolyse anheimgefallen sind. Diese Bilder sind meines Erachtens so zu deuten, daß die feste Membran den Zellen durchweg die äußere Form unverändert erhalten hat, das stark lädierte Plasma aber, in dem die Chromatinkörner sich vielleicht aufgelöst haben, in allen nur möglichen Zerfallsformen, die jede Deutung gestatten, im Zellinnern zerstreut liegt. Kulturen dieser Art sind schwer überzuimpfen, im Gegensatz zu den ganz gesunden, normalen Kulturen, die noch nach 5 Monaten sehr gut wuchsen.

Ich halte es für wahrscheinlich, daß Swellengrebel eine Kultur in Händen hatte, die infolge ihres Alters vielleicht (sie stammte aus der Sammlung Král) oder aus sonstigen Gründen besonders schnell zu Plasmolyse neigte, und daß er infolgedessen für *S. giganteum*, als das Normale, beschrieb, was in Wirklichkeit nur an degenerierenden Zellen zu beobachten ist. Was die Kultur anbelangt, mit der ich arbeitete, so habe ich dieselbe eigens frisch aus Jauche gezüchtet.

Wie zur Bestätigung meiner hier ausgesprochenen Ansicht spricht Swellengrebel weiter unten von einer periplastischen Kappe und ausgehend von ihr, von einem periplastischen Appendix, einem einer undulierenden Membran ähnlichen Gebilde. Zum Beweise, daß diese



Bilder nicht durch Plasmolyse entstanden sein können, führt er an, daß man sie auch im Leben beobachten könne.

Es handelt sich aber hier wie dort eben wohl um Plasmolyse, eine Plasmolyse, die man sehr wohl im Leben beobachten kann (und zwar, wie bereits oben gesagt, bei bestimmten älteren Kulturen), weil sie ein dauerndes Merkmal bestimmter älterer Kulturen ist.

Ich habe sowohl die „periplastischen Kappen“, als auch den „periplastischen Appendix“ gesehen. Ich halte es aber für sicher, daß es sich bei diesen Gebilden um Zellveränderungen, durch Plasmolyse hervorgerufen, handelt, weil sich alle Stadien vorfinden von der leisesten Abhebung der Membran oder richtiger der leisesten Retraktion des Plasmas bis zu den ungeheuerlichsten Verunstaltungen, wo nur noch dunkle Plasmabrocken in den als leere Schläuche imponierenden Zellen liegen. So habe ich die Kappe beobachtet an einem oder an beiden Enden der Zelle; oft war alsdann das mehr homogene Plasma an den geschrumpften Stellen dunkler gefärbt; ich habe den periplastischen Appendix schmaler oder breiter gesehen, je nachdem sich das Plasma mehr oder weniger von der Membran zurückgezogen hatte. Ich habe das Plasma gesehen als einen dünnen Stab und darum, wie eine Schlange gewunden, die Zellperipherie. Es würde zu weit führen, wenn ich alle Phasen beschreiben wollte; alle hier angedeuteten Uebergänge werden in der ausführlichen Arbeit durch eine Reihe von Abbildungen illustriert werden. Noch einmal möchte ich als besonders wichtig betonen, daß alle diese Bilder nur zustande kommen durch die allen Einflüssen trotzbare, formbeständige, feste, äußere Membran.

Als Teilungsmodus beschreibt Swellengrebel eine Querteilung, die ähnlich vor sich geht, wie bei den Spirochäten: Bildung einer dünneren, plasmatischen Zwischenschicht, die sich in einen immer dünner werdenden Faden auszieht und endlich zerreißt. Diese Form der Querteilung ist für die Spirochäten von vielen Forschern so beobachtet, verlangt aber eine andere Deutung, da sich in letzter Zeit die Angaben mehren über sicher beobachtete Längsteilungen bei Spirochäten (*Sp. balbianii* Perrin, *Sp. anadontae* Kaysselitz, *Sp. pallida* Schaudinn), wobei die Mutterzelle sich der Länge nach spaltet, jedoch so, daß die Tochterzellen noch in einem dünnen Zusammenhang bleiben. Diese drehen sich nun etwa um einen Winkel von 180°, bis sie ungefähr eine Linie bilden, und zerreißen endlich an ihrer dünnsten, scheinbar lang ausgezogenen Stelle, wodurch, bekommt man nur diese letzte Phase zu Gesicht, eine Querteilung vorgetäuscht wird.

Bei *S. giganteum* findet man übrigens von den hier angedeuteten Vorgängen nichts. In meinen speziell auf Membran nach der Zettnowschen Silbermethode gefärbten Präparaten konnte ich in voller Uebereinstimmung mit Ellis beobachten: Auftreten eines leichten, quergestellten Schattens an der Teilungsstelle, Einschnürung, Tailenbildung und schließlich vollendete Teilung, wo die Schwesterzellen noch immer in Form eines in der Mitte durchgeteilten S aneinander lagen. Im Leben habe ich auch Gelegenheit gehabt, Querteilung zu sehen, die blitzschnell vor sich ging.

Was Swellengrebel über Geißeln sagt, stimmt mit meinen Beobachtungen überein; dann aber heißt es: „Die degenerierenden Zellen enthalten oft Kugeln von alveolärer Struktur, umgeben von einer Membran.“ Diese Kugeln habe ich in älteren Kulturen genau in der angegebenen Weise beobachtet, ich halte sie aber nicht für Degenerations-

formen, sofern man nicht Alter und Degeneration gleichstellen will, es scheinen vielmehr physiologisch äußerst wichtige Kernformationen zu sein, die, wenn man sie auch nicht als Dauerformen im Sinne von Sporen auffassen will, doch von höchster Wichtigkeit für die Erhaltung der Organismen sind. Mit den Plasmakugeln, wie sie Perrin für *Sp. balbianii* und Prowazek für die Hühnerspirochäten beschrieben hat, und die dort vielleicht eine Art Cystenbildung nach gewissen, uns noch unbekanntem geschlechtlichen Vorgängen bedeuten, haben sie auf jeden Fall nichts zu tun. Die Unterschiede zwischen beiden sind so klar und offenkundig, daß es ganz unverständlich bleibt, wie Swellengrebel zwei in der Art ihrer Entstehung und Form so differente Gebilde zur Stütze seiner Theorie von der Artgleichheit von *Spirochaete* und *Spirillum* heranziehen kann.

Swellengrebel behauptet: die *Sp. balbianii* zeige dieselbe Kernstruktur wie *S. giganteum* und beruft sich hierbei auf Perrin. Da schon oben nachgewiesen wurde, daß die von Swellengrebel für *S. giganteum* angegebene Kernstruktur etwas Anormales darstellt, so erledigt sich diese Behauptung aus dem bereits Gesagten, wenn ich noch hinzufüge, daß ich die Perrinschen Angaben über die Kernstruktur bei *Sp. balbianii* voll bestätigen kann. Weiter hat aber Perrin im Gefolge komplizierter und charakteristischer Kernveränderungen im Leben, wie im gefärbten Präparat eine unzweifelhafte Längsteilung nachgewiesen. Hier nimmt nun Swellengrebel, ohne plausible Gründe dafür anzugeben, eine Querteilung an, wahrscheinlich nur, um die beiden Organismen wieder miteinander vergleichen zu können. Das Kühnste ist jedoch die Deutung der undulierenden Membran von *Sp. balbianii*, die gerade bei dieser Spirochäte im Leben, wie im gefärbten Präparat mit aller Deutlichkeit beobachtet werden kann, und die in jeder Beziehung mit dem entsprechenden Organ bei den Trypanosomen übereinstimmt; es scheint kühn, diese undulierende Membran als gleichwertig mit dem „Appendix periplastique“ von *S. giganteum* hinzustellen, der zwar in manchen Präparaten eine gewisse oberflächliche Ähnlichkeit aufweisen kann, jedoch nach dem Gesagten auch etwas Anormales darstellt und vollkommen anders zu deuten ist, nämlich als Plasmolyse.

Hiermit kann wohl der Versuch, die *Sp. balbianii*, die ihren ersten Beobachtern sogar als *Trypanosoma* imponierte, unter die Bakterien einzureihen, als gescheitert betrachtet werden.

Ich fasse also die Ergebnisse meiner Beobachtungen dahin zusammen, daß die *Sp. balbianii* nach wie vor als ein Protozoon anzusehen ist und infolgedessen Beziehungen zwischen *Sp. balbianii* und *S. giganteum* im Sinne Swellengrebels nicht vorhanden sind.

*Nachdruck verboten.*

## Beiträge zur Biologie normaler Tiersera.

[Aus der Universitäts-Augenklinik zu Würzburg.]

Von **Paul Rissling**, Tierarzt, Cöln.

(Schluß.)

### C. Hämolyse des normalen Tierserums.

Die Untersuchungen auf dem Gebiete der Hämolyse, über welche in den letzten Jahren, ausgehend von den Abhandlungen von Bordet (132) und Ehrlich und Morgenroth (138), eine umfangreiche Literatur entstand, beschäftigen sich in der überwiegenden Mehrzahl mit der hämolytischen Wirkung der Immunsera. Es ist das Verdienst Ehrlichs und Morgenroths, die bei den künstlich erzeugten Hämolytinen gewonnenen Erfahrungen auf das Studium der normalen Serumhämolyse übertragen zu haben. Daß die normalen Sera vieler Tiere imstande sind, die roten Blutkörperchen fremder Tierspecies aufzulösen, wissen wir schon aus den Untersuchungen von Creite (136), Panum (151) und Landois (144) über die Transfusion von Blut anderer Tierspecies.

Eine bedeutende Erweiterung erfuhren diese Untersuchungen nun später durch Daremberg (137), Buchner (133) und seine Schüler, die in dem Blutserum ein spezifisch auf fremde Blutarten globulid wirkendes Agens erkannten, und die auch nachweisen konnten, daß dieses Agens, d. h. die hämolytische Fähigkeit der normalen Sera, durch mäßiges Erwärmen zerstört wird.

Durch die zahlreichen Versuche wurde weiter das Studium über Hämolyse in bedeutendem Maße angeregt und deren Kenntnis vertieft, aber trotzdem stimmen die Ansichten der einzelnen Forscher über den Mechanismus der Hämolyse nicht überein. Ein näheres Eingehen auf diese Verhältnisse würde den Rahmen meiner Arbeit weit überschreiten. Mir schien es vor allem angezeigt, an möglichst vielen Blutarten das gegenseitige Verhalten bezüglich der hämolytischen Wirkung ihrer Sera zu untersuchen.

Es liegen bereits einige systematische Untersuchungen über diese Hämolyse der normalen Tiersera vor, jedoch handelt es sich bei diesen Versuchen meist nur um wenige Tiere, und vor allem sind die Ergebnisse der Autoren wegen der verschieden angewandten Untersuchungsmethoden nicht ohne weiteres vergleichbar. Andererseits finden sich Angaben über hämolytische Wirkung normaler Sera oft nur bei den Untersuchungen von Immunsereis gemacht, so daß es mir eine dankbare Aufgabe schien, diese einzelnen Angaben zusammenzustellen und andererseits auch selbst systematische Untersuchungen über Hämolyse an einer großen Anzahl von verschiedenen Tierbluten vorzunehmen.

Meine Versuche erstrecken sich auf die hämolytische Wirkung der normalen Sera von Pferd, Rind, Schaf, Schwein, Kaninchen, Gans, Huhn, Ente und Taube auf 10 verschiedene Blutarten.

Bei der Uebersicht der zu diesen Versuchen gehörenden Literatur habe ich nun folgende Anordnung getroffen: Ich habe die Befunde für die einzelnen Sera zusammengestellt, habe aber diesem Abschnitt einen

Ueberblick über die Methoden vorausgeschickt, nach denen die meisten Forscher ihre Resultate erhalten haben, da sich sonst eine stete Wiederholung derselben notwendig gemacht haben würde.

Die Auflösung roter Blutkörperchen im Serum anderer Blutarten, das „Lackfarbenwerden“ des Blutes hatte Landois (144) schon im Jahre 1875 beobachtet. Bei seinen Untersuchungen über die Lösungsfähigkeit einiger Seraarten auf verschiedene Blutkörperchen verfuhr er meist in der Weise, daß er in einem Reagenzglase etwa 4—5 ccm völlig klaren, nicht blutigen Serums der einen Art einfüllte, sodann mit einem Glasstabe frisches, defibriniertes Blut so viel einmischte, daß die Mischung vollständig undurchsichtig wurde. Diese Mischung ließ er bei Zimmertemperatur stehen und beobachtete, wann zuerst eine Lösung der Zellen eintrat.

Buchner (134) stellte diesbezügliche Untersuchungen mit Hunde-, Kaninchen- und Meerschweinchenblut an. Zu diesem Behufe wurden gleiche Volumina Serum und Blutkörperchencruor in einem Reagenzglase gemischt und entweder bis 4 Stunden im Thermostaten oder bis 18 Stunden bei Zimmertemperatur zur Beobachtung stehen gelassen.

Dieselbe Technik hat auch Hoerber (143), der seine Untersuchungen auf Pferd, Rind, Schaf, Schwein, Hund, Kaninchen und Katze ausdehnte, angewandt.

Gürber (140), welcher die Hoeberschen Versuche wiederholt und zum Teil auch auf Menschenblut noch ausgedehnt hat, hat sich auch sonst an die Buchnersche Methode gehalten, doch hat er statt gleicher Volumina Serum und Cruor nur mehr  $\frac{1}{4}$  Volumen Cruor zu 1 Volumen Serum verwendet, da ihm bei den von Hoerber veröffentlichten Versuchen der hohe Serumgehalt des Körperchencruor zu wenig berücksichtigt worden sei. Jedoch hat diese Abänderung an seinen Versuchsergebnissen nichts geändert, höchstens waren die Befunde an den einzelnen Proben wegen der relativ größeren Mengen wirksamen Serums deutlicher.

Später verwendeten nun die Untersucher zu ihren Versuchen 5-proz. Kochsalzaufschwemmungen der verschiedenen Blutarten.

So mischten Hahn und Trommsdorf (141) je 2 ccm Serum, Kochsalzlösung und 5-proz. Blutaufschwemmung und beobachteten, innerhalb welcher Zeit eine beginnende resp. vollständige Lösung erfolgte.

Genauer quantitativ gingen nun Pfeiffer (152), Ottolenghi und Mori (150), Hess und Römer (142), Lüdke (145) u. A. vor, indem sie die hämolytische Wirkung fallender Serumengen auf 1 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung prüften und dabei die durch den verschiedenen Serumzusatz bedingten Unterschiede in der gesamten Flüssigkeitsmenge durch Hinzufügen entsprechender Mengen von Kochsalzlösung auszugleichen suchten. Die Röhrchen kamen auf 2 Stunden in den Thermostaten, dann wurden sie auf 20 Stunden bei 0° C gehalten, worauf die Ablesung des Resultates erfolgte. Diese letzte Untersuchungsmethode, welche sich in der Immunforschung allgemein eingebürgert hat, habe ich auch bei meinen folgenden Untersuchungen benutzt.

### Welches waren nun die Resultate der verschiedenen Untersuchungen?

Schon Landois (144) hatte gefunden, daß normales **Pferdeserum** fast gar keine hämolytische Wirkung auf die roten Blutkörperchen anderer Säugetiere ausübt, selbst die sonst so leicht zerstörbaren Blutzellen vom Meerschweinchen zeigten im Pferdeserum erst nach 20 Stunden „vollendete Lackfarbe“. Bei ihren experimentellen Untersuchungen über Antikörper gegen Netzhautelemente sahen Hess und Römer (142) eine komplette Lösung der Kaninchenblutkörperchen bei einem Serumzusatz von 0,3 ccm. An einer anderen Stelle, wo er auch den nicht unerheblich schwankenden Hämolysingehalt normaler Sera betont, gibt Römer (153) an, daß Kaninchenblutzellen erst bei 0,5 ccm Serumzusatz komplett gelöst seien, während Meerschweinchenblut nur eine teilweise Hämolyse gezeigt habe. Bei zahlreichen Untersuchungen haben Morgenroth und Sachs (147) gefunden, daß normales Pferdeserum in der Regel nur sehr geringe hämolytische Wirkungen ausübt; Hammel-, Ochsen-, Gänseblut u. a. werden nach ihrer Kenntnis vom normalen Pferdeserum überhaupt nicht gelöst, während in Bezug auf Kaninchen- und Meerschweinchenblut eine außerordentlich starke Variabilität besteht, indem manche Pferdesera eine nicht unbedeutende hämolytische Wirkung auf eine dieser Blutarten oder auch auf beide ausüben, andere wieder völlig unwirksam sind. Aber nicht nur die Sera verschiedener Pferde verhielten sich in dieser Hinsicht ganz different, sondern sie konnten auch beobachten, wie sehr die hämolytische Fähigkeit des Serums eines Individuums wechseln kann. Es löste z. B. das Serum eines Pferdes Meerschweinchenblutkörperchen nicht; im Laufe von 3 Tagen war es jedoch für dieselben stark hämolytisch geworden (1,5 ccm Serum = komplette Lösung), ohne seine schwache hämolytische Eigenschaft für Kaninchenblutkörperchen (2,0 ccm Serum = Spuren Lösung) zu ändern; dagegen hatte es nach ungefähr 3 Wochen geradezu eine Umkehrung seiner hämolytischen Fähigkeiten erfahren, indem es Meerschweinchenblut wieder nicht mehr, dagegen Kaninchenblut, das früher nur sehr wenig beeinflußt wurde, sehr stark löste (0,6 ccm Serum = komplette Lösung).

Nach Gürbers und Hoebbers Angaben wurden die Blutkörperchen von Kaninchen, Meerschweinchen, Schaf, Schwein und Rind nicht gelöst.

Nach den von Buchner (134), Ehrlich und Sachs (139), und Shibayama (156) mitgeteilten Befunden löst **Rinderserum** die Meerschweinchenblutkörperchen; letzterer sah dasselbe auch bei Kaninchenblutkörperchen. Stern (157) konnte diese Angaben bestätigen und zwar war nach ihm die Wirkung auf Meerschweinchenblut sehr intensiv und 5mal stärker als die auf Kaninchenblut. Nach Pfeiffer (152) wurden bei 0,03 ccm Serumzusatz die Blutkörperchen von Kaninchen und Meerschweinchen gelöst. Andererseits fanden Ottolenghi und Mori (150) eine vollständige Lösung des Meerschweinchenblutes bei Zusatz von 0,1 ccm, Hess und Römer (142) schon bei Zusatz von 0,03 ccm Serum; in einem anderen Falle bedurfte es nach Römers Angaben (153) 0,08 ccm Serum zur kompletten Hämolyse. Kaninchenblut dagegen wurde nach Ottolenghi und Mori (150) bei Zusatz von 0,5 ccm, nach Hess und Römer schon bei Zusatz von 0,2 ccm und endlich nach Römer sogar schon bei Zusatz von 0,1 ccm Serum vollständig gelöst. Gürber (140) fand die hämolytische Wirkung auf die Blutzellen vom Kaninchen und Pferd stark, auf die vom Menschen etwas

geringer ausgeprägt. Endlich sah Landois (121) im normalen Rind- und Kälberserum eine Lösung des Kaninchen- und Meerschweinchenblutes innerhalb  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde, während Menschenblut erst nach Verlauf von 1 Stunde zerstört wurde. Schafzellen zeigten selbst nach 2 Tagen kaum Neigung zur Lösung, und Schweineblutzellen wurden überhaupt nicht verändert. Keine Lösung sahen Gürber und Landois beim Schaf- und Schweineblut und Pfeiffer bei der Taube.

Normales Schafserum löst Meerschweinchenblut (Buchner [135]); Pfeiffer (152) sah diese Lösung in Spuren, während Stern (157) das Schafserum auf Meerschweinchenblut ca. 5mal mehr hämolytisch wirksam fand als auf Kaninchenblut, das nur in Spuren gelöst wurde. Dagegen sah Gürber (149) beim Kaninchenblut und auch beim Pferdeblut einen starken Hämoglobinaustritt. Landois (144) gibt an, daß normales Schafserum die Blutzellen vom Kaninchen und Meerschweinchen in etwa 1 Stunde auflöst; Menschenblutzellen zeigen Anfang von Hämolyse erst nach 7 Stunden und sind selbst nach 22 Stunden noch nicht vollständig gelöst; dasselbe fand Römer (153) bei 0,5 ccm Serumzusatz. Weiter berichtet Sachs (154) über eine komplette Lösung des Meerschweinchenblutes bei Zusatz von 0,5 ccm, die Römer (153) schon bei Zusatz von 0,1 ccm Schafserum fand. Weiter sahen Hess und Römer (142) eine komplette Hämolyse des Kaninchenblutes bei Zusatz von 0,3 ccm Schafserum, während Pferdeblut bei Zusatz von 0,5 ccm nur eine teilweise Lösung zeigte.

Nicht geschädigt wurden durch Schafserum die Blutzellen von Mensch, Rind, Schwein (Gürber), ferner die vom Pferd, Rind (Hahn und Trommsdorf), weiter die des Kalbes (Landois) und endlich die der Taube (Pfeiffer).

Nach den Angaben Gürbers (149) löst normales Schweineserum die Blutzellen des Kaninchens und des Pferdes. Landois (144) gibt für die Auflösung des Meerschweinchenblutes die Zeit von 2 Stunden an. Ueber 2 Stunden bedarf es zur Auflösung des Schafblutes; 8—9 Stunden können Kaninchenblutkörperchen und noch länger die Blutzellen des Menschen bis zur vollständigen Lösung im Schweineserum verbleiben. Hess und Römer (142) berichten, daß 0,2 ccm Schweineserum die Blutzellen des Schafes, 0,3 ccm die des Kaninchens und Meerschweinchens und erst 0,4 ccm die des Rindes vollständig aufzulösen vermochten.

Bei anderen Versuchen ermittelte Römer (153), daß schon 0,05 ccm Schweineserum die Blutzellen des Schafes, 0,5 ccm die des Kaninchens und 0,2 ccm die des Meerschweinchens komplett lösten.

Keine Lösungskraft zeigte normales Schweineserum für die Blutkörperchen von Mensch, Rind, Schaf (Gürber) und Kalb (Landois).

Nach den Angaben von Ehrlich und Morgenroth (138), Buchner (135) und Lüdke (145) ist die hämolytische Wirkung des normalen Kaninchenserums bei differenten Tieren verschieden stark ausgeprägt; bisweilen bewirken erhöhte Zusatzdosen vom Serum eine Spur von Lösung des Meerschweinchenblutes, in anderen Fällen wurde dasselbe dagegen durch geringe Serumquantitäten zur vollständigen Hämolyse gebracht. Lüdke gibt an, daß frisches normales Kaninchenserum in Mengen von 0,3—0,5 ccm 1 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung von Meerschweinchenblutzellen fast vollständig zur Lösung brachte, während Hess und Römer eine komplette Hämolyse schon bei 0,2 ccm Serumzusatz konstatieren konnten. Beim Hammelblut konnten die letztgenannten Autoren bei 0,5 ccm Serumzusatz wohl eine deutliche Lösung

sehen, jedoch war dieselbe nicht vollständig. Sachs (154) dagegen sah Hammelblut schon durch 0,2 ccm Kaninchenserum komplett gelöst, während Lüdke (145) angibt, daß 6 Tropfen Kaninchenblutserum, zu 1 ccm einer 5-proz. Ochsen- und Hammelblutaufschwemmung zugesetzt, keine Hämolyse bewirkten. Andererseits fanden Neisser und Döring (149) sowie Lüdke (145) eine starke hämolytische Wirkung auf Menschenblutzellen. Landois (144) gibt an, daß Meerschweinchenblut erst bis 11 Stunden, Menschenblut erst über 11 Stunden, Kalb- und Hammelblut erst über 18 Stunden ihren Blutfarbstoff verloren. Weiter konnte auch Buchner (135) die schwere Lösbarkeit des Rinderblutes im Kaninchenserum dartun, auch Morgenroth (146) fand bei 0,5 ccm Serumzusatz keine Lösung von Rinderblut. Von den Geflügelblutarten sahen Ottolenghi und Mori (150) beim Hühnerblut eine vollständige Lösung bei Zusatz von 0,5 ccm Serum; Taubenblut wurde erst bei Zusatz von 1,0 ccm Serum fast vollständig zur Lösung gebracht. Nicht gelöst wurden nach Gürbers Untersuchungen durch Kaninchenserum Menschen-, Rinder-, Pferde-, Schaf- und Schweineblut.

Im normalen Entenserum fand sich, wie Müller (148) bei seinen Untersuchungen nachweisen konnte, eine weit größere blutlösende Kraft als bei den meisten anderen normalen Seris, da sich das Entenserum z. B. in Dosen von wenigen Hunderten von Kubikcentimetern wirksam zeigte, wo vom Hühnerserum z. B. mehrere Zehntel nötig waren, um eine gewisse Menge Kaninchenblut zur vollständigen Lösung zu bringen. Wie Müller angibt, löste normales Entenserum in Mengen von 0,01—0,05 ccm 1 ccm einer 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung auf; zur vollständigen Hämolyse des Meerschweinchenblutes bedurfte es 0,1 ccm Serumzusatzes. Die hämolytische Wirkung auf Kaninchenblut konnte auch Lüdke (145) bestätigen.

Normales Hühnerserum vermochte in Dosen von 0,1—0,2 ccm Kaninchenblutkörperchen vollständig aufzulösen (Müller [148]).

Normales Taubenserum löst Meerschweinchenblut nach Angaben Pfeiffers (152) in Mengen von 0,13 ccm auf. Fast gar keine hämolytische Wirkung sahen Neisser und Döring (149) auf Menschenblutkörperchen.

### Technik.

Meine Versuche über Hämolsine habe ich nun in folgender Weise angestellt: Es wurden von den Blutarten 5-proz. Aufschwemmungen in 0,85-proz. NaCl-Lösung hergestellt, da sich diese für hämolytische Versuche am zweckmäßigsten gezeigt haben. Je 1 ccm dieser Blutaufschwemmungen wurden in Röhrchen abgefüllt, dazu steigende Mengen aktiven, frisch gewonnenen Serums hinzugesetzt und dann durch Auffüllung auf 2 ccm mit 0,85-proz. NaCl-Lösung bei allen Proben ein gleiches Volumen hergestellt, da die Gesamtflüssigkeitsmenge von Einfluß auf den Verlauf der Hämolyse sein kann. Die Mischung kam 2 Stunden in den Brutschrank bei 37,5° C; dann wurden die Resultate abgelesen, die ich in folgender Tabelle eingezeichnet habe.

Die beiden Grenzwerte, die vollständige Hämolyse (komplett) und das Ausbleiben derselben (0) sind meist außerordentlich scharf zu erkennen. Als „Spur“ bezeichnete ich das Auftreten einer geringen, bei sanftem Bewegen des Reagenzglases leicht erkennbaren Lösungszone dicht oberhalb der Kuppe.

Serum- menge ccm	Hämolytische Wirkung des normalen Pferdeserums auf 5-proz. Blut- aufschwemmung von									
	Mensch	Rind	Schwein	Schaf	Kanin- chen	Meer- schwein- chen	Gans	Ente	Huhn	Taube
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Serum- menge ccm	Hämolytische Wirkung des normalen Rinderserums auf 5-proz. Blut- aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Schwein	Schaf	Kanin- chen	Meer- schwein- chen	Gans	Ente	Huhn	Taube
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03	0	0	0	0	0	Spur	0	0	0	0
0,04	0	0	0	0	Spürchen	„	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	Spur	deutlich	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	„	„	0	0	0	0
0,07	0	0	0	0	„	f. kompl.	0	0	0	0
0,08	0	0	0	0	deutlich	„	0	0	Spur	0
0,09	0	0	0	0	„	„	0	0	„	0
0,1	Spürchen	0	0	0	f. kompl.	„	0	0	„	0
0,2	Spur	Spürchen	0	0	komplett	komplett	0	0	„	0
0,3	„	Spur	0	0	„	„	0	0	deutl.	0
0,4	„	f. kompl.	0	0	„	„	0	0	„	Spur
0,5	deutlich	komplett	0	0	„	„	0	0	„	„

Serum- menge ccm	Hämolytische Wirkung des normalen Schweineserums auf 5-proz. Blut- aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schaf	Kanin- chen	Meer- schwein- chen	Gans	Ente	Huhn	Taube
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,04	0	0	0	Spur	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	„	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	deutlich	0	Spur	0	0	0	0
0,07	0	0	0	„	0	„	0	0	0	0
0,08	0	0	0	„	0	„	0	0	0	0
0,09	0	0	0	f. kompl.	Spur	„	0	0	0	0
0,1	0	0	0	„	„	deutlich	0	0	0	0
0,2	0	deutlich	0	komplett	deutlich	f. kompl.	0	0	0	0
0,3	0	komplett	0	„	komplett	komplett	0	0	0	0
0,4	0	„	0	„	„	„	0	0	0	0
0,5	Spur	„	Spur	„	„	„	0	0	0	0



Serum- menge ccm	Hämolytische Wirkung des normalen Schafserums auf 5-proz. Blut- aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Kanin- chen	Meer- schwein- chen	Gans	Ente	Huhn	Taube
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	Spur	0	0	0	0
0,07	0	0	0	0	0	"	0	0	0	0
0,08	0	0	0	0	0	"	0	0	0	0
0,09	0	0	0	0	0	"	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	deutlich	0	0	0	0
0,2	0	0	0	0	Spur	komplett	0	0	0	0
0,3	Spürchen	0	0	0	deutlich	"	0	0	0	0
0,4	"	Spur	0	0	"	"	0	0	0	0
0,5	Spur	"	0	0	komplett	"	0	0	0	0

Serum- menge ccm	Hämolytische Wirkung des normalen Gänse- serums auf 5-proz. Blut- aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Schaf	Kanin- chen	Meer- schwein- chen	Ente	Huhn	Taube
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	Spur	0	0	0	0
0,07	0	0	0	0	0	deutlich	0	0	0	0
0,08	0	0	0	0	0	komplett	0	0	0	0
0,09	0	0	0	0	0	"	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	"	0	0	0	0
0,2	0	0	0	Spürchen	0	"	0	0	0	0
0,3	Spürchen	0	0	deutlich	0	"	Spürchen	0	0	0
0,4	Spur	0	Spur	"	0	"	Spur	0	0	0
0,5	deutlich	0	deutlich	f. kompl.	0	"	deutlich	0	0	0

Serum- menge ccm	Hämolytische Wirkung des normalen Entenserums auf 5-proz. Blut- aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Schaf	Kanin- chen	Meer- schwein- chen	Gans	Huhn	Taube
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	Spur	0	0	0	0
0,2	0	0	0	Spur	0	komplett	Spürchen	0	0	0
0,3	Spürchen	0	0	deutlich	0	"	Spur	0	0	0
0,4	Spur	0	Spur	f. kompl.	0	"	"	0	0	0
0,5	deutlich	0	"	komplett	0	"	"	0	0	0

Serum- menge ccm	Hämolytische Wirkung des normalen Hühnerserums auf 5-proz. Blut- aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Schaf	Kanin- chen	Meer- schwein- chen	Gans	Ente	Taube
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	Spur	0	0	0	0
0,2	0	0	0	0	0	„	0	0	0	0
0,3	Spur	0	0	Spürchen	0	deutlich	0	0	0	0
0,4	„	0	0	Spur	0	f. kompl.	0	0	0	0
0,5	„	0	0	deutlich	0	„	0	0	0	0

Serum- menge ccm	Hämolytische Wirkung des normalen Taubenserums auf 5-proz. Blut- aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Schaf	Kanin- chen	Meer- schwein- chen	Gans	Huhn	Ente
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	0	0	0	0	0	Spürchen	0	0	0	0
0,3	0	0	0	0	0	Spur	0	0	0	0
0,4	0	0	0	0	0	deutlich	0	0	0	0
0,5	0	0	0	0	0	„	0	0	0	0

Serum- menge ccm	Hämolytische Wirkung des normalen Kaninchen- serums auf 5-proz. Blut- aufschwemmung von									
	Mensch	Pferd	Rind	Schwein	Schaf	Meer- schwein- chen	Gans	Ente	Huhn	Taube
0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	Spur	0	0	0	Spur	Spürchen
0,2	0	Spur	0	0	f. kompl.	Spur	0	0	„	deutlich
0,3	0	kompl.	0	Spürchen	kompl.	deutlich	Spürchen	Spürchen	deutl.	„
0,4	0	„	0	Spur	„	„	Spur	Spur	„	„
0,5	0	„	0	„	„	„	„	„	„	„

Es wird gelöst 1 ccm einer 5-proz. Blutaufschwemmung von	Serumart	Menge des zugefügten Serums	Lösende Wirkung	Es lösen nicht 0,5 ccm Serum von
Mensch	Rind	0,2	Spur	Pferd Taube Kaninchen
	Schwein	0,5	deutlich	
	Schaf	0,5	Spur	
	Gans	0,5	Spur	
	Ente	0,4	Spur	
	Huhn	0,5	deutlich	
Pferd	Rind	0,3	Spur	Gans Ente Huhn Taube
	Schwein	0,5	komplett	
	Schaf	0,3	komplett	
	Kaninchen	0,5	Spur	
		0,2	Spur	
Rind	Schwein	0,5	Spur	Pferd, Schaf Huhn, Taube Kaninchen
	Gans	0,4	Spur	
	Ente	0,5	deutlich	
Schaf	Schwein	0,04	Spur	Pferd, Huhn Rind, Taube Gans, Ente
	Kaninchen	0,2	komplett	
		0,1	Spur	
Schwein	Gans	0,3	komplett	Pferd Rind Schaf Taube
		0,3	deutlich	
	Ente	0,5	fast komplett	
		0,2	Spur	
	Huhn	0,5	komplett	
		0,4	Spur	
	Kaninchen	0,5	deutlich	
Kaninchen	Rind	0,05	Spur	Pferd
		0,2	komplett	
	Schwein	0,09	Spur	
	Schaf	0,3	komplett	
		0,2	Spur	
	Gans	0,5	komplett	
		0,06	Spur	
	Ente	0,08	komplett	
		0,1	Spur	
	Huhn	0,2	komplett	
	0,1	Spur		
Meerschweinchen	Taube	0,5	fast komplett	Pferd Huhn Taube
		0,3	Spur	
		0,5	deutlich	
	Rind	0,03	Spur	
		0,2	komplett	
	Schwein	0,06	Spur	
	Schaf	0,3	komplett	
		0,06	Spur	
	Gans	0,2	komplett	
	0,4	Spur		
Ente	0,5	deutlich		
	0,3	Spur		
	0,5	Spur		
	0,2	Spur		
	0,5	deutlich		

Es wird gelöst 1 ccm einer 5-proz. Blutaufschwemmung von	Serumart	Menge des zugefügten Serums	Lösende Wirkung	Es lösen nicht 0,5 ccm Serum von
Gans	Kaninchen	0,4	Spur	Pferd Rind Schaf Ente Huhn, Taube
		0,5	Spur	
Ente	Kaninchen	0,4	Spur	Pferd Rind Schwein Schaf Gans Huhn Taube
		0,5	Spur	
Huhn	Rind	0,08	Spur	Pferd, Schwein Schaf Gans, Ente Taube
	Kaninchen	0,05	deutlich	
		0,1 0,3—0,5	Spur deutlich	
Taube	Rind	0,4	Spur	Pferd Schwein, Schaf Gans, Ente Huhn
	Kaninchen	0,5	Spur	
		0,2	deutlich	
		0,5	deutlich	

Aus den ersten Zusammenstellungen meiner Befunde geht hervor, daß alle von mir untersuchten Sera, mit Ausnahme des Pferdeserums, eine hämolytische Wirkung auf eine oder mehrere Blutkörperchenarten in verschiedenem Grade ausüben, doch vermochte ein Serum allein nicht alle Blutkörperchenarten zu lösen.

Betrachten wir die verschiedenen Blutarten, wie ich es auf der letzten Tabelle zusammengestellt habe, so sehen wir, daß keine Blutart von allen Seris gelöst wird, daß dieses aber meist in mehreren Blutseris verschiedener Tierarten geschehen kann. Weiter zeigt sich, daß Gans- und Entenblut von keinem Serum hämolytisch beeinflusst wurden.

Weiterhin möchte ich noch zu folgendem Punkte Stellung nehmen: Gürber (149) und Hoerber (143) waren bei ihren Untersuchungen über die globulizide Wirkung der normalen Blutsera zu folgendem Schluß gekommen, den Hoerber z. B. wörtlich folgendermaßen angibt: Es zeigen die Versuche, „daß niemals die Blutkörperchen einer Blutart, deren Serum die Blutkörperchen einer anderen Blutart zerstört, von dem Serum eben dieser anderen Blutart aufgelöst werden“.

Wenn diese Behauptung von Gürber und Hoerber auch für die meisten meiner Versuche zutrifft — man vergleiche die Kombinationen Pferd-Rind, Rind-Kaninchen, Schaf-Schwein, Huhn-Rind, Ente-Schwein — so geht aus meinen Tabellen doch auch oft das Gegenteil hervor. Es löst z. B. Schweineserum die Kaninchenblutzellen, umgekehrt löst aber auch ebenso Kaninchenserum die Schweineblutzellen, wenn auch nicht in so erheblichem Maße. Dieselben Verhältnisse zeigen sich bei Vergleichen Schaf-Kaninchen, Huhn-Kaninchen, Taube-Kaninchen, Gans-Kaninchen.

Ich kann also im Gegensatz zu Gürber und Hoerber die Ansicht Buchners bestätigen, daß die Blutkörperchen einer Tierart, deren

Serum fremde Blutkörperchen zerstört, wohl von den Seris dieser fremden Blutarten gelöst werden können.

Selbstverständlich handelt es sich bei meinen Resultaten nicht um Werte, die für die einzelnen Sera immer zutreffen werden, denn es ist eine strenge Abgrenzung dieser hämolytischen Eigenschaften gesetzmäßig nicht möglich. Es kommen bei ihnen, wie auch aus den verschiedenen Befunden in der Literatur hervorgeht, und wie es auch verschiedene Autoren betont haben, nicht nur bei den einzelnen Tieren einer Art Schwankungen vor, sondern Ehrlich und Morgenroth (138) konnten auch an dem Serum eines und desselben Tieres markante zeitliche Differenzen dieser Art nachweisen, die besonders klar zeigen, wie sehr die hämolytischen Fähigkeiten des Serums bei einem Individuum innerhalb weniger Tage wechseln können.

#### Literaturverzeichnis.

##### Gehalt normaler Tiersera an Antikörpern.

###### A. Bakterienagglutinine.

- 22) Afanassjeff, Beiträge zur Serodiagnose des Rotzes. [Diss.] Petersburg 1900. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. 1900. p. 41.)
- 23) Arloing, Agglutination du bacille de la tuberculose vraie. (Congrès de méd. int. de Montpellier 12—17 avril 1898.)
- 24) — —, Serodiagnostik des Rindes. (Journ. de méd. vétér. T. LI. 1900. p. 449.)
- 25) Arloing u. Courmont, Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenwesen. Bd. I. 1898. Heft 1 u. 2.
- 26) — —, Ueber den Wert der Serumreaktion für die frühzeitige Diagnose der Tuberkulose. (Dtsche med. Wochenschr. 1900. No. 48. p. 766.)
- 27) Aronsohn, Untersuchungen über Streptokokken und Antistreptokokkenserum. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 42.)
- 28) Arpad, Beiträge zur Agglutination des Rotzbacillus. (Veterinarius. 1902. Heft 8. Ref. Baumgartens Jahresber. 1902. p. 316.)
- 29) Baljaeff, Ueber einige Eigenschaften agglutinierender sowie anderweitiger Sera. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. 1905. p. 293.)
- 30) Beck u. Rabinowitsch, Weitere Untersuchungen über den Wert der Arloing-Courmontschen Serumreaktion bei Tuberkulose, speziell bei Rindertuberkulose. (Dtsche med. Wochenschr. 1901. p. 145.)
- 31) v. Behring, s. Romberg, Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 3. p. 92.
- 32) Besredka, Etude de l'immunité dans l'infection typhique expérimentale. (Ann. Pasteur. T. XV. 1901. p. 209.)
- 33) Bonome, Ueber die Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes während der Rotzinfektion. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. 1905. p. 601 u. 733.)
- 34) Bongert, Die Druse der Pferde. (Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann. Bd. III. 1903. p. 739.)
- 35) Bordet, Sur le mode d'action des sérums préventifs. (Ann. Pasteur. 1896. p. 193.)
- 36) — —, Mécanisme de l'agglutination. (Ibid. 1899. p. 248.)
- 37) Bourges et Méry, Note sur le sérodiagnostic de la morve. (Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. T. XII. 1900. p. 182. Ref. Baumgartens Jahresber. 1900. p. 247.)
- 38) Caffarena, Sul potere agglutinante ed antitossico del sero di cavallo normale ed immunizzato contro la tuberculosi. (Gazz. d. ospedali e d. clin. Anno XXIV. 1903. p. 721. Ref. Baumgartens Jahresber. 1903. p. 407.)
- 39) Mc Clintock, Der Wert der Widalschen Reaktion für die Diagnose der Schweinecholera. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1905. p. 362.)
- 40) Dediulin, Zur Serodiagnose beim Rotz. (Bote f. öffentl. Veterinärwesen. 1900.)
- 41) Deutsch, Beiträge zur Kenntnis des Schweinerotlaufserums. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1903. p. 214.)
- 42) Diendonné, Experimentelle und kritische Beiträge zur Kenntnis der agglutinierenden Stoffe der Immunsera. [Habilitationsschrift.] 24 p. Würzburg 1898.
- 43) Dubard, Sur l'agglutination des bacilles de Koch. Possibilité.... (4. Congrès pour l'étude de la tuberculose. 1898. p. 595.)

- 44) Eber, Tuberkulose der Tiere. (Ergebnisse d. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. v. Lubarsch u. Ostertag. Jahrg. X. 1904/05. p. 535.)
- 45) Ercolani, Die Diagnostik von Rotlauf und Schweineseuche vermittelt agglutinierender Sera. (Giorn. d. R. Soc. ed Accad. Vet. Ital. 1901. p. 1171. Ref. Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1902. p. 467.)
- 46) Fedorowski, Zur Frage der Agglutination der Rotzbacillen vom Standpunkt der vergleichenden Pathologie und Differentialdiagnostik. [Diss.] Dorpat 1902. (Ref. Baumgartens Jahresber. 1902. p. 316.)
- 47) Foth, Beiträge zur Aetiologie der Eiterung beim Pferde. (Zeitschr. f. Veterinärkunde. 1891. p. 535.)
- 48) Gasiorowski, zitiert von Paltauf. Die Agglutination. (Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. IV. 1904. Teil 1. p. 698.)
- 49) Gengou, Etude sur les rapports entre les agglutinines et les lysins dans le carbon. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 642.)
- 50) Grabert, Beitrag zur Biologie des Erregers der Schweinepest. [Inaug.-Diss.] Gießen 1904.
- 51) de Grazia, Die Serumdiagnose bei der Lungentuberkulose. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. p. 229.)
- 52) Gruber u. Durham, Eine neue Methode zur raschen Erkennung des Cholera-vibrio und des Typhusbacillus. (Münch. med. Wochenschr. 1896. No. 13. p. 285.)
- 53) Hahn u. Trommsdorff, Ueber Agglutinine. (Münch. med. Wochenschr. 1900. p. 413.)
- 54) Hell, Ueber Schutzimpfversuche gegen Brustseuche. (Zeitschr. f. Veterinärkunde. 1889. No. 1. p. 1.)
- 55) Hetsch u. Lentz, Spezifität der im Serum der Pferde enthaltenen Agglutinine. (Festschr. z. 60. Geburtstag v. Rob. Koch. p. 17.) Jena 1903.
- 56) Horrocks, On the value of the agglutination test as a means of diagnosis of the B. typhosus from coliform organisms. (Brit. med. Journ. 1900. p. 1015. Ref. Baumgartens Jahresber. 1900. p. 224.)
- 57) Jatta, Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination der Typhusbacillen und der Mikroorganismen der Coligruppe. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXIII. 1900. p. 185.)
- 58) Jensen, Ueber die Serumagglutination als Mittel zur Diagnose der Rotzkrankheit. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1901. p. 622.)
- 59) Jess, Zur Technik der Schutzimpfung gegen Geflügelcholera. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1899. No. 4. p. 37.)
- 60) Jess u. Piorkowski, 73. Vers. Dtscher Naturf. u. Aerzte zu Hamburg. 1901. Zitiert von Jess, Kompend. d. Bakt. u. Blutserumther. 1903. p. 68.
- 61) Karwacki u. Benni, Ueber die quantitativen Verhältnisse bei der Agglutination der Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLII. 1906. p. 252.)
- 62) Kitt, Agglutination und Serodiagnostik. (Lehrb. d. klin. Untersuchungsmeth. v. Friedberger u. Fröhner. 3. Aufl. 1900. p. 481.)
- 63) Knopf, Die Früherkennung der Tuberkulose. [Vortrag, gehalten in New York am 20. Nov. 1899.] (Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenwesen. Bd. I. 1900. Heft 3. p. 187.)
- 64) Koch, R., Ueber die Agglutination der Tuberkelbacillen und über die Verwertung dieser Agglutination. (Dtsche med. Wochenschr. 1901. p. 829.)
- 65) Koch, R., Bericht über die im Institute für Infektionskrankheiten angestellten Versuche bezüglich Verwertung der Agglutination zur frühzeitigen Diagnose der Rotzkrankheit. 17. Nov. 1902. (Veröffentl. a. d. Jahresveterinärber. d. beamteten Tierärzte Preußens für das Jahr 1903. Teil 2. p. 70.)
- 66) Koeppen, Tuberkulosestudien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1903. p. 6.)
- 67) Kolle, Ueber den jetzigen Stand der Choleradiagnose. (Klin. Jahrb. Bd. XI. 1903. p. 357.)
- 68) Kolle u. Gotschlich, Untersuchungen über die bakteriologische Cholera-diagnostik. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903. p. 1.)
- 69) Kraus u. Löw, Ueber Agglutination. [Vortrag, gehalten in der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien am 27. Jan. 1899.] (Wien. klin. Wochenschr. 1899. p. 95.)
- 70) Langer, Untersuchungen über die differentialdiagnostische Bedeutung der Rotz-agglutination. (Monatsh. f. Tierheilk. Bd. XVI. 1905. p. 241.)
- 71) Lambotte et Maréchal, L'agglutination du bacille charbonneux par le sang humain normal. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 637.)
- 72) Lignières, Contributions a l'étude des pneumonies du cheval. (Bull. de la soc. centr. de méd. vétér. 1897. p. 280.)
- 73) Lipstein, Ueber Immunisierungen mit Diphtheriebacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1902. p. 821.)

- 74) Löwit, Ueber Niederschlagsbildung bei der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1903. p. 163.)
- 75) Lüdke, Agglutination bei Autoinfektion, mit besonderer Berücksichtigung des Icterus. (Dtches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI. 1904. p. 34.)
- 76) — —, Beiträge zur Hämolyse. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904. p. 423.)
- 77) Majewski, Die Agglutination im menschlichen und tierischen Blute im physiologischen Zustande. (Gazeta lekarska. No. 36 u. 37. Ref. Jahresber. über die Leistungen der gesamten Medizin. 1903. p. 356.)
- 78) Moser u. Pirquet, Zur Agglutination der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. 1902. p. 560.)
- 79) Müller, G., Ueber Agglutinine normaler Tiersera. [Inaug.-Diss.] Bern 1901.
- 80) Nikolsky, Ueber den Wert der Serumdiagnostik beim Rotz. [Russisch.] (Arch. f. Veterinärwissenschaft. 1900. Heft 7. p. 311.)
- 81) Ostertag, Ueber die Schweinepest und deren Bekämpfung. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1899. p. 145.)
- 82) Ostertag u. Durbeck, zitiert von Stolpe. Fortschr. d. Veterinärhyg. 1903. Heft 12. p. 267.)
- 83) Paltauf, Die Agglutination. (Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. IV. 1904. Teil 1. p. 698-)
- 84) Panisset, Ueber die Serodiagnostik der Tuberkulose bei Rindern. (Rev. gén. de méd. vétér. T. IV. 1905. p. 577.)
- 85) Petrowsky, Natürliche Rotzinfektion bei Kamelen. (Arch. f. Veterinärwissenschaft. 1903.)
- 86) Pfeiffer, R., Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität und über spezifisch bakterielle Prozesse. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XVIII. 1894. p. 1.)
- 87) Pokschischewsky, Die Agglutination als Methode zur Bestimmung des Rotzes. (Russ. Arch. f. Pathol., klin. Med. u. Bakt. Bd. XII. 1901. p. 372. Ref. Jahresber. über die Leistungen der gesamten Medizin. Bd. I. 1902. p. 501.)
- 88) Rabieaux, Contribution au „Séro-Diagnostic“ de la morve. (Rév. de méd. vétér. 1902. 30. Juni.)
- 89) Radziewski, Beitrag zur Kenntnis des Bacterium coli. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXIV. 1900. p. 369.)
- 90) Reinecke, Die Serodiagnostik unter besonderer Berücksichtigung der Rotzkrankheit des Pferdes. (Zeitschr. f. Veterinärkunde. 1904. p. 245.)
- 91) Riemer, Ein Beitrag zur Beurteilung des Wertes der Agglutination für die Diagnose der Rotzkrankheit des Pferdes. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1905. p. 637.)
- 92) Rodet, Sur l'agglutination du bacille coli . . . par le sérum des animaux immunisés. (Journ. de phys. et de pathol. génér. 1899.)
- 93) Rossiwall u. Schick, Ueber spezifische Agglutination von Streptokokken aus Scharlachanginen und extrabuccalem Primäraffekt. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. p. 3.)
- 94) Ruitinga, Zur Serodiagnose der Tuberkulose. (Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenwesen. Bd. III. 1902. Heft 6. p. 489.)
- 95) Sawtschenko, zitiert von Sobernheim. Immunität bei Milzbrand. (Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. IV. 1904. Teil 2. p. 813.)
- 96) Scheller, Experimentelle Beiträge zur Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1904. p. 427.)
- 97) Schnürer, Zur diagnostischen Verwertung der Rotzagglutination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX. 1905. p. 180.)
- 98) Schütz u. Miessner, Zur Serodiagnose der Rotzkrankheit. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1905. p. 353.)
- 99) Sobernheim, Ueber die Agglutination der Milzbrandbakterien durch spezifische Sera. (Dtche med. Wochenschr. 1904. No. 41. p. 1501.)
- 100) — —, Ueber einige Eigenschaften des Tuberkuloseserums. Vortrag. (Freie Vereinigung für Mikrobiologie. Tagung vom 9. Juni 1906 im Institute für Infektionskrankheiten zu Berlin.)
- 101) Stolpe, Ueber die mittels der Agglutination nachweisbaren Bacillen des Streptococcus equi zu den vom Menschen stammenden Streptokokken. (Fortschr. d. Veterinärhyg. 1906. Heft 12. p. 265.)
- 102) Thellung, Experimenteller Beitrag zur Frage der Agglutination der Tuberkelbacillen mit Neu-Tuberkulin (Bacillenemulsion) Koch. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. 1902. p. 28.)
- 103) van de Velde, Pouvoir agglutinant d'un sérum de cheval vacciné contre la fièvre typhoïde. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. p. 882.)

- 104) Voges, Zitiert von Jess, Komp. d. Bakt. u. Blutserumther. 1903. p. 67.  
 105) Volk u. de Waele, Ueber Hemmungserscheinungen bei frischen Immuneris. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. p. 1305.)  
 106) Wlassjewski, Ueber Agglutination mit Streptokokkenseris. (Sitzung d. bakt. Sekt. d. k. Ges. f. Naturk. i. Moskau. 1903.) Zit. von Fischer, Die Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904. p. 450.)  
 107) Widal, Sérodiagnostic de la fièvre typhoid. (Soc. méd. des hôp. 1896. 26. Juni.)  
 108) Widal et Sicard, La réaction agglutinante sur les bacilles morts. (Soc. de biol. 1897. p. 116.)  
 109) Wladimiroff, Immunität bei Rotz. (Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann. Bd. IV. 1904. Teil. 2. p. 1020.)  
 110) Zschokke, Forschungen über den gelben Galt. (Schweizer Arch. f. Tierheilk. Bd. XLIV. 1904. p. 113.)

#### B. Hämagglutinine.

- 111) Ascoli, Isoagglutinine und Isolysine menschlicher Blutsera. (Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 1239.)  
 112) Bexheft, Beitrag zur Frage der Hämagglutinine. (Pflügers Arch. d. ges. Physiol. Bd. CI. p. 235.)  
 113) Biffi, Sulla emoagglutinine del sangue umano e sulla tunica della agglutinazione in generale. (Ann. d'Igiene sperim. Vol. XIII. 1903. Fasc. 2. Ref. Baumgartens Jahresber. 1903. p. 888.)  
 114) Bordet, Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. p. 688.)  
 115) — —, Le mécanisme de l'agglutination. (Ibid. 1899. p. 248.)  
 116) Camus et Pagniez, D'un pouvoir agglutinant de certains sérums humains pour les globules rouges de l'homme. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 9. p. 242.)  
 117) Decastello u. Sturli, Ueber Isoagglutinine im Serum gesunder und kranker Menschen. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 26. p. 1090.)  
 118) Eisenberg, Ueber Isoagglutinine und Isolysine in menschlichen Seris. (Wien. klin. Wochenschr. 1901. p. 1020.)  
 119) Klein, Beiträge zur Kenntnis der Agglutination roter Blutkörperchen. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. p. 413.)  
 120) Kraus u. Ludwig, Ueber Bakterienhämolyse und Antihämolyse. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 15. p. 382.)  
 121) Landois, Die Transfusion des Blutes. Leipzig 1875.  
 122) Landsteiner, Ueber Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. (Wien. klin. Wochenschr. 1901. p. 1132.)  
 123) — —, Ueber Beziehungen zwischen Blutzellen und den Körperzellen. (Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 1812.)  
 124) Landsteiner u. Jagić, Ueber die Verbindung und Entstehung von Immunkörpern. (Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 764.)  
 125) Landsteiner u. Leiner, Ueber Isolysine und Isoagglutinine im menschlichen Blute. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905. p. 548.)  
 126) Landsteiner u. Sturli, Ueber die Hämagglutinine normaler Sera. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. p. 38.)  
 127) Lüdke, Beiträge zur Kenntnis der Hämagglutinine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLII. 1906. p. 69.)  
 128) Malkoff, Beiträge zur Frage der Agglutination der roten Blutkörperchen. (Dtsche med. Wochenschr. 1900. p. 229.)  
 129) Sachs, Ueber Hämolyse des normalen Blutserums. (Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 34.)  
 130) Schenk, Ueber die Vermehrung der Agglutinine im Wochenbett. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 34. p. 1623.)  
 131) Wiener, Ueber das Verhalten der roten Blutkörperchen bei höheren Temperaturen. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. p. 671.)

#### C. Hämolyse des normalen Tiereserums.

- 132) Bordet, Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. p. 688.)  
 133) Buchner, Ueber die Schutzstoffe des Serums. (Berl. klin. Wochenschr. 1892. No. 19.)  
 134) — —, Die keimtötende, die globulizide und die antitoxische Wirkung des Blutserums. (Münch. med. Wochenschr. 1892. p. 119.)



- 135) Buchner, Zur Kenntnis der Alexine, sowie der spezifisch bakteriziden und spezifisch hämolytischen Wirkungen. (Ibid. 1900. p. 277.)
- 136) Creite, Versuche über die Wirkung des Serumweißes nach Injektionen in das Blut. (Zeitschr. f. rationelle Med. 1869. p. 90.)
- 137) Daremberg, Arch. de méd. exper. et d'anat. pathol. 1891. p. 93.
- 138) Ehrlich u. Morgenroth, S. Ehrlich, Gesammelte Arbeiten der Immunitätsforschung. Kap. I—III, VI—VIII. Berlin 1904.
- 139) Ehrlich u. Sachs, Ueber den Mechanismus der Ambozeptorenwirkung. (S. Ehrlich, Ges. Arb. d. Immunitätsforschung. 1904. p. 303.)
- 140) Gürber, Zur Kenntnis der Chemie und Physiologie des Blutserums. (Beitr. zur Physiologie. Festschr. f. A. Fick. p. 123.) Braunschweig 1899.
- 141) Hahn u. Trommsdorff, Zur hämolytischen Wirkung des normalen menschlichen Serums. (Münch. med. Wochenschr. 1902. p. 1454.)
- 142) Hess u. Römer, Experimentelle Untersuchungen über Antikörper gegen Netzhautelemente. (Arch. f. Augenheilk. Bd. LIV. 1906. Heft 1/2. p. 13.)
- 143) Hoerber, Zur Kenntnis der globuliziden Wirkung des Blutserums. [Inaug.-Diss.] Würzburg 1893.
- 144) Landois, Die Transfusion des Blutes. 149 p. Leipzig 1875.
- 145) Lüdke, Zur Spezifität der Antikörper. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905. p. 81, 209, 320, 537.)
- 146) Morgenroth, Ueber die Erzeugung hämolytischer Ambozeptoren. (Ehrlichs Ges. Arb. d. Immunitätsforschung. 1904. p. 315.)
- 147) Morgenroth u. Sachs, Ueber die Kompletierbarkeit der Ambozeptoren. (Ehrlichs Ges. Arb. d. Immunitätsforschung. 1904. p. 342.)
- 148) Müller, Ueber Antihämolysine normaler Sera. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. 1901. p. 860.)
- 149) Neisser u. Döring, Zur Kenntnis der hämolytischen Eigenschaften des menschlichen Serums. (Berl. klin. Wochenschr. 1901. p. 593.)
- 150) Ottolenghi u. Mori, Wirkung des Aethyläthers auf hämolytische und bakterizide Sera. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905. p. 338.)
- 151) Panum, Experimentelle Untersuchungen über die Transfusion. (Virchows Arch. Bd. XXVII. p. 438.)
- 152) Pfeiffer, H., Ueber die nekrotisierende Wirkung normaler Sera. (Arch. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI. 1901. p. 270.)
- 153) Römer, Die Pathogenese der Cataracta senilis vom Standpunkte der Serumforschung. (v. Graefes Arch. f. Ophthalmol. Bd. LX. 1905. p. 226.)
- 154) Sachs, Gibt es einheitliche Alexinwirkungen? (Ehrlichs Ges. Arb. d. Immunitätsforschung. 1904. p. 267.)
- 155) Schütze u. Scheller, Ueber die im normalen Serum vorkommenden globuliziden Substanzen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI. 1901. p. 270.)
- 156) Shibayama, Einiges Experimentelles über Hämolyse. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901. p. 760.)
- 157) Stern, Pouvoir hémolytique du sérum sanguin normal chez différentes espèces animales. (Compt. rend. de la soc. de biol. T. LVI. 1904. p. 309.)

*Nachdruck verboten.*

## Experimentelle Untersuchungen über das monogene Streptokokkenimmenserum.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.]

Von Dr. F. B. Simon.

(Schluß.)

Während man bei Passagestämmen mit ziemlicher Sicherheit vorhersieht, innerhalb welcher Zeit eine gewisse Dosis ein Tier tötet, ist man bei menschenpathogenen Stämmen, selbst wenn man hohe Dosen anwendet, dem Zufall preisgegeben. Ganz typisch in dieser Beziehung sind die beiden Versuche des Immenserum B mit dem Str. CO; bei der Dosis von 0,02 ccm stirbt das Versuchstier nach

48 Stunden, das Kontrolltier nach 4 Tagen, während bei der höheren Dosis von 0,03 ccm das Versuchstier am Leben bleibt und das Kontrolltier erst nach 9 Tagen stirbt. Ebenso charakteristisch sind die drei Versuche des Immunserum S mit dem Str. KO: bei der niedrigsten Dosis von 0,0015 ccm stirbt das Versuchstier nach 36 Stunden, das Kontrolltier erst nach 4 Tagen, bei der nächst höheren Dosis von 0,0025 ccm sterben beide Tiere gleichzeitig nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen, nur bei der höchsten Dosis von 0,005 ccm scheint das Immunserum S eine gewisse Wirkung zu entfalten, indem das Versuchstier nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen, das Kontrolltier schon nach 36 Stunden stirbt. Es kann selbstverständlich in diesen Fällen von einer Schutzwirkung des Immunserums keine Rede sein, da eine solche nicht bei der höchsten, sondern bei der niedrigsten Streptokokkendosis hätte eintreten müssen.

Auffallend bei diesen Versuchen ist, daß die drei Immunsera B, S und M gegenüber dem Str. CO versagen, gegen dessen Tierpassagen sie, wie im I. Teil gezeigt, prompt schützten. Unter den sechs Versuchen mit dem Str. CO fiel nur einer scheinbar positiv aus, und auch dieser kann, wie eben dargelegt wurde, nicht als positiv gelten.

Die Immunsera von Passagestämmen, welche einen anderen Passagestamm im Tierversuch komplett beeinflussen, bleiben also unwirksam gegenüber der Originalkultur desselben Stammes. Daraus folgt ohne weiteres, daß den menschenpathogenen Streptokokken, die noch kein Tier passiert haben, andere Antikörper im Immunserum entsprechen als den Tierpassagen des gleichen Stammes. Es müssen daher diejenigen Bestandteile der Bakterienzelle, welche im tierischen Organismus die Bildung von Antikörpern auslösen, im Verlauf der Tierpassagen eine Aenderung erfahren dergestalt, daß die durch Immunisierung mit dem Passagestamm erzeugten spezifischen Antikörper zu einer Reaktion mit der Originalkultur nicht mehr fähig sind. Infolge der Tierpassagen erleiden also die immunisierenden Substanzen des Streptokokkenleibes eine Umwandlung.

Wenn ich für das wirksame Prinzip des Streptokokkenimmunserums den allgemeinen Ausdruck „Antikörper“ gebrauche, so geschieht dies absichtlich deshalb, weil wir über die Wirkung dieser Sera im tierischen Organismus gegenwärtig noch so gut wie nichts wissen, und weil jedenfalls ein Immunkörper im Sinne der bakteriolytischen Sera hier nicht in Frage kommt.

Ich versuchte nun, die Umwandlung jener immunisierenden Substanzen — oder, wie Ehrlich sie nennt, der Bakterienrezeptoren — aus der menschenpathogenen in die Passageform experimentell zu verfolgen. Das hierbei einzuschlagende Verfahren ergibt sich von selbst. Man schickt einen menschenpathogenen Streptococcus durch eine Reihe von Tieren und prüft die einzelnen Passagen von der ersten an im Tierversuch mit dem Serum eines menschenpathogenen Stammes und mit dem Serum eines Passagestammes. Der Uebergang der immunisierenden Substanzen des Streptokokkenleibes aus der menschenpathogenen in die Passageform müßte dann angezeigt werden durch diejenige Tierpassage, welche im Tierversuch zuerst nicht mehr auf das Serum des menschenpathogenen Streptococcus, sondern auf das des Passagestammes reagiert.

So einfach dieser Versuchsplan erscheint, so war doch seine Ausführung mit erheblichen Schwierigkeiten verknüpft, und zwar hauptsäch-

lich deshalb, weil es nicht gelang, mit den beiden menschenpathogenen Stämmen, obschon sie tiervirulent waren, ein Immenserum herzustellen, das auch nur annähernd so hochwertig gewesen wäre wie die Sera der Passagestämmen. Die folgenden Versuche illustrieren das deutlich.

Das Serum eines längere Zeit mit der Stammkultur des Str. C, also mit Str. CO, behandelten Kaninchens, über dessen Immunisierung später noch berichtet werden soll, wurde zunächst im Tierversuch mit dieser Originalkultur geprüft.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum CO)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. CO (0,005 ccm)	bleibt leben	tot nach 2 $\frac{1}{2}$ Tagen
Str. CO (0,02 ccm)	tot nach 6 Tagen	" " 3 "
Str. CO (0,03 ccm)	" " 6 "	" " 6 "

Dieses Immenserum schützte also nur gegen die einfache tödliche Dosis des eigenen Stammes, ließ aber noch bei der 4-fachen Dosis eine deutliche Wirkung erkennen. Wie vorher, so wurden auch bei diesen Versuchen die Tiere gleichzeitig mit Streptokokken und Immenserum resp. Normalserum geimpft.

Der Str. CO wurde jetzt successive durch 3 Mäuse geschickt; die 3 Mäusepassagen sind der Reihe nach mit CM<sub>1</sub>, CM<sub>2</sub>, CM<sub>3</sub> bezeichnet. Dann wurde im Tierversuch die Wirkung des Immenserums der Originalkultur CO auf diese Passagen untersucht.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum CO)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. CM <sub>1</sub> (0,005 ccm)	tot nach 3 $\frac{1}{2}$ Tagen	tot nach 2 Tagen
Str. CM <sub>1</sub> (0,005 ccm)	" " 16 "	" " 11 "
Str. CM <sub>2</sub> (0,005 ccm)	" " 3 "	" " 36 Stunden
Str. CM <sub>3</sub> (0,005 ccm)	" " 3 "	" " 3 Tagen

Während bei den 3 Versuchen mit den ersten beiden Passagen die Versuchstiere später starben als die Kontrolltiere, also eine geringe Schutzwirkung des Immenserums noch bemerkbar war, versagte dieses gänzlich gegenüber der 3. Passage.

Nun wurden die 3 Passagen mit dem Serum S, also mit dem Immenserum eines Passagestammes, geprüft.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum S)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. CM <sub>1</sub> (0,01 ccm)	tot nach 1 $\frac{1}{2}$ Tagen	tot nach 3 Tagen
Str. CM <sub>2</sub> (0,001 ccm)	" " 2 $\frac{1}{2}$ "	" " 11 "
Str. CM <sub>3</sub> (0,002 ccm)	" " 4 $\frac{1}{2}$ "	" " 5 "
Str. CM <sub>3</sub> (0,003 ccm)	" " 4 $\frac{1}{2}$ "	stirbt mehrere Tage nach dem Versuchstier

Von den 3 Passagen reagierte also keine, auch die 3. nicht, auf das Serum S. Daraus folgt, daß auch bei der 3. Mäusepassage des Str. C noch keineswegs die Umwandlung der immunisierenden Substanzen der Bakterienzelle in die Passageform stattgefunden hat, wie man etwa nach dem negativen Ausfall des 4. Versuchs mit dem Serum CO hätte vermuten können. Daß dieses schwache Serum gegenüber der 3. Passage gänzlich unwirksam blieb, ist einzig und allein aus der Virulenzsteigerung

des Str. C infolge der Passagen zu erklären. Während die einfache tödliche Dosis der Originalkultur CO = 0,005 ccm war, betrug dieselbe nach der 3. Passage, wie ein diesbezüglicher Tierversuch ergab, nur noch 0,0005 ccm. Auf diesen 10mal virulenteren Streptococcus konnte das Serum CO einen wahrnehmbaren Einfluß nicht mehr ausüben.

Ganz ähnlich verliefen die Versuche mit den Mäusepassagen  $\alpha$  des Scharlachstamms K, welche als  $KM_{1\alpha}$ ,  $KM_{2\alpha}$ ,  $KM_{3\alpha}$  etc. bezeichnet sind. Auch hier wurde zunächst das Immunsrum der Originalkultur KO im Tierversuch auf seine Wirksamkeit gegenüber dieser Stammkultur untersucht.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum KO)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. KO (0,001 ccm)	tot nach 6 Tagen	tot nach 3 Tagen
Str. KO (0,002 ccm)	„ „ 20 „	„ „ 4 $\frac{1}{2}$ „

Dieses Serum war also anfänglich noch schwächer als das Serum CO, da es selbst gegen die einfache tödliche Dosis des eigenen Stammes (0,001 ccm) nicht vollkommen schützte. Später gelang es, bei fortgesetzter Immunisierung dieses Serum wenigstens so weit zu steigern, daß es bei prophylaktischer Impfung, also 24 Stunden vor der Streptokokkeninjektion, bis zur 5-fachen Dosis letalis Schutz verlieh. Auch die Wirksamkeit dieses Serums blieb daher bis zuletzt eine minimale, ebenso wie die des Serums CO.

Die folgenden Versuche zeigen, wie weit die Mäusepassage  $\alpha$  des Str. K von dem Serum der Originalkultur KO beeinflusst wird.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum KO)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. $KM_{1\alpha}$ (0,002 ccm)	tot nach 10 Tagen	tot nach 7 Tagen
Str. $KM_{2\alpha}$ (0,002 ccm)	„ „ 4 „	„ „ 2 $\frac{1}{2}$ „
Str. $KM_{3\alpha}$ (0,002 ccm)	„ „ 14 „	„ „ 2 $\frac{1}{2}$ „
Str. $KM_{4\alpha}$ (0,002 ccm)	„ „ 2 „	„ „ 2 „
Str. $KM_{4\alpha}$ (0,0001 ccm)	„ „ 2 „	„ „ 2 „

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum S)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. $KM_{4\alpha}$ (0,0001 ccm)	tot nach 2 Tagen	tot nach 2 Tagen

Das Serum KO übt also trotz seiner geringen Schutzkraft eine deutliche Einwirkung auf die ersten 3 Mäusepassagen des Str. K aus; erst gegenüber der 4. Passage versagt es gänzlich. Diese 4. Passage reagiert aber auch nicht auf das Serum des Passagestamms S, wie aus dem letzten Versuch hervorgeht. Daher kann nicht angenommen werden, daß etwa bei der 4. Passage die Umwandlung des Streptococcus aus der menschenpathogenen in die die Passageform stattgefunden habe, vielmehr ist es auch hier allein der Virulenzsteigerung des Str. K infolge der Tierpassagen zuzuschreiben, wenn das Serum KO die 4. Mäusepassage nicht mehr beeinflusst. Aus den letzten beiden Versuchen dieser Reihe ergibt sich, daß die einfache tödliche Dosis des Str. K, welche ursprünglich 0,001 ccm betrug, bei der 4. Passage bis unter 0,0001 ccm gesunken ist; es ist also eine relativ beträchtliche Virulenzsteigerung eingetreten.

Da in den bisher mit den Str. C und K ausgeführten Versuchen eine Umwandlung der immunisierenden Substanzen des Streptokokkenleibes aus der menschenpathogenen in die Passageform nicht zu beobachten gewesen war, lag die Vermutung nahe, daß jene Umwandlung möglicherweise unter Umständen erst weit später stattfindet, als man jetzt allgemein annimmt. Um darüber Aufklärung zu erhalten, wurde neuerdings der Str. KO durch eine Reihe von 9 Mäusen geschickt; diese neue Passage ist mit  $\beta$  bezeichnet. Dieselbe unterschied sich von der früheren Serie  $\alpha$  hauptsächlich dadurch, daß die Virulenzsteigerung hier in anderer Weise erfolgte als dort. Während bei der Serie  $\alpha$  schon nach der 4. Mäusepassage die einfache tödliche Dosis bis unter 0,0001 ccm gesunken war, erreichte dieselbe hier nach der 3. Passage gerade diesen Wert, um sich dann bis zur 9. Passage überhaupt nicht mehr zu ändern. Die Serie  $\beta$  wurde nun im Tierversuch zunächst nicht mit dem schwach wirksamen Serum KO, sondern mit dem hochwertigen Serum des Passagestammes B geprüft.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum B)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. KM <sub>1,3</sub> (0,0015 ccm)	tot nach 3 $\frac{1}{2}$ Tagen	tot nach 2 $\frac{1}{2}$ Tagen
Str. KM <sub>2,3</sub> (0,0002 ccm)	„ „ 24 Stunden	bleibt gesund
Str. KM <sub>3,3</sub> (0,0002 ccm)	„ „ 3 $\frac{1}{2}$ Tagen	tot nach 2 $\frac{1}{2}$ Tagen
Str. KM <sub>4,3</sub> (0,0001 ccm)	„ „ 3 $\frac{1}{2}$ „	bleibt gesund
Str. KM <sub>5,3</sub> (0,0001 ccm)	bleibt gesund	tot nach 3 $\frac{1}{2}$ Tagen
Str. KM <sub>6,3</sub> (0,0001 ccm)	tot nach 48 Stunden	„ „ 4 „
Str. KM <sub>7,3</sub> (0,0001 ccm)	„ „ 2 Tagen	„ „ 3 „
Str. KM <sub>8,3</sub> (0,0001 ccm)	„ „ 3 $\frac{1}{2}$ „	stirbt mehrere Tage nach dem Versuchstier

Das Serum B blieb also bis zur 9. Mäusepassage vollständig wirkungslos; es mußte daher angenommen werden, daß der Str. K noch nach 9maliger Mäusepassage seine menschenpathogenen Eigenschaften bewahrt hatte. So unwahrscheinlich diese Annahme nach den jetzt allgemeingültigen Anschauungen zunächst erschien, so bewiesen die folgenden Versuche doch die Berechtigung derselben.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (1 ccm Serum KO)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. KM <sub>9,3</sub> (0,0002 ccm)	tot nach 6 $\frac{1}{2}$ Tagen	tot nach 2 $\frac{1}{2}$ Tagen
Str. KM <sub>1,3</sub> (0,0002 ccm)	„ „ 6 „	„ „ 1 $\frac{1}{2}$ „
Str. KM <sub>2,3</sub> (0,0002 ccm)	„ „ 4 $\frac{1}{2}$ „	„ „ 2 $\frac{1}{2}$ „
Str. KM <sub>3,3</sub> (0,0002 ccm)	„ „ 17 „	„ „ 3 $\frac{1}{2}$ „

Demnach reagierte in diesen 4 Versuchen die 9. Mäusepassage der Serie  $\beta$  deutlich auf das Immunserum der Originalkultur KO, obwohl die doppelte tödliche Dosis jener Passage geimpft wurde. Daraus muß geschlossen werden, daß hier in der Tat trotz 9maliger Mäusepassage die immunisierenden Substanzen des Streptokokkenleibes ihre menschenpathogenen Eigenschaften beibehalten haben.

Selbstverständlich darf aus diesem Fall nicht weiter gefolgert werden, daß die entsprechenden Tierpassagen anderer Streptokokken sich unter allen Umständen ebenso verhalten werden. So hatte z. B. der Str. C, als er, wie im I. Teil gezeigt wurde, durch die Sera der Passagestämme B, M und S stets prompt beeinflusst wurde, auch erst 9 Tiere passiert; hier hatte also die 9malige Passage vollkommen hingereicht,

um den Streptococcus aus seiner menschenpathogenen in die Passageform überzuführen. Selbst andere Tierpassagen des Str. K zeigen ein anderes Verhalten, wie die folgenden Versuche lehren, zu denen nicht wie bisher Mäusepassagen, sondern Meerschweinchenpassagen dieses Streptococcus verwendet wurden; dieselben sind mit Str. K Msch<sub>1</sub>, Str. K Msch<sub>2</sub>, etc. bezeichnet.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier I (1 ccm Serum KO)	Versuchstier II (1 ccm Serum S)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. K Msch <sub>1</sub> (0,002 ccm)	tot nach 9 $\frac{1}{2}$ Tagen		tot nach 4 Tagen
Str. K Msch <sub>2</sub> (0,002 „)	bleibt leben		„ „ 2 $\frac{1}{2}$ „
Str. K Msch <sub>2</sub> (0,002 „)		tot nach 3 $\frac{1}{2}$ Tagen	„ „ 12 „
Str. K Msch <sub>3</sub> (0,002 „)	tot nach 10 Tagen		„ „ 2 $\frac{1}{2}$ „
Str. K Msch <sub>4</sub> (0,002 „)	„ „ 3 $\frac{1}{2}$ „		„ „ 12 „
Str. K Msch <sub>4</sub> (0,002 „)	bleibt leben	bleibt leben	„ „ 2 $\frac{1}{2}$ „
Str. K Msch <sub>4</sub> (0,002 „)	tot nach 4 $\frac{1}{2}$ Tagen		bleibt leben
Str. K Msch <sub>4</sub> (0,003 „)	„ „ 28 „	tot nach 23 Tagen	tot nach 5 $\frac{1}{2}$ Tagen
Str. K Msch <sub>4</sub> (0,005 „)	bleibt leben	bleibt leben	„ „ 10 „
Str. K Msch <sub>4</sub> (0,01 „)	„ „	„ „	„ „ 8 „

Aus den vorstehenden Versuchen ersieht man, daß die Meerschweinchenpassage des Str. K nicht, wie die beiden Mäusepassagen, zu einer Virulenzsteigerung, sondern zu einer Abschwächung führte, so daß nach der 4. Passage durch 0,002 ccm, also die zweifache tödliche Dosis der Originalkultur KO, das Kontrolltier nicht mehr sicher getötet wurde (vergl. den 7. Versuch). Es war schließlich notwendig, bis zur zehnfachen Dosis (0,01 ccm) zu steigen, und nach der 5. Passage blieben die Kontrolltiere bei noch höheren Dosen am Leben, so daß infolgedessen diese Versuchsreihe leider abgebrochen werden mußte.

Ferner ergibt sich aus diesen Versuchen, daß der Str. K bis zur 4. Meerschweinchenpassage deutlich von dem Immunserum der Originalkultur KO beeinflusst wurde. Allerdings war bei der 4. Passage diese Wirkung nicht mehr ganz sicher, da von den 6 Versuchen, welche mit dieser angestellt wurden, 4 positiv und 2 negativ ausfielen. Es muß also angenommen werden, daß nach der 4. Meerschweinchenpassage die menschenpathogenen Eigenschaften des Streptococcus zum großen Teil wohl noch erhalten, aber doch nicht mehr ganz unverändert waren. Zugleich aber reagierte diese Passage in 5 Versuchen prompt auf das Serum des Passagestamms S. Es ist hier also der merkwürdige Fall gegeben, daß sich bei einem Streptococcus die immunisierenden Substanzen der menschenpathogenen und die der Passageform zugleich finden. Wir haben hier augenscheinlich das Uebergangsstadium aus der ersten Form in die zweite vor uns.

Diese Versuche sind noch insofern von Interesse, als sie dartun, daß das Immunserum eines Sepsisstammes, des Str. S, sehr wohl im stande ist, gegen einen Scharlachstamm, den Str. K, zu schützen, also die immunisierenden Substanzen der Scharlachstämmen keineswegs fundamental verschieden sein können von denen der anderen Streptokokkenstämmen. Die pluralistische Auffassung, welche die Gattung Streptococcus in eine Vielheit von Rassen zerlegt und insbesondere die Scharlachstreptokokken von den anderen Stämmen absondert, findet also in diesen Versuchen ebensowenig eine Bestätigung wie in dem ersten Teil dieser Arbeit.

Im Anschluß an die vorhergehenden Versuche muß noch eine andere Frage kurz berührt werden, nämlich die Frage, in welcher Be-

ziehung die durch Tierpassagen hervorgerufene Virulenzsteigerung eines Streptokokkenstammes zu der Umwandlung seiner immunisierenden Substanzen aus der menschenpathogenen in die Passageform steht. A priori liegt die Annahme nahe, daß die Virulenzsteigerung durch die Umwandlung der immunisierenden Substanzen bedingt wird, oder daß diese letztere gar eine wesentliche Komponente des uns bisher noch dunklen Phänomens der Virulenzsteigerung bildet. In diesem Sinne hat sich auch Pfeiffer (7) ausgesprochen, indem er die Virulenzsteigerung der Streptokokken infolge von Kaninchenpassagen auf eine Hypertrophie der für die Kaninchenambozeptoren empfindlichen haptophoren Gruppen des Bakterienleibes zurückführte.

Diese Annahme ist durch die vorstehenden Versuche nicht bestätigt worden. Obwohl die Serie  $\beta$  eine deutliche, wenn auch mäßige Virulenzsteigerung des Str. K zeigte, waren trotz neunmaliger Mäusepassage die immunisierenden Substanzen in ihrer menschenpathogenen Form vollkommen erhalten geblieben. Dahingegen war es bei der Meerschweinchenpassage des Str. K, welche zu einer starken Abschwächung des Stammes führte, schon nach der 4. Passage zur Bildung von immunisierenden Substanzen der Passageform gekommen, während diejenigen der menschenpathogenen Form, obgleich noch deutlich nachweisbar, doch offenbar nicht mehr ganz unverändert waren. Hieraus ergibt sich, daß eine Virulenzsteigerung bei Tierpassagen sehr wohl ohne Umwandlung der immunisierenden Substanzen stattfinden kann, und daß andererseits die Umwandlung dieser Substanzen bei Passagen eintreten kann ohne Steigerung, ja sogar in Verbindung mit einer Abschwächung der Virulenz. Mit anderen Worten, die durch Tierpassagen erzielte Virulenzsteigerung des Streptococcus ist an und für sich unabhängig von der Umwandlung seiner immunisierenden Substanzen aus der menschenpathogenen in die Passageform. Daß schließlich wohl bei jeder Tierpassage, wenn dieselbe lange genug fortgeführt wird, eine Umwandlung des Streptococcus in die Passageform erfolgen wird, ist allerdings sehr wahrscheinlich, doch hat das mit der Virulenzsteigerung als solcher nichts zu tun. —

Nach den vorangegangenen Versuchen galt es nun, die Beweiskette zu schließen, also den direkten Nachweis dafür zu erbringen, daß bei denjenigen Tierpassagen, welche auf das Immenserum der Originalkultur KO reagiert hatten, in der Tat die immunisierenden Substanzen des Streptokokkenleibes trotz der Passagen noch in ihrer menschenpathogenen Form erhalten waren. Die Art der Beweisführung war ohne weiteres gegeben: es mußten mit den betreffenden Passagen Kaninchen immunisiert werden, und das Immenserum derselben war dann im Tierversuch darauf zu prüfen, ob es noch gegen die Originalkultur schützte oder nicht.

Zu diesem Zweck wählte ich die 2. Meerschweinchenpassage und die 9. Mäusepassage (Serie  $\beta$ ) des Str. K aus. Mit je einem dieser beiden Stämme wurde ein Kaninchen in der früher beschriebenen Weise immunisiert. Da das Tier, welches das Immenserum der Originalkultur KO lieferte, ein Albino war, so wurden zur Impfung mit jenen Passagen auch zwei Albinos verwendet, um jeden Einfluß von Rassenunterschieden bei der Immunisierung auszuschließen. Bei Beginn der folgenden Versuche war das Kaninchen, welches mit der Originalkultur KO immunisiert worden war, schon seit  $6\frac{1}{2}$  Monaten in Behandlung und hatte im

ganzen 3,3 ccm frischer Kultur während dieser Zeit intravenös erhalten; das Tier, welches mit der 2. Meerschweinchenpassage K behandelt wurde, war erst seit 2 Monaten immunisiert worden und hatte bisher nur 0,3 ccm frischer Kultur bekommen; dem 3. Kaninchen, welches mit der 9. Mäusepassage der Serie  $\beta$  geimpft wurde, und das auch erst seit 2 Monaten in Behandlung war, waren in dieser Zeit 0,4 ccm frischer Kultur injiziert worden.

Was die folgenden Versuche anbelangt, so muß noch bemerkt werden, daß nur bei dem ersten derselben wie bisher Immunserum und Streptokokken gleichzeitig an verschiedenen Körperstellen subkutan eingespritzt wurden. Bei allen anderen Versuchen wurden jetzt die Streptokokken intraperitoneal geimpft, um zu vermeiden, daß die Kontrolltiere am Leben blieben, wie das mehrere Male vorher geschehen war. Infolgedessen mußte das Immunserum, das, wie früher, subkutan gegeben wurde, schon Tags zuvor injiziert werden.

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier I (Immunserum der Originalkultur KO)	Versuchstier II (Immunserum der 2. Meerschweinchenpassage)	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. KO (0,002 ccm)	bleibt leben	bleibt leben	tot nach 4 $\frac{1}{2}$ Tagen
Str. KO (0,002 " )	tot nach 9 Tagen	" "	" vor 48 Stunden
Str. KO (0,005 " )	" " 4 "	" "	" " 24 "
Str. KO (0,005 " )	bleibt leben	" "	" nach 36 "
Str. KO (0,005 " )	" "	" "	" vor 24 "
Str. KO (0,005 " )	tot vor 48 Stunden	tot nach 10 Tagen	" " 24 "
Str. KO (0,005 " )	" nach 4 Tagen	" " 4 "	" " 24 "
Str. KO (0,005 " )	bleibt leben	bleibt leben	" nach 36 "
Str. KO (0,005 " )	" "	" "	" vor 48 "

Benennung und Dosis der injizierten Streptokokken	Versuchstier (Immunserum der 9. Mäusepassage $\beta$ )	Kontrolltier (1 ccm Normalserum)
Str. KO (0,005 ccm)	bleibt leben	tot vor 24 Stunden
Str. KO (0,005 " )	" "	" " 48 "
Str. KO (0,005 " )	" "	" " 24 "
Str. KO (0,005 " )	" "	" " 24 "
Str. KO (0,005 " )	" "	" nach 4 $\frac{1}{2}$ Tagen
Str. KO (0,005 " )	" "	" " 36 Stunden
Str. KO (0,005 " )	" "	" vor 48 "
Str. KO (0,005 " )	" "	" nach 21 Tagen
Str. KO (0,005 " )	" "	" " 4 "

Nach der jetzt allgemein herrschenden Anschauung, derzufolge die Streptokokken schon von der 1. Tierpassage an ihre menschenpathogenen Eigenschaften verlieren, hätte man erwarten müssen, daß gegen die Originalkultur KO am sichersten das Immunserum dieser Originalkultur schützen würde, etwas weniger sicher das Immunserum der 2. Meerschweinchenpassage, während die geringste Schutzwirkung das Serum der 9. Mäusepassage zeigen würde. Eine bedeutende Ueberlegenheit des Immunserums der Originalkultur KO über die beiden anderen Sera war auch schon deshalb wahrscheinlich, weil, wie bereits erwähnt, jenes Immuntier weit länger und intensiver behandelt wurde, als die 2 anderen Immuntiere.

Ein Blick auf die vorstehende Tabelle lehrt jedoch, daß genau das Gegenteil davon eingetreten ist. Von den 9 Tieren, welche mit dem



Immunserum der Originalkultur KO geimpft worden waren, blieben 5 am Leben und 4 starben, von denen, welchen das Immunserum der 2. Meerschweinchenpassage injiziert worden war, blieben 7 am Leben und 2 starben; die 9 Tiere, welche das Immunserum der 9. Mäusepassage erhalten hatten, blieben alle am Leben. Damit ist nicht nur der strikte Beweis dafür geliefert, daß nach der 2. Meerschweinchenpassage und nach der 9. Mäusepassage der Serie  $\beta$  die immunisierenden Substanzen des Streptococcus unverändert in der menschenpathogenen Form erhalten geblieben sind, sondern es ergibt sich daraus noch weiterhin, daß das immunisatorische Vermögen dieser beiden Passagen gegenüber der Originalkultur KO größer ist als das dieser Originalkultur selbst.

Bei der 9. Mäusepassage könnte man diesen merkwürdigen Befund durch die Virulenzsteigerung erklären; diese Erklärung läßt aber im Stich bei der Meerschweinchenpassage, die zu einer erheblichen Abschwächung des Stammes führte. Da eine Vermehrung der immunisierenden Substanzen von menschenpathogener Form im Tierkörper ausgeschlossen ist, so haben wahrscheinlich noch Faktoren anderer Art bei der Tierpassage einen Einfluß auf die immunisatorische Potenz der Streptokokken, infolgedessen ein Stamm, der durch Tiere geschickt worden ist, ein wirksameres Immunserum liefert als die Originalkultur. Welcher Art diese Faktoren sind, darüber lassen sich gegenwärtig nur Vermutungen anstellen. —

Aus diesen Untersuchungen sind für die Serumtherapie der menschlichen Streptokokkeninfektionen mehrere wichtige Schlußfolgerungen zu ziehen. Da, wie hier gezeigt wurde, die durch zahlreiche Tierpassagen hochvirulent gemachten Stämme immunisierende Substanzen anderer Art besitzen als die menschenpathogenen Streptokokken, so ist ohne weiteres klar, daß die mit solchen Passagestämmen hergestellten Immunsera, wie es die ersten Sera Marmoreks und Aronsons waren, für die Therapie des Menschen ungeeignet sind. Wenn daher die Forderung Taveis, nur mit menschenpathogenen Streptokokken zu immunisieren, theoretisch als berechtigt anerkannt werden muß, so ist damit jedoch das Problem, ein für den Menschen verwertbares Streptokokkenimmunserum zu gewinnen, noch keineswegs gelöst, im Gegenteil, es erwachsen nunmehr dieser Aufgabe neue, scheinbar unüberwindliche Schwierigkeiten.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde dargetan, daß die Wertigkeit eines Streptokokkenimmunserums bedingt wird durch die Stärke der Reaktionen des Immuntieres, und daß diese wieder abhängt 1) von der Virulenz des Stammes, mit dem immunisiert wird, 2) von der Spannung der nacheinander injizierten Dosen und 3) von der individuellen Empfänglichkeit des Immuntieres. Bekanntlich sind aber die direkt vom Menschen stammenden Streptokokken in der Regel gar nicht oder nur schwach virulent für Tiere. Die Ausnahmen sind selten, so daß es Autoren gibt, welche niemals einen menschenpathogenen Streptococcus gesehen haben, der von vornherein tiervirulent war, und daher das Vorkommen solcher Stämme überhaupt leugnen. Der Str. KO war der einzige, stärker tiervirulente unter einer sehr großen Anzahl menschenpathogener Stämme, welche ich auf ihre Virulenz prüfte. Diese wurden mir aus dem Untersuchungsmaterial des Züricher Hygiene-Instituts zur Verfügung gestellt, und sage ich Herrn Prof. Silberschmidt für die Förderung, die er dadurch meiner Arbeit erwies, sowie für das dauernde Inter-

esse, das er derselben entgegenbrachte, meinen verbindlichsten Dank. Ebenso danke ich Herrn Dr. Stäubli in Basel für die Ueberlassung des Stammes CO.

Im allgemeinen sind also die Autoren, welche nach Tavel's Vorschrift verfahren, in die Zwangslage versetzt, mit Material zu immunisieren, welches gar nicht oder nur schwach tiervirulent ist. In Anbetracht der Relation, welche zwischen dem Virulenzgrad des zur Immunisierung verwendeten Streptococcus und der Wertigkeit des mit ihm erzeugten Immunserums besteht, kann man von diesem Immunisierungsverfahren nur ein unwirksames oder höchstens ein schwach wirksames Immunserum erwarten. Derartige Sera können unmöglich dadurch wesentlich wirksamer werden, daß man, wie es gegenwärtig allgemein geschieht, ein Tier mit einer größeren Zahl von Stämmen immunisiert, denn, wenn man auch noch so viele Nullen addiert, so wird doch niemals eine Eins daraus.

In dieser Beziehung sind die hier angeführten Versuche mit den Immunsera der Originalkulturen C und K sehr lehrreich. Trotzdem diese beiden menschenpathogenen Stämme von vornherein tiervirulent waren, trotzdem gegen Streptokokken sehr empfindliche Tiere, wie es die Kaninchen sind, zur Immunisierung benützt wurden, trotzdem nach dem eingreifendsten Verfahren mit intravenösen Injektionen immunisiert wurde, war das Serum KO nach halbjähriger Behandlung des Immunieres noch so schwach, daß es im Tierversuch bei gleichzeitiger Impfung von Streptokokken und Serum nicht einmal gegen die einfache tödliche Dosis des eigenen Stammes vollständig schützte.

Das Immunserum CO, das später etwas stärker wurde als das Serum KO, war zunächst sogar ganz unwirksam gegenüber dem eigenen Stamm, obwohl das Immuntier seit 7 Monaten in Behandlung war und zuletzt 0,5 ccm frische Kultur intravenös erhalten hatte, auf die es nur schwach reagierte. Es wurde darauf das Serum in 3 Tierversuchen mit dem eigenen Stamm geprüft; alle 3 Versuche fielen negativ aus, indem bei einem Versuch beide Tiere gleichzeitig starben, während bei den 2 anderen das Kontrolltier das Versuchstier um mehrere Tage überlebte.

Um dieses Serum zu verstärken, mußten bei dem Immuntier stärkere Reaktionen ausgelöst werden. Es mußte daher einer der drei Faktoren, welche nach den oben gemachten Ausführungen den Grad der Reaktion bedingen, so beeinflußt werden, daß eine Verstärkung der Reaktion erfolgte. Die beiden ersten dieser Faktoren, nämlich die Virulenz des Streptococcus sowie die Spannung der Dosen, konnten hier nicht in Betracht kommen, da erstere ja nur durch Tierpassagen hätte gesteigert werden können, was gerade vermieden werden sollte, und da der Spannung der Dosen durch die unverhältnismäßige Größe der einzelnen Dosis enge Grenzen gesteckt waren. Es blieb also nichts anderes übrig, als eine Beeinflussung des dritten Faktors zu versuchen, nämlich eine Steigerung der Empfindlichkeit des Immuntieres.

Es war Wassermann (8) gelungen, die natürliche Resistenz von Meerschweinchen gegen die intraperitoneale Infektion mit Typhusbacillen herabzusetzen und die Tiere durch subletale Dosen dieser Mikroben zu töten, wenn er den Meerschweinchen gleichzeitig ein Antiserum, oder, wie er es nennt, ein Antikomplement injizierte, das er durch mehrwöchentliche Vorbehandlung von Kaninchen mit frischem Meerschweinchen serum gewonnen hatte. Ich versuchte nun, auf einem ähnlichen Wege zum Ziel zu kommen und die natürliche Widerstandsfähigkeit des

Immuntieres gegen den Str. CO vermittelt eines Antiserums momentan zu verringern. Zu diesem Zweck wurde allwöchentlich einem Kaninchen eine Injektion mit sterilisierter Aleuronataufschwemmung in die Pleura gemacht, 24 Stunden später das Tier getötet, und sogleich nach der Sektion das frische Pleuraexsudat des Kaninchens mehreren großen Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt. Nach 5-wöchentlicher Vorbehandlung wurden die Meerschweinchen getötet. Dann wurden von dem „Antikaninchenserum“ dieser Meerschweinchen 10 ccm dem Immuntier CO intraperitoneal injiziert, und sofort danach wieder 0,5 ccm Bouillonkultur des Str. CO, also die gleiche Dosis wie das letzte Mal, dem Tier intravenös gegeben. Während es vorher auf diese Dosis kaum reagiert hatte, magerte es nunmehr rapid ab und wurde nach 16 Tagen in moribundem Zustand getötet.

Die Sektion ergab das Bild der Streptokokkenkachexie, Blut und Organe waren steril; irgend welche besonderen Veränderungen in der Bauchhöhle, die etwa den Tod des Tieres hätten herbeiführen können, wie fibrinöse Peritonitis oder dergleichen, waren nicht zu finden. Jetzt wurde das Serum dieses Immuntieres von neuem geprüft und es zeigte sich, wie bereits oben erwähnt (vergl. die Tierversuche mit dem Immenserum CO), daß es nun bei gleichzeitiger Injektion von Streptokokken und Serum gegen die einfache tödliche Dosis des eigenen Stammes vollkommen schützte und noch gegenüber der vierfachen Dosis letalis deutlich wirksam war.

Das Antikaninchenserum wurde darauf noch bei 3 anderen Immuntieren angewendet, aber nicht mit demselben Erfolg. Von diesen 3 Tieren beobachtete ich nur bei einem eine deutliche Verstärkung der Reaktion durch jenes Serum, die aber auch nicht so stark wurde, daß sie zum Tode des Tieres führte, wie bei dem Immuntier CO.

Es wirkte also dieses Antiserum auf die Kaninchen sehr ungleichmäßig, und es ist daher fraglich, ob es gelingt, auf diesem Wege mit weniger virulenten Streptokokken ein wirksames Immenserum in der Mehrzahl der Fälle zu erzielen. Immerhin ist es vielleicht möglich, durch eine länger dauernde Vorbehandlung von Meerschweinchen oder auch durch Impfung einer anderen Tierart mit Kaninchenexsudat ein stärkeres Antiserum zu erhalten. Nach den Beobachtungen Wassermanns erscheint es aber jedenfalls ausgeschlossen, daß man etwa mit Hilfe eines solchen Antiserums bei den Immuntieren auch dann eine größere Reaktion auslösen könnte, wenn man zur Immunisierung Stämme benützt, die ganz avirulent für Tiere sind, wie das bei den weitaus meisten menschenpathogenen Streptokokken der Fall ist. Denn diese Antisera wirken resistenzvermindernd nur bei Infektionen mit solchen Mikroben, welche für die betreffende Tierspecies eine gewisse, wenn auch nur geringe, natürliche Pathogenität besitzen.

Ich habe diese Frage nicht weiter verfolgt, da meine Untersuchungen, wie oben gezeigt, zu dem Ergebnis führten, daß man Immenserum von weitaus größerer Schutzwirkung gegenüber menschenpathogenen Streptokokken gewinnt, wenn man zur Immunisierung nicht die Originalkulturen derselben, sondern solche Tierpassagen benützt, welche noch immunisierende Substanzen von menschenpathogener Form besitzen.

Mit Hilfe dieser Tierpassagen dürfte auch eine andere Frage ihrer Lösung näher geführt werden, nämlich die Frage, wie ein für den

Menschen bestimmtes Streptokokkenimmunserum im Tierversuch geprüft werden kann. Da gegenwärtig diese Antistreptokokkenserum allgemein mit nicht tiervirulenten Stämmen hergestellt werden, so haben die meisten Autoren auf eine Prüfung im Tierversuch überhaupt verzichtet. Daß dieser Standpunkt wissenschaftlich ganz unhaltbar ist, bedarf wohl keines Beweises. Es haben daher Aronson und Beredka (9) ihre Tiere außer mit menschenpathogenen Stämmen zugleich noch mit einem durch zahlreiche Passagen hochvirulent gemachten *Streptococcus* immunisiert, um ihre Antistreptokokkenserum im Tierversuch mit diesem Passagestamm prüfen zu können. Auch dieses Verfahren kann der Kritik nicht stand halten. Da die immunisierenden Substanzen solcher Passagestämme und diejenigen der menschenpathogenen Streptokokken durchaus verschieden sind, so ist der Nachweis, daß in einem Immunserum Schutzstoffe gegenüber einem Passagestamm vorhanden sind, vollständig ohne Bedeutung für die Frage, ob dieses Serum auch spezifische Antikörper für menschenpathogene Streptokokken enthält. Letzteres ist auch bei positivem Ausfall dieser Tierversuche um so unwahrscheinlicher, als die zur Immunisierung benützten menschenpathogenen Stämme infolge der mangelnden Tiervirulenz zur Bildung spezifischer Schutzstoffe unfähig sind.

Dagegen können Streptokokkenimmunsera, welche zur Behandlung des Menschen bestimmt sind, im Tierversuch auf kritisch einwandfreie Weise geprüft werden vermittlems solcher Tierpassagen, von denen man zuvor experimentell nachgewiesen hat, daß ihre immunisierenden Substanzen noch die menschenpathogene Form besitzen. Wie man das nachweisen kann, ist in dieser Arbeit gezeigt worden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Hauptsache folgende:

1) Monogene Streptokokkenimmunsera, welche mit einem durch zahlreiche Passagen hochvirulent gemachten Stamm hergestellt werden, sind multivalent gegenüber anderen Passagestämmen. Die pluralistische Auffassung van de Veldes kann daher nicht mehr aufrecht erhalten werden.

2) Auf die Immunsera dieser Passagestämme reagieren menschenpathogene Streptokokken nicht; es werden also die immunisierenden Substanzen der letzteren durch die Passagen verändert. In Anbetracht dessen muß die Forderung Tavel's, nur mit menschenpathogenen Stämmen zu immunisieren, theoretisch als begründet anerkannt werden.

3) Die Umwandlung der immunisierenden Substanzen des Streptokokkenleibes aus der menschenpathogenen in die Passageform erfolgt nicht sofort bei der 1. Tierpassage, sondern es waren in 1 Fall nach der 2. Passage, in 2 Fällen noch nach der 3., bei einer Serie sogar noch nach der 9. Passage die immunisierenden Substanzen von menschenpathogener Form experimentell nachzuweisen.

4) Immunsera, welche nach Tavel's Vorschrift durch Immunisierung mit direkt vom Menschen stammenden Streptokokken gewonnen wurden, erwiesen sich im Tierversuch als minderwertig, da sie nicht einmal im stande waren, gegen die einfache tödliche Dosis des eigenen Stammes mit Sicherheit zu schützen, obwohl die hier zur Immunisierung benützten menschenpathogenen Streptokokken ausnahmsweise tiervirulent waren, und obwohl nach dem eingreifendsten Verfahren, mit intravenösen Injektionen, immunisiert wurde. Es erscheint daher ausgeschlossen, daß man auf diesem Wege zu einem für den Menschen brauchbaren Strepto-

kokkenimmunserum gelangen wird, zumal die menschenpathogenen Streptokokken in der Regel nicht tiervirulent und deshalb unfähig sind, im Immuntier die Bildung spezifischer Antikörper auszulösen.

5) Dagegen waren solche Immunsera, welche mit Tierpassagen erzeugt wurden, deren immunisierende Substanzen noch die menschenpathogene Form bewahrt hatten, im Tierversuch fast sicher wirksam gegen direkt vom Menschen stammende Streptokokken und zeigten sich namentlich den mit letzteren selbst hergestellten Immunsera deutlich überlegen.

6) Es ist daher ein Streptococcus, welcher Tiere passiert hat, sehr wohl im stande, ein Immunserum zu liefern, das im Tierversuch gegen menschenpathogene Streptokokken schützt, vorausgesetzt, daß seine immunisierenden Substanzen ihre menschenpathogenen Eigenschaften nicht verloren haben.

#### Literatur.

- 1) Marmorek, Le streptocoque et le sérum antistreptococcique. (Annales de l'Institut Pasteur. T. IX. 1895.)
- 2) Aronson, Untersuchungen über Streptokokken und Antistreptokokkenserum. (Berl. klin. Wochenschr. Bd. XXXIX. 1902. No. 42, 43.)
- 3) van de Velde, H., De la nécessité d'un sérum antistreptococcique polyvalent etc. (Arch. de méd. expér. T. IX. 1897.)
- 4) Tavel u. Krumbein, Ueber Streptokokkenserumtherapie. (Korrespondenzbl. f. Schweiz. Aerzte. Bd. XXXI. 1901.)
- 5) Sommerfeld, Vergleichende Untersuchungen über Antistreptokokkenserum. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- 6) Neufeld, Ueber Immunität und Agglutination bei Streptokokken. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903.)
- 7) Pfeiffer, Zur Theorie der Virulenz. Festschrift für Koch. Jena 1903.
- 8) Wassermann, Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der natürlichen und künstlichen Immunität. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVII. 1901.)
- 9) Besredka, Le sérum antistreptococcique et son mode d'action. (Annal. de l'Inst. Past. T. XVIII. 1904.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber das Bindungsvermögen des Lyssavirus für rabizides Serum und die Natur der rabiciden Substanz.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institute in Wien. Vorstand:  
Prof. R. Paltauf.]

Von Privatdoz. Dr. E. Friedberger, Königsberg i. Pr., und Dr. M. v. Eisler.

Es ist bekannt, daß Bakterien und tierische Zellen (z. B. Erythrocyten) in vitro mit dem homologen Immunserum in gewisse gesetzmäßige Beziehungen treten, daß sie streng spezifisch die Immunkörper des Serums zu verankern vermögen. Die von Bordet gefundene Absorptionsmethode wurde auf dem Gebiete der Hämolysinforschung, vor allem durch die Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth, in der Bakteriologie durch die Arbeiten von Pfeiffer und Friedberger, Eisenberg und Volk, Friedberger und Moreschi u. A. mit Erfolg angewendet.

Die Methode ist nicht nur geeignet, gewisse Eigenschaften des Immunserums aufzudecken, sie offenbart uns auch durch dessen qualitative und

quantitative Beziehungen zu den Antigenen gewisse Eigenschaften der Antigenzellen, die wir auf keinem anderen Wege bis jetzt zu erschließen in der Lage sind.

Bereits 1889 haben Babes und Lepp (1) den Nachweis erbracht, daß im Serum mit Lyssavirus behandelter Tiere spezifische Schutzstoffe auftreten. Unsere Kenntnisse über die rabiziden Sera sind weiterhin durch Kraus, Keller und Clairmont (2), sowie durch Kraus und Kreissel (3) gefördert worden, die auch im Serum des immunisierten Menschen vom 22. Tage nach der letzten Impfung an rabizide Substanzen nachweisen konnten. Kraus und seine Mitarbeiter sind der Ansicht, die auch von Babes und Marx vertreten wird, „daß die Immunisierung mit dem Virus fixe in den bestehenden präventiven Impfungen gegen Cholera, Pest, Typhus etc. ihr Analogon findet.“

Durch Bindungsversuche hofften wir über die Natur der rabiziden Schutzstoffe weitere Aufklärung zu erhalten.

Derartige Versuche konnten uns aber zugleich Aufschlüsse über das Verhalten des Lyssaerregers (in Analogie mit den Ergebnissen der Absorptionsversuche bei Bakterien und Erythrocyten) liefern.

Die Tatsache, daß wir den Erreger der Krankheit nicht mit Sicherheit kennen (die Natur der Negrischen Körperchen ist ja unbeschadet der Konstanz ihres Vorkommens und ihrer konsekutiven hohen Bedeutung für die Diagnose noch nicht klargestellt) und nicht in Reinkultur anzuwenden vermögen, fällt dabei keineswegs erschwerend ins Gewicht, da wir im Zentralnervensystem des an Lyssa eingegangenen Tieres den Erreger sozusagen in einer Reinkultur vor uns haben.

Auch ist durch die diagnostische Impfung empfindlicher Tiere sein Nachweis leicht zu erbringen, und durch die Schwankungen in der Inkubation sind gewisse Veränderungen in seinem biologischen Verhalten leicht zu erschließen.

Merkwürdigerweise sind systematische Bindungsversuche bisher noch von keiner Seite unternommen. Nur Marie (4) berichtet kurz über einen Versuch, demzufolge das Serum gegen Lyssa immunisierter Tiere nach Kontakt mit dem Gehirn eines Lyssakaninchens (Virus fixe) in vitro seine rabizide Fähigkeit verliert, nicht aber nach Kontakt mit Normalkaninchengehirn.

Gerade bei der Lyssainfektion durften aber durch planmäßige Absorptionsversuche einige Aufschlüsse über die Natur des Lyssaschutzserums und des Lyssaerregers zu erwarten sein.

#### Methodik der Versuche.

##### 1) Methode der Absorption.

Abgewogene Quantitäten des zu den Absorptionsversuchen bestimmten und verschieden behandelten Virus (s. u.) wurden in gleichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit bestimmten Mengen des genau ausgewerteten Serums versetzt, und blieben nach Auffüllung auf das gleiche Volumen 18 Stunden in einem kühlen Raume stehen. Danach wurden die Emulsionen in einer Theleniusschen Zentrifuge ausgeschleudert und in der sorgfältig abgeheberten Flüssigkeit wurde der noch vorhandene Gehalt an rabizider Substanz bestimmt. Es geschah das in der Weise, daß fallende Mengen des abzentrifugierten Serums mit gleichen Mengen eines stets gleichmäßig bereiteten Virus versetzt und im Tierversuche ausgewertet wurden.

2) **Bereitung des Virus.**

Zur Herstellung einer homogenen Aufschwemmung des Lyssavirus, dessen Wichtigkeit für die Wertbestimmungen Kraus, Keller und Clairmont (2) besonders betonen, wurden wieder abgewogene Mengen des Zentralnervensystems an Lyssa eingegangener Tiere steril im Mörser mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben, bis auf 1:10 resp. 1:100 verdünnt und durch Papier filtriert. Da, wo durch den späteren Zusatz von größeren Serumdosern das filtrierte Virus eine weitere Verdünnung erfahren hätte, wurde von vornherein eine konzentriertere Virusaufschwemmung benutzt, die aber so bemessen war, daß nach Serumzusatz stets die gewünschte Konzentration resultierte.

Je 1 ccm der so gewonnenen gleichmäßigen Virusaufschwemmung wurde mit dem nativen rabiziden Serum resp. dem mit Virus zuvor ausgefallten Serum versetzt, auf gleiches Volumen aufgefüllt und 24 Stunden bei niederer Temperatur in Kontakt gelassen, alsdann erfolgte intracraniale Impfung an Kaninchen.

3) **Das zu den Versuchen benutzte Serum.**

Das zu unseren Versuchen ausschließlich benutzte rabizide Serum war vom einem Pferde „Euclid“ gewonnen, das längere Zeit mit Gehirn von lyssakranken Kaninchen (Virus fixe) vorbehandelt war. Die rabizide Wirkung dieses Serums gegenüber einer filtrierten Aufschwemmung von Virus fixe 1:100 ist aus der nachstehenden Tabelle I ersichtlich.

Tabelle I.

**Auswertung des rabiziden Serums Euclid.**

Das Gehirn eines an Virus fixe verendeten Kaninchens wird mit der 100-fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung fein verrieben und durch Papier filtriert. Je 1 ccm des so bereiteten Virus wird mit fallenden Mengen Euclidserum (0,05—0,001) versetzt, auf gleiches Volumen aufgefüllt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten. Danach subdurale Injektion der Mischung an Kaninchen. Impfung am 28. April 1907.

No. des Tieres	Menge des injizierten Euclidserums	Resultat der Impfung	
		Eintritt der Lyssasymptome	Tod des Tieres
443	0,05	?	† 1. Mai <sup>2)</sup>
497	0,05	∞ <sup>1)</sup>	
69	0,01	∞	
473	0,01	∞	
34	0,005	∞	
88	0,005	?	† 30. April
65	0,001	6. Mai	8. Mai
86	0,001	7. „	9. „
59	—	6. „	8. „

Es ergibt sich aus der Tabelle, daß das Euclidserum in einer Menge von 0,005 noch im stande ist, 1 ccm einer Virus fixe-Aufschwemmung 1:100 bei 24-stündigem Kontakt bei Zimmertemperatur zu neutralisieren.

Anhangsweise sei erwähnt, daß auch durch 1-stündige Erhitzung auf 56—60° die Wirksamkeit unseres Euclidserums nicht verloren geht, wie folgender Versuch beweist.

1) Bedeutet keine Lyssa eingetreten.

2) † bedeutet in der Inkubationszeit an einer anderen Affektion eingegangen.

Tabelle II.

Wirkung des auf 56° erhitzten Euclidserums.

1 ccm Virus fixe Aufschwemmung 1:100 durch Papier filtriert wird mit je 0,5 und 0,1 Serum Euclid, das 1 Stunde auf 56° erhitzt war, versetzt. 28-stündiger Kontakt bei Zimmertemperatur. Subdurale Injektion an Kaninchen. Am 15. März 1907.

No. des Tieres	Menge des Euclidserums 56°	Resultat der Impfung	
		Eintritt der Lyssasymptome	Tod des Tieres
490	0,05	∞	
492	0,01	?	† 21. März

## I. Absorptionsversuche.

## 1) Absorption durch normales Gehirn.

Tabelle III.

Einfluß normalen Gehirns auf das rabizide Serum Euclid.

Je 2 g Gehirn von normalen Kaninchen, Meerschweinchen, Huhn, Taube werden mit je 3 ccm phenolierter (1/2-proz.) physiologischer Kochsalzlösung und 1 ccm Serum Euclid im Mörser zerrieben, die Mischungen bleiben 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen. Die Flüssigkeiten werden von den 4 Gehirnen abzentrifugiert und fallende Mengen derselben enthaltend 0,1; 0,05; 0,01 Euclidserum werden je mit 1 ccm Virus fixe 1:100 durch Papier filtriert versetzt. Nach 24-stündigem Kontakt bei Zimmertemperatur subdurale Injektion an Kaninchen. Am 29. März.

No. des Tieres	Menge des Euclidserums	Das Euclidserum war vorher ausgefällt mit Normalhirn von	Resultat der Impfung	
			Eintritt der Lyssasymptome	Tod des Tieres
482	0,05	Kaninchen	∞	
481	0,01	do.	?	† 3. April
486	0,05	Meerschweinchen	∞	
484	0,01	do.	?	† 1. "
478	0,05	Huhn	∞	
485	0,01	do.	∞	
480	0,05	Taube	?	† 30. März
475	0,01	do.	∞	

Tabelle IV.

2 g normalen Kaninchengehirns werden mit 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben. 2 ccm dieser Emulsion werden mit 0,2 ccm Euclidserum versetzt und 6 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen gelassen. Die Flüssigkeit wird abzentrifugiert und je 0,1 des Zentrifugates = 0,01 Serum Euclid wird mit 1 ccm einer Aufschwemmung von Virus fixe 1:100 durch Papier filtriert versetzt; 18-stündiger Kontakt bei Zimmertemperatur; durch subdurale Injektion an Kaninchen. 3 Kontrolltiere erhalten die gleiche Aufschwemmung mit NaCl-Lösung an Stelle des Euclidserums. Am 23. Mai.

No. des Tieres	Menge des Euclidserums	Das Euclidserum war vorher ausgefällt mit	Resultat der Impfung	
			Eintritt der Lyssasymptome	Tod des Tieres
91	0,01	Normalkaninchenhirn	∞	
495	0,01	do.	∞	
487	0,01	do.	∞	
135	0,01	do.	?	† 28. Mai } ohne Lyssa
178	0,01	do.	?	† 28. " }
2	—	—	?	† 30. " " "
21	—	—	31. Mai	2. Juni
481	—	—	30. "	1. Juli

Weitere Versuche über Bindung durch Normalhirn des Kaninchens siehe Tab. V.



Ehe wir daran gingen, den Einfluß verschieden behandelten Virus auf das austitrierte Euclidserum zu erforschen, war es notwendig, zu untersuchen, wie sich das Serum gegenüber normalem Gehirn verhielt.

Zu dem Zwecke wurden die beiden vorstehenden Versuchsreihen an- gestellt.

Es ergibt sich, daß weder das normale Gehirn des lyssaempfindlichen Kaninchens und Meerschweinchens noch das des wenig empfänglichen Huhnes und der un- empfänglichen Taube im stande ist, aus dem Immunserum nachweislich rabizide Substanz zu absorbieren.

2) Absortion durch Lyssavirus, das auf verschieden hohe Temperatur erwärmt ist.

a) Virus fixe.

Tabelle V.

Bindungsfähigkeit des erwärmten Virus fixe-Gehirns.

2 g Gehirn eines an Virus fixe-Infektion eingegangenen Kaninchens werden in 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben. Von dieser Emulsion werden 2 ccm (= 0,5 Gehirn) 1 Stunde auf 60° erwärmt, 2 ccm 1/4 Stunde gekocht und 2 ccm unbehandelt gelassen; danach Zusatz von 0,2 Euclidserum. Ebenso werden 2 ccm einer Emulsion enthaltend 0,5 Normalkaninchenhirn mit 0,2 Euclidserum versetzt; 6-stündiger Kontakt bei Zimmertemperatur; danach Abzentrifugieren der Flüssigkeiten. Von den abzentrifugierten Flüssigkeiten werden je 0,5 und 0,1 ccm (= 0,05 und 0,01 Euclidserum) zu je 1,0 einer Aufschwemmung von Virus fixe 1 : 75 durch Papier filtriert zugesetzt. Alle Röhrcchen auf gleiches Volumen aufgefüllt bleiben 24 Stunden bei Zimmer- temperatur stehen; danach subdurale Infektion von Kaninchen (2 Kontrolltiere erhalten Virus allein). Am 24. April.

No. des Tieres	Menge des Euclidserums	Das Euclidserum war vorher ausgefällt mit	Resultat der Impfung	
			Eintritt der Lyssasymptome	Tod des Tieres
224	0,05	Normalkaninchenhirn	∞	
452	0,01	do.	∞	
334	0,01	do.	∞	
484	0,05	Virus fixe Hirn 100°	∞	
101	0,01	do.	∞	
102	0,01	do.	∞	
94	0,05	Virus fixe Hirn 60°	∞	
498	0,01	do.	3. Mai	5. Mai
86	0,01	do.	3. "	5. "
382	0,05	Virus fixe Hirn unerhitzt	3. "	5. "
14	0,01	do.	2. "	4. "
274	0,01	do.	?	27. April
22	—	—	3. Mai	5. Mai
38	—	—	2. "	4. "

Aus dieser Versuchsreihe ergibt sich in Uebereinstimmung mit den Versuchen, die in Tabelle III und IV niedergelegt sind, daß normales Kaninchenhirn nicht bindet, daß dagegen das Lyssagehirn in der Menge von 0,5 g sicher 30 schützende Dosen unseres rabiziden Serums zu absorbieren vermag. Durch 1-stündiges Erwärmen auf 60° nimmt die bindende Fähigkeit des Lyssavirus ab, durch Erwärmen auf 100° wird sie völlig vernichtet.

Diese Resultate einer verminderten Bindungsfähigkeit gehen mit den Ergebnissen der Untersuchungen über die Abnahme der Infektiosität durch Erwärmen bis zu einem gewissen Grade parallel. Während aber bereits 40 Minuten langes Erwärmen auf 58° und nur 10 Minuten langes

Erwärmen auf 60° die Virulenz gänzlich vernichtet (Högyes, Roux, Babes, Puscarin), ist die Bindungsfähigkeit selbst bei 1-stündigem Erhitzen auf 60° nur unbedeutend gemindert. Auch der immunisierende Effekt ist bei einer derartigen noch bindenden Emulsion wohl erhalten, wie die Erfolge der Impfungsmethode Babes-Puscarin (4) sowie Puscarin und Vesesco (6) dartun. Das auf 100° erhitzte Virus, das seine Bindungsfähigkeit völlig verloren hat, wirkt auch kaum mehr immunisierend, da nach Versuchen von Puscarin und Vesesco die Immunisierung mit auf 80° erhitztem Virus fixe schon unsichere Resultate liefert.

In dem Verhalten der Absorptionfähigkeit gegenüber höheren Temperaturen unterscheidet sich das Lyssavirus wesentlich von Bakterien, deren Bindungsfähigkeit selbst durch Erhitzen auf 100° nicht erlischt, nach Scheller sogar für die Agglutinine bei Typhus erhöht ist.

Ebenso wie Lyssagehirn verhält sich das frische Rückenmark vom Lyssakaninchen bei der Erwärmung, wie sich aus der folgenden Tabelle ergibt.

Tabelle VI.

Bindungsfähigkeit des erwärmten und unerwärmten Virus fixe-Gehirns und Rückenmarks.

Je 2mal 0,5 g frischen Gehirns eines an Virus fixe eingegangenen Kaninchens und 2mal die gleiche Menge Rückenmark werden mit je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben. Je 1 Portion der Rückenmark- und Gehirnaufschwemmung wird 1 Stunde auf 60° erhitzt. In alle 4 Aufschwemmungen kommt je 0,2 Euclidserum. Nach 7-stündigem Kontakt bei Zimmertemperatur wird abzentrifugiert und von der abzentrifugierten Flüssigkeit werden je 0,5 und 0,1 (= 0,05 und 0,01) ccm mit je 1 ccm einer frischen Aufschwemmung von Virus fixe 1:75, durch Papier filtriert, versetzt und auf gleiches Volumen aufgefüllt. Alle Röhren nebst Kontrollen mit Virus fixe 1:75 und Kochsalzlösung stark abzentrifugiertes Euclidserum bleiben 24 Stunden bei Zimmertemperatur; danach subdurale Injektion von Kaninchen am 16. April.

No. des Tieres	Menge des Euclidserums	Das Euclidserum war zuvor ausgefällt mit	Resultat der Impfung	
			Eintritt der Lyssa-symptome	Tod des Tieres
482	0,01	Virus fixe-Gehirn unerhitzt	25. April	27. April
18	0,05	do.	26. "	28. "
220	0,01	Virus fixe-Gehirn 60°	25. "	27. "
477	0,05	do.	∞	
497	0,01	Rückenmark unerhitzt	25. April	27. "
242	0,05	do.	?	† 27. "
173	0,01	Rückenmark 60°	26. April	28. "
188	0,05	do.	∞	
369	—	—	25. April	27. April
51	—	—	?	† 19. "

Wie man aus dem Verhalten des Tieres 242 schließen kann und dem etwas verzögerten Eintritt der Symptome und des Exitus bei Tier 173 gegenüber 220, erscheint die bindende Kraft des Rückenmarks geringer zu sein als die des Gehirns; das entspräche ganz den allgemeinen durch Impfversuche gewonnenen Vorstellungen über die quantitative Verteilung des Virus im Zentralnervensystem und tritt auch in später zu besprechenden Versuchen noch deutlicher hervor.

b) Straßenvirus.

Da uns darum zu tun war, die zusammengehörigen Bindungsversuche mit Virus von ein und derselben Tierspecies durchzuführen, so verwandten

wir als Straßenvirus nicht Hirn eines natürlich infizierten Hundes, sondern die aus diesem gewonnene erste Kaninchenpassage.

Tabelle VII.

Bindungsfähigkeit des erwärmten Straßenvirusgehirns (Kaninchen)<sup>1)</sup>.

Versuchsordnung wie in Tabelle V; nur wurde als Virus nicht Gehirn 1:75, sondern  $\frac{1}{100}$  durch Papier filtriert benutzt. Subdurale Injektion von Kaninchen am 25. April.

No. des Tieres	Menge des Euclidserums	Das Euclidserum war zuvor ausgefällt mit	Resultat der Impfung	
			Eintritt der Lyssa-symptome	Tod des Tieres
94	0,05	Straßenkaninchenhirn 100°	∞	
114	0,01	do.	∞	
56	0,01	do.	∞	
445	0,05	Straßenkaninchenhirn 60°	∞	
433	0,01	do.	3. Mai	4. Mai
39	0,01	do.	4. "	6. "
84	0,05	natives Straßenkaninchenhirn	3. "	5. "
27	0,01	do.	5. "	7. "
411	0,01	do.	3. "	5. "
Kontrollen				
443	—	—	3. "	5. "
113	—	—	3. "	5. "

Es ergibt sich, daß das Straßenvirus unerhitzt und erhitzt die gleiche bindende Kraft besitzt wie das Virus fixe.

Wenn im Virus fixe-Gehirn wesentlich mehr oder mit stärkerer Affinität begabte Erreger vorhanden wären als im Straßehirn (resp. der ersten Kaninchenpassage), so müßte diese Differenz in einer Verschiedenheit der Bindungskraft zum Ausdruck kommen.

Die Versuche geben wenigstens für einen ausgesprochenen Unterschied keinen Anhalt, sind aber wohl vereinbar mit den Befunden von Kraus, Keller und Clairmont (2), wonach die höhere Infektiosität des Virus fixe beim Kaninchen im wesentlichen die Folge einer intensiveren Ausbreitungsfähigkeit des Virus ist.

3) Absorption durch getrocknetes Lyssavirus verschiedenen Alters.

Mit Rücksicht auf das Pasteursche Impfschema, das ja mit der Immunisierung durch relativ altes getrocknetes Mark beginnt, war es von Interesse, auch die Bindungsfähigkeit eines derartigen älteren Virus im Vergleich mit frischem Mark zu untersuchen.

Schon Frisch (7) hat die antigene Fähigkeit älter getrockneten Markes gelegnet, jedoch kommt seinem Versuche, wie das Paltauf (8) dargetan hat, eine Beweiskraft nicht zu. Aber auch Högyes schlägt die immunisierende Kraft des getrockneten Virus gering an, und wir sehen ganz allgemein bei der Gestaltung der Impfschemata im Laufe der Zeit die Tendenz sich entwickeln, möglichst kurz bei dem getrockneten Impfstoff zu verweilen und möglichst schnell zum virulenten Material überzugehen (vergl. z. B. die Schemata von Marx, Babes, Bujwid u. s. w.), ein Vorgehen, das in der Methode Ferrans (direkte

1) Das zur Ausfällung benutzte Gehirn stammte von einem mit Straßenvirus geimpften und an Straßenvirus eingegangenen Kaninchen.

Verwendung unveränderten Virus fixe, uns in seiner extremsten Form entgegentritt. Nach den Untersuchungen von Marx (9), Kraus, Keller, Clairmont (2) und vor allem nach dem Selbstversuch von Nitsch (10) entbehrt auch dieses stärkste Schema nicht der Berechtigung.

Wie verhält sich nun die bindende Kraft alten getrockneten Markes im Vergleich zu frischem?

Tabelle VIII.

Bindungsfähigkeit des frischen und getrockneten Virus fixe.

1,2 g frischen Rückenmarks eines an Virus fixe-Infektion eingegangenen Kaninchens und entsprechend lange Stücke eines 3 resp. 9 Tage über Chlorcalcium im Dunkeln getrockneten Virus fixe-Kaninchenmarkes werden mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben; zu jeder Emulsion kommt 0,4 ccm Euclidserum (in 2 Portionen zu 0,2 nacheinander zugesetzt); 24-stündiger Kontakt bei Zimmertemperatur im Dunkeln; danach Zentrifugieren. Von den abzentrifugierten Flüssigkeiten werden Mengen, die 0,05 und 0,01 Euclidserum entsprechen, mit je 1 ccm einer Aufschwemmung Virus fixe  $\frac{1}{100}$  durch Papier filtriert, versetzt. Alle Röhren auf gleiches Volumen aufgefüllt (in 2 Röhren Virus mit Kochsalzlösung statt Euclidserum), bleiben 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen; danach subdurale Injektion von Kaninchen am 13. April.

No. des Tieres	Menge des Euclidserums	Das Euclidserum war zuvor ausgefüllt mit	Resultat der Impfung	
			Eintritt der Lyssa-symptome	Tod des Tieres
47	0,05	Rückenmark V. fixe 9 Tge alt	$\infty$	
474	0,01	do.	$\infty$	
477	0,05	Rückenmark V. fixe 3 Tge alt	$\infty$	
382	0,01	do.	21. April	24. April
82	0,05	Rückenmark V. fixe frisch	$\infty$	
22	0,01	do.	21. April	23. „
Kontrollen				
40	—	—	20. „	22. „
498	—	—	21. „	24. „

Es ergibt sich, daß eine 3-tägige Trocknung die Bindungskraft des Markes nicht nachweislich herabsetzt, daß aber 9-tägiges Mark keine rabizide Substanz aus unserem Serum mehr zu verankern vermag.

In dieser Versuchsreihe tritt zugleich, wie bereits erwähnt, im Vergleich z. B. mit Tabelle VI die bedeutende Verringerung der Bindungskraft des Rückenmarks gegenüber Gehirn zutage, indem 0,05 Serum durch die entsprechende Menge Gehirn, nicht aber durch frisches resp. 3-tägiges Rückenmark neutralisierbar ist (cf. No. 477 und 82 gegen 84 [Tab. VII] und 382 [Tab. V]). Das entspricht, wie schon oben betont, unseren Kenntnissen über den geringen Gehalt des Rückenmarkes an Virus im Vergleich zum Gehirn, auf den jüngst wieder Nitsch hingewiesen hat.

Auch in Bezug auf die starke Austrocknung ebenso wie in Bezug auf den Einfluß hoher Temperaturen unterscheidet sich also der Lyssaerreger wesentlich bezüglich seines Bindungsvermögens von den Bakterien. Im Exsiccator getrocknete Bakterien haben ihre Bindungsfähigkeit bewahrt.

## II. Die quantitativen Beziehungen zwischen Virus und Serumengen.

Nachdem wir durch die Versuche, die in Tabelle I niedergelegt sind, die neutralisierende Minimaldosis des rabiziden Serums „Euclid“ für eine bestimmte Virusdosis (1 ccm Virus fixe  $\frac{1}{100}$  durch Papier filtriert) ermittelt hatten, war es uns interessant, zu prüfen, inwieweit bei ent-

sprechender Vermehrung der Virusmenge und der Serummenge die Neutralisation statt hat; das Verhalten gegenüber dem „Gesetz der Multipla“ war für die Natur der Wirkung des Lyssaserums von ausschlaggebender Bedeutung.

Handelt es sich, wie wir aus den Bindungsversuchen bereits in Uebereinstimmung mit anderen Autoren schließen zu dürfen glaubten, um ein Serum nach Art und Charakter der bakteriziden Sera im Sinne R. Pfeiffers, so durften Multipla der Serumdosen nur in engsten Grenzen gegenüber entsprechenden Multiplis des Virus schützen.

Wir gingen bei der Dosierung in den Versuchen zur Entscheidung dieser Frage nicht so vor, daß wir die Multipla der Virusgrunddosis mit einfachen Multiplis der Serumdosis versetzten, sondern wir wählten von vornherein die doppelte Serumdosis, um vor Irrtümern geschützt zu sein, wie sie durch unvollkommene Neutralisation des Virus bei der einfachen Dosis und Summierung dieses Restes zu letalen Mengen bei Verwendung von Multiplis zu stande kommen.

Tabelle IX.

Die quantitativen Beziehungen zwischen Lyssavirus und rabizidem Serum.

Es werden die folgenden Mischungen von Virus fixe durch Papier filtriert und rabizidem Serum Euclid zugesetzt.

1 ccm Virus fixe 1:50 = 0,02 g Gehirn + 0,01 ccm Serum Euclid  
 1 „ „ „ 1:20 = 0,05 „ „ + 0,05 „ „ „  
 1 „ „ „ 1:5 = 0,2 „ „ + 0,2 „ „ „

Die Mischungen bleiben 24 Stunden bei Zimmertemperatur, danach subdurale Infektion von Kaninchen. Am 25. April.

No. des Tieres	Dosis des Euclidserums	Dosis des Virus	Resultat der Impfung	
			Beginn der Lyssasymptome	Tod des Tieres
24	0,02	0,02 g	∞	
361	0,02	0,02 „	∞	
270	0,05	0,05 „	4. Mai	5. Mai
480	0,05	0,05 „	?	+ 26. April
492	0,2	0,2 „	3. Mai	5. Mai
408	0,2	0,2 „	3. „	6. „

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß für die Beziehungen zwischen rabizidem Serum und Lyssavirus das Gesetz der Multipla nicht gilt.

Dies tritt auch deutlich in der folgenden Tabelle zu Tage.

Tabelle X.

Je 1 ccm Virus fixe, 1:10 durch Papier filtriert, wird mit Dosen von 1,0 bis 0,1 ccm Euclidserum versetzt auf 2 ccm aufgefüllt; 24-stündiger Kontakt bei Zimmertemperatur, danach subdurale Injektion an Kaninchen. Am 23. April.

No. des Tieres	Dosis des Euclidserums	Dosis des Virus 1 ccm	Resultat der Impfung	
			Beginn der Lyssasymptome	Eintritt des Todes
469	1,0	1:10	?	+ 27. April
409	1,0	1:10	5. Mai	7. Mai
104	0,5	1:10	?	+ 28. April
53	0,5	1:10	4. Mai	6. Mai
100	0,1	1:10	4. „	7. „
382	0,1	1:10	4. „	6. „

### III. Das Verhalten des Virusserumgemisches im Körper des Huhnes.

Wenn nun das Lyssaserum nach Art der bakteriziden Sera wirken sollte, so durften wir per analogiam annehmen, daß bei der Wirkung der Mischung Virus—Antiserum im Organismus noch ein Komplement hinzutrete, um die endgültige Zerstörung des mit der rabiziden Substanz verankerten Virus zu bewerkstelligen. Ein direkter Nachweis des Komplements war wohl kaum zu erbringen; wir glaubten aber durch folgende Ueberlegung der Frage näher kommen zu können. Aus den Untersuchungen von Wechsberg (11) über bakterizide Sera gegenüber v. Metschnikoff wissen wir, daß das Immunserum eines Kaninchens bei der Taube versagt, wie Wechsberg annimmt, und wie es durch die Untersuchungen Moreschis über die Unterschiede zwischen Vogel- und Säugerkomplementen sehr wahrscheinlich geworden ist, deshalb, weil die Taube kein passendes Komplement hat.

Wenn die Verhältnisse für Lyssa analog lägen, so dürfte unsere Mischung Virus—Euclidserum bei einem empfindlichen Vogel noch Lyssa erzeugen (obwohl nach Untersuchungen von Kraus Vögel gegenüber Lyssa viel weniger empfänglich sind als Säuger), weil der Immunkörper des Antilyssaserums im Kaninchenorganismus, nicht aber bei dem Vogel ein passendes Komplement findet.

Ein entsprechender Ausfall des Versuches hätte zwar die Rolle eines Komplementes bei dem erwähnten Prozeß nicht sicher erschlossen, aber doch sehr wahrscheinlich gemacht.

Wir wählten zu den Versuchen junge Hühner und benutzten entsprechend ihrer geringen Empfindlichkeit für Lyssa eine konzentriertere Virusaufschwemmung (1 : 10).

Tabelle XI.

Je 1 ccm Virus fixe 1:10, durch Papier filtriert, wird mit Dosen von 1,0 bis 0,1 ccm Euclidserum versetzt und auf 2 ccm aufgefüllt: 24-stündiger Kontakt bei Zimmertemperatur, hierauf subdurale Injektionen an Hühnern. Am 23. April.

Bezeichnung des Tieres	Dosis des Euclidserums	Dosis des Virus 1 ccm	Resultat
Schwarzes Huhn	1,0	1:10	Lyssa 24. Mai
Schwarzes Huhn rechter Flügel gestutzt	1,0	1:10	∞
Schwarzes Huhn linker Flügel gestutzt	0,5	1:10	Lyssa 2. Juni
Rotes Huhn	0,5	1:10	† ohne Lyssa 26. April
Graues Huhn	0,1	1:10	Lyssa 20. Mai
Graues Huhn rechter Flügel gestutzt	—	1:10	Lyssa 22. Mai

Die Versuche sind nicht ganz eindeutig. Die Tatsache jedoch, daß beim schwarzen Huhn die große Menge des Serums (1,0) trotz der geringen Empfänglichkeit der Hühner für Lyssa keinen Schutz verlieh, ist vielleicht in dem oben auseinandergesetzten Sinne zu deuten, daß in der Tat der Schutz deshalb ausblieb, weil das Lyssäpferdeserum im Hühnerorganismus kein passendes Komplement fand.

**Literatur.**

- 1) Annal. Pasteur. 1889.
- 2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. 1902.
- 3) Centralbl. Bakt. Bd. XXXII. 1902.
- 4) Annal. Pasteur. 1905. No. 1.
- 5) Annal. Pasteur. 1889.
- 6) Annal. Pasteur. 1895.
- 7) Kais. Akad. d. Wissenschaft. 1886 und Wien. med. Presse. 1886.
- 8) Hyg. Rundschau. 1895.
- 9) Deutsch. med. Wochenschr. 1899.
- 10) Wien. klin. Wochenschr. 1904.
- 11) Wien. klin. Wochenschr. 1902.

*Nachdruck verboten.***Ueber die Kultur der Gonokokken.**

[Aus dem Hygienischen Institut der Kaiserlich japanischen Universität zu Kyoto. Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita.]

Von Dr. med. **Nakao Abe.**

Der erste, dem eine Kultur des von Neisser als spezifisch pathogen erkannten *Gonococcus* gelang, war Bumm (1). Er verwendete als Nährboden erstarrtes menschliches Blutserum. Dieses Kulturverfahren konnte sich jedoch eine allgemeinere Anwendung, besonders für die Zwecke der Praxis, nicht erwerben; letzteres war erst bei dem Verfahren von Wertheim (2) möglich. Dieser Forscher verwendete statt des reinen Serums eine Mischung von Peptonagar und menschlichem Serum im Verhältnis von 2:1, und in der Tat ist das Wachstum der Gonokokken auf diesem Serumagar ein sehr zuverlässiges und charakteristisches. Der *Gonococcus* bedarf für sein Fortkommen auf künstlichen Nährböden der Peptone; aus diesem Grunde ist die Mischung von einem peptonhaltigen Medium mit Serum ein viel besserer Boden für ihn als das nur sehr wenig Pepton enthaltende Serum allein. Diese Mischung bietet für die Gonokokken nicht nur die besten Wachstumsbedingungen, sondern läßt auch ein vorzügliches Erstarren zu. Die Untersuchungen von Steinschneider (3), Menge und Kiefer (4) haben später ergeben, daß an Stelle des menschlichen Blutserums auch andere seröse Flüssigkeiten des Menschen, speziell Hydroceleninhalt, Cystenflüssigkeit, und Ascites- und Hydrothoraxflüssigkeit, mit Erfolg angewendet werden können. Da diese Flüssigkeiten meist viel leichter als Blutserum beschafft werden können, bietet ihre Verwendung große Vorteile. Allerdings haben derartige Flüssigkeiten keine so konstante Zusammensetzung wie das Blutserum; speziell ihr Eiweißgehalt schwankt nicht unerheblich, aber auch bei genügendem Eiweißgehalt kommt es bisweilen vor, daß sich einzelne derartige Flüssigkeiten aus unbekanntem Ursachen weniger gut als andere für Gonokokkenkulturen eignen. Man muß eine solche Flüssigkeit daher immer erst auf ihre Brauchbarkeit zu Gonokokkenzüchtungen prüfen, ehe man sie in toto zu Gonokokkennährböden verarbeitet und diese zu diagnostischen und biologischen Zwecken verwendet. Mannigfach sind die Versuche gewesen, das Wertheimsche Kulturverfahren zu verbessern und zu vereinfachen.

Erste Abt. Orig. Bd. XLIV.

Heft 7.

45

Zunächst hat Kiefer (4) empfohlen, den Agargehalt des Fleischwasserpeptonagar, welches mit dem Serum gemischt werden soll, auf 3—4 Proz. zu erhöhen, um eine bessere Konsistenz des Nährbodens zu erzielen. Das Wachstum der Gonokokken ist aber nach Bums und Wertheimers Angaben um so besser, je weicher und feuchter der Nährboden ist. Im allgemeinen genügt die Festigkeit des Wertheimschen Nährbodens vollständig, und seine größere Feuchtigkeit begünstigt entschieden das Wachstum der Gonokokken, während der Kiefersche Agar im Brutschrank leicht zu trocken und dadurch für Gonokokkulturen unbrauchbar wird.

Schäffer (5) hat empfohlen, den Fleischwasseragar durch Milzagar zu ersetzen, welcher im übrigen in gleicher Weise wie der Fleischwasseragar hergestellt und dann mit Serum vermischt wird. Auf derartigem Serummilzagar wachsen die Gonokokken in der Tat oft noch etwas üppiger, gehen dafür allerdings auch rascher zu Grunde.

Die vielfachen Bemühungen, einen brauchbaren Ersatz für die oft schwer zu beschaffende, seröse Exsudatflüssigkeit vom Menschen zu finden, haben bis heute teils vollständig befriedigende, teils ungenügende Resultate ergeben. Steinschneider (6) hat versucht, das menschliche Serum durch tierisches zu ersetzen; er erhitzt das tierische Serum  $\frac{1}{2}$  Stunde lang auf  $55^{\circ}$  R., um es seiner baktericiden Wirkung zu berauben, und erhält so angeblich gute Resultate; andere Autoren, z. B. Wertheim, Scholtz (7) haben jedoch mit dieser Methode kaum bessere Resultate erzielt.

Abel (8) hat das Pfeiffersche Blutagar zur Gonokokkukultur empfohlen. Dieser Nährboden hat den großen Vorteil, jederzeit sofort leicht herstellbar zu sein; aber auch auf ihm ist das Wachstum der Gonokokken spärlich und unzuverlässig, und nur bei relativ reichem Gehalt des Impfmateri als an Gonokokken und fast völliger Abwesenheit fremder Keime kann man auf positive Resultate rechnen.

Král (9) hat das Saccharoseagar mit Rinderblutserum zur Gonokokkenisolierung empfohlen.

Ferner wurden empfohlen für Gonokokkenzüchtung von Schrötter und Winkler (10) Kiebitzeiagar, von Christmas (11) koaguliertes Kaninchenserum, von M. Seé Kaninchenblutagar.

Das von Steinschneider empfohlene Eidotteragar hat sich für Gonokokkenzüchtungen nach unserer Beobachtung gut bewährt.

Harnagar (ein Teil Harn auf zwei Teile Fleischwasserpeptonagar — 2 Proz. Agar, 1 Proz. Pepton —), auf welchem Finger (12) in einigen Fällen Gonokokken zu züchten vermochte, scheint mir ungeeignet zu sein.

Der von Wassermann (13) angegebene Schweineserum-Nutroseagar ist für manche Fälle empfehlenswert. Der wesentlichste Vorteil dieses Nährbodens liegt nach Wassermann darin, daß die Gerinnungsfähigkeit des Serums durch Nutrosezusatz aufgehoben wird und infolgedessen das Serum nun beliebig lange durch Kochen sterilisiert werden kann.

Im Jahre 1900 hat Thalmann (14) einen einfachen Nährboden für Gonokokken mitgeteilt. Während man vor Thalmann auf die feinere Reaktion der Nährböden nicht allzugroßes Gewicht gelegt hat, da der Gonococcus auf Serumagar bei schwach saurer und schwach alkalischer Reaktion fast gleich gut gedeiht, betont Thalmann die Wichtigkeit eines ganz bestimmten Säuregrades für das gute Wachstum des Gonococcus, besonders auf einfachem Fleischwasseragar. Das beste Wachstum erzielt Thalmann, wenn er saures Fleischwasseragar, das nach den



Angaben von Weise hergestellt worden ist, mit  $\frac{2}{3}$  der zur Neutralisierung (Phenolphthalein!) nötigen Natronlösung versetzt. Zum Zwecke der Weiterzüchtung empfiehlt Thalmann eine Mischung von gleichen Teilen Schweineblutserum und  $\frac{2}{3}$  neutralisierter Fleischwasserbouillon, welche durch Erhitzen auf  $70^{\circ}$  in Platten oder Röhrchen zum Erstarren gebracht wird. Auf diesem koagulierten Fleischwasserschweineserum sollen die Gonokokkenkulturen bereits nach 16 Stunden makroskopisch sichtbar sein. Versuche von Meyer (15) haben bei frischen männlichen Gonorrhöen meist recht gute Resultate ergeben; — alle Fälle sind nicht untersucht worden. Eine Uebertragung der Kultur auf ein zweites Thalmann-Röhrchen ist meist mißlungen. In einer methodischen Untersuchung von Bärmann (15) wurde gefunden, daß Thalmannscher Agar vor gewöhnlichem Agar keinen Vorzug besitzt, und daß der aufgestrichene Eiter bezüglich des Nährwertes maßgebend ist. Nach Neisser und Scholtz (17) wächst der Gonococcus auf Thalmannischem Nährboden sehr kümmerlich; beide Autoren halten ihn zu diagnostischen Zwecken sowie zur Fortzüchtung von Gonokokkenkulturen für vollkommen unbrauchbar. Dagegen wollen Ströhmberg, Brougersma und Van de Velde (18) glänzende Resultate gehabt haben.

Ich habe alle oben beschriebenen Nährböden und noch eine große Reihe anderer auf ihre Brauchbarkeit zur Züchtung von Gonokokkenkulturen geprüft und bin zu dem Resultat gekommen, daß der Gonococcus auf allen den Nährböden genügend sicher wächst, welche, den ersten Angaben Wertheims entsprechend, unkoaguliertes Serumalbumin sowie Pepton enthalten. Indessen solange wir sterilen menschlichen Serumalbumins zu diesem Kulturverfahren bedürfen, wird die Gonokokkenkultur immer nur mehr oder weniger ein Laboratoriumsverfahren bleiben, und die Mehrzahl der Praktiker dürfte kaum oft in die Lage kommen, unter diesen Umständen sich durch die Kultur von dem Nochvorhandensein der Gonokokken zu überzeugen, denn ich weiß aus meiner Erfahrung, wie schwierig und langwierig es ist, sich stets eiweißhaltige menschliche Flüssigkeiten für die Dauer steril zu verschaffen. Steinschneider, Wassermann u. A. haben ja zu diesem Zweck einige Gonokokkennährböden hergestellt, welche sehr zweckmäßig sind. Bei der Herstellung der Wassermannschen Nährböden stößt man aber auf ziemliche Schwierigkeiten; auch haben die Nährböden beider Autoren den Nachteil, daß sie undurchsichtig sind und sich so zur mikroskopischen Betrachtung nicht eignen.

Ich selbst habe mich lange Zeit bemüht, durchsichtigen, brauchbaren Gonokokkennährboden herzustellen. Ich fand schließlich, daß das Fleischwasserfiltrat ebensogut anwendbar ist wie Menschenblutserum, Eigelb und Schweineblutserum. Das Fleischwasserfiltrat wird in folgender Weise zubereitet:

500 g fettfreien Rindfleisches werden mittelst einer Fleischhackmaschine zerkleinert und darauf mit der zweifachen Menge — also 1000 ccm — Leitungswassers 18—24 Stunden lang im Eisschrank stehen gelassen; hernach wird die Flüssigkeit zuerst durch Filtrierpapier und dann durch ein Chamberlandsches Filter abfiltriert. Man erhält so eine klare, keimfreie, rötliche Flüssigkeit. Diese wird steril im Reagenzröhrchen oder Kolben eingefüllt und kann beinahe ohne Veränderung längere Zeit aufbewahrt werden, wenn nur durch entsprechende Maßregeln das Austrocknen verhütet wird. Nach 3—4 Wochen verliert sie an Frische, ohne jedoch ihre Eigenschaft als Nährboden merklich

einzubüßen, wenigstens soweit ich mich davon überzeugen konnte. Es enthält also diese Flüssigkeit Serumalbumin und Extraktivstoffe des Fleisches.

Zu Kulturzwecken wird sie in Mischung mit festen oder flüssigen peptonhaltigen Nährböden benutzt. Ebensogut ist sie statt Schweineserum in Wassermannschem Nährboden zu verwenden; dieser Nährboden ist etwas undurchsichtig, was aber die üppige Entwicklung von Gonokokkenkolonien nicht verhindert.

Zweckmäßiger mischt man das Fleischwasserfiltrat mit 2 Proz. Nähragar in folgender Weise:

Die mit 5 ccm gebräuchlichen 2-proz. Nähragars gefüllten Röhrrchen werden flüssig gemacht und auf 45—50° C abgekühlt, mit 1—2 ccm (besser 2 ccm) auf 45—50° C erwärmten Fleischwasserfiltrates im Reagenzglas gemischt; die Mischung wird in Petri-Schalen ausgegossen und ist nach 1 Minute gebrauchsfertig. Bei diesem Plattenverfahren verwendet man zum Aufstreichen am besten die Platinöse oder noch besser den sterilen Glasspatel, welchen Drigalski und Conradi empfohlen haben. Will man dagegen das Ausstrichverfahren anwenden, so läßt man das in gleicher Weise hergestellte Fleischwasserfiltrat-Agargemisch in Röhrrchen schräg erstarren und streicht hernach das Impfmateriale in der gewöhnlichen Weise auf der Oberfläche aus.

Dieser Fleischwasserfiltrat-Agar ist immer ganz klar; die Gonokokken entwickeln sich ohne Ausnahme bei 37° C schon nach 18 Stunden als makroskopisch sichtbare, hellgraue, kleine typische Kolonien.

#### Literatur.

- 1) Bumm, Beitrag zur Kenntnis der Gonorrhöe der weiblichen Genitalien. (Archiv für Gynäkologie. Bd. XXIII. 1884. p. 327.) — Der Mikroorganismus der gonorrhöischen Schleimhautrekrankungen „Gonococcus Neisser“. (Deutsche med. Wochenschrift. Bd. XI. 1885. p. 508. — Menschliches Blutserum als Nährboden für pathogene Mikroorganismen. (Deutsche med. Wochenschr., Bd. XI, 1885, p. 910.)
- 2) Wertheim, IV. Kongreß d. dtsh. Gesellsch. f. Gyn. zu Bonn, 1891. (Arch. f. Gyn. 1892.)
- 3) Steinschneider, Ueber die Kultur der Gonokokken. (Berlin. klin. Wochenschr. 30. 1893. p. 696.)
- 4) Kiefer, Zur Kultur des Gonococcus Neisser. (Berliner klin. Wochenschr. 32. 1905. p. 332.)
- 5) Schäffer, Beitrag zur Frage der Gonokokken-Toxine. (Fortschr. d. Medizin. Bd. XV. 1897. p. 813.)
- 6) Steinschneider, Berliner klinische Wochenschrift. 30. 1893. p. 728.)
- 7) Scholtz, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann, Bd. III. 1903. p. 163.)
- 8) Abel, Deutsche med. Wochenschr. 1893.
- 9) Král, Eine einfache Methode zur Isolierung des Gonococcus im Plattenverfahren. (Archiv f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. XXVIII. 1894. p. 115.)
- 10) Schrötter und Winkler, Monatshefte f. prakt. Dermatol. 1890.
- 11) Christmas, Annal. de l'Inst. Past. 1899 und 1900.
- 12) Finger, Beiträge zur Biologie des Gonococcus und zur pathologischen Anatomie des gonorrhöischen Prozesses. (Arch. f. Dermatol. u. Syphilis, Bd. XXVIII. 1894. p. 1.)
- 13) Wassermann, Ueber Gonokokkenkultur und Gonokokkengift. (Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. XXXIV. 1897. p. 685.) — Weitere Mitteilungen über Gonokokkenkultur und Gonokokkengift. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1898. p. 298.)
- 14) Thalmann, Züchtung der Gonokokken auf einfachen Nährböden. (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXVII. 1900. p. 828.)
- 15) Meyer, R., aus Bakteriologie von Lehmann und Neumann. III. Aufl. Bd. 2. p. 175.

- 16) Bärmann, R., aus Bakteriologie von Lehmann und Neumann. III. Aufl. Bd. 2. p. 175.
- 17) Neisser und Scholtz, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. Bd. III. 1903.
- 18) Brougersma und Van de Velde, Die Züchtung von Gonokokken auf Thalmann-Agar. (Centralbl. f. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 311.)

Nachdruck verboten.

## Vorrichtungen zum gefahrlosen Befestigen und Aufspannen wilder Ratten.

Von Oberarzt Dr. **Woithe**.

Mit 11 Figuren.

Wer genötigt ist, häufig mit wilden Ratten (*Mus rattus* und *Mus decumanus*) zu arbeiten, wird die Vorteile der unten beschriebenen Vorrichtungen zu schätzen wissen, die das Manipulieren mit den bissigen Tieren für den Experimentierenden bequem und gefahrlos, für die Ratten schonend, nicht qualvoll gestalten, Assistenz dabei völlig überflüssig machen.

### I. Rattenglas nach Prof. Uhlenhuth.

Die Blutentnahme aus dem Schwanz der Versuchstiere und ähnliche Manipulationen (Impfung an der Schwanzwurzel etc.) erleichtert wesentlich ein von Herrn Geheimrat Prof.

U h l e n h u t h angegebene Rattenglas, das, wie aus nebenstehender Fig. 1 ersichtlich ist, einen vom oberen Rande bis etwa in halbe Höhe ziehenden schlitzförmigen Ausschnitt von ungefähr 1,5 cm Breite besitzt.

Bisher mußte man behufs Blutentnahme das Schwanzende mittels Zange nach oben, unter dem an einer Stelle gelüfteten Deckel hervorziehen und mit letzterem zusammen festhalten. Dabei wurde der Schwanz häufig gequetscht, oft sogar infolge der aufgeregten Bewegungen des in unbequemer Stellung (Kopf nach unten!) halb hängenden Tieres teilweise abgedreht. Zudem war das gleichzeitige Halten von Deckel und Rattenschwanz mit der linken Hand, während die rechte mit der Blutentnahme zu tun hatte, nichts weniger als bequem. Häufig riß sich die Ratte los, so daß

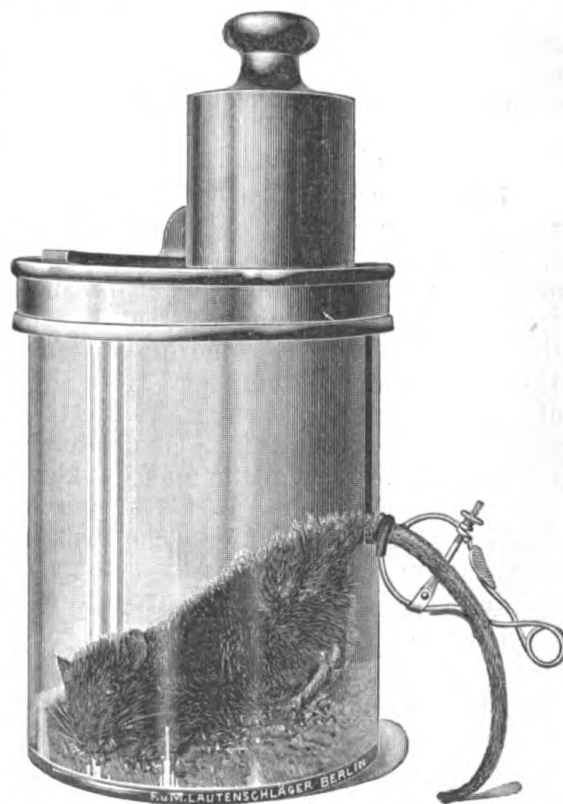


Fig. 1.

sie von neuem gefaßt werden mußte, auch war ein Entkommen des kräftigen Tieres aus dem Glase dabei leicht möglich.

Gegenüber diesen Unzuträglichkeiten erscheint die einfache, von Herrn Prof. Uhlenhuth angegebene Vorrichtung als praktischer Fortschritt. Man benutzt sie in folgender Weise: Das Schwanzende wird mit der Zange gefaßt und von oben her in und durch den Schlitz gezogen, bis die Schwanzwurzel innen an der Glaswand ansteht. Nach Anlegung einer Druckklemme und reichlicher Beschwerung des Deckels ist das Tier innerhalb, der Schwanz außerhalb des Glases sicher fixiert, der Experimentierende hat beide Hände frei.

Die eigens für diese Zwecke konstruierte Druckklemme faßt mit ihren gekreuzten, mit Gummischlauch überzogenen Klauen den Schwanz in seiner ganzen Peripherie sehr fest und dabei doch schonend an. Die zwischen beiden Branchen beweglich angebrachte Schraubenspindel mit randierter Mutter ermöglicht eine sehr feine Regulierung der Druckwirkung; infolgedessen läßt sich das kleine Instrument nicht nur zum Fixieren des Tieres, sondern auch zur beliebig starken Kompression der Schwanzvenen gebrauchen. Bei der Anlegung der Klemme hat man zu beachten, daß wegen der Kreuzung der Klauen der zu fassende, mit der linken Hand gehaltene Rattenschwanz von rechts unten nach links und oben umgangen werden muß. Für den Daumen (dessen Nagel nach oben sieht) ist eine geriffelte, für das Mittelglied des Zeigefingers eine rinnenförmige Auflage vorgesehen, so daß die stark federnde Stahldrahtklemme auch mit nassen Händen festgehalten werden kann.

Das Rattenglas nach Prof. Uhlenhuth eignet sich für Versuche mit wilden und zahmen Ratten in gleicher Weise. Wer ohne Assistenz arbeiten will, wird sich bei Mäuseexperimenten eines entsprechend kleineren Glases, das billiger als die bisherigen Mäusehalter ist und für die meisten Versuche ausreicht, mit Vorteil bedienen.

## II. Rattenapparat nach Dr. Woithe.

Um mit wilden Ratten ohne Assistenz arbeiten, die Tiere allein aufspannen<sup>1)</sup>, sie impfen, operieren, mit ihnen beliebige Versuche anstellen zu können, konstruierte ich einen Apparat, der alle erdenklichen Manipulationen bequem und gefahrlos auszuführen gestattet. Seiner Konstruktion liegt die einfache, alltägliche Beobachtung zu Grunde, daß wilde Ratten stets in die dunkelsten Winkel ihres Behälters flüchten. Das lichtscheue Wesen der Tiere benutze ich für meine Zwecke in folgender Weise: Ich bringe die Ratte in einen Drahtkäfig, der auf einer Seite mit einem verschließ- und abnehmbaren Rohransatz versehen ist. Das Tier flüchtet sofort in das dunkle Rohr, wird darin eingesperrt und — nach Abnahme des Ansatzes vom Käfig — zu beliebigen Versuchen verwendet. Das ist das einfache Prinzip des Apparates; eine ausführliche Beschreibung seines Gebrauches folgt unten. Zunächst seien im folgenden die Einzelheiten der Konstruktion erläutert.

Die Vorrichtung besteht aus:

- 1) Käfig mit Rohrstützen.
- 2) Rohransatz: Aufklappbarer Büchse mit Schieber.

1) Zum Aufspannen der Ratte braucht man natürlich die Vorrichtung nur dann, wenn eine Betäubung des Tieres mittels Aether oder Chloroform nicht angängig ist

- 3) Hülse mit Füßen und Deckel.
- 4) Klemmring, zur Hülse passend.
- 5) Aufspannbügel mit Seitenklemmen, Kopfhalter, Schnurschlingen und Schnurklemmen.

1) Der Käfig (Fig. 2 A)<sup>1)</sup>. Er ist aus Draht geflochten und auf einen flachen, einen Schubkasten umfassenden Blechrahmen, der nach oben durch einen Siebboden abgeschlossen ist, montiert. Oben befindet sich der große Verschlussschieber mit Einschnappvorrichtung und ein Drahtenkel. Eine Seitenwand ist dicht über dem Boden durchbrochen und trägt einen kreisrunden Rohrstutzen, dessen Durchmesser so berechnet wurde, daß auch große Ratten ihn passieren können. Der Stutzen läßt sich mittels der durch einen kleinen Riegel zu sichernden Klappe leicht und schnell verschließen (Fig. 2 a).

2) Der Rohransatz, die aufklappbare Büchse (Fig. 2 B) ist der komplizierteste Teil des Apparates. Am einen Ende befindet sich

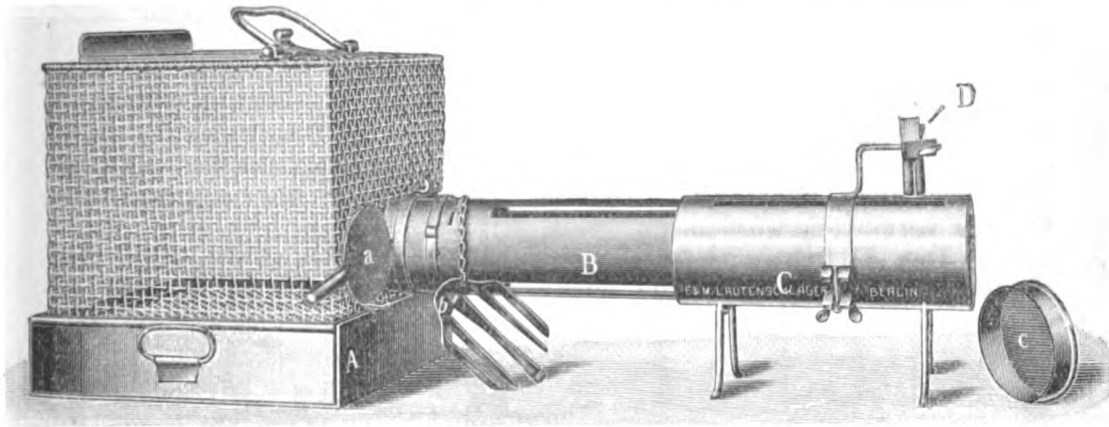


Fig. 2.

die Bajonettführung, mittels deren das Rohr an den Stutzen des Käfigs angeschlossen wird. Hier setzt man den dreizinkigen Verschlussschieber, der an einer Kette hängt (Fig. 2 b), von oben oder unten her ein; die Nase des unten zu beschreibenden Riegels sichert ihn und verhindert sein Herausgleiten. Am anderen, dem Käfig abgewandten Ende wird die Büchse durch einen Siebboden abgeschlossen. Das Rohr ist seiner ganzen Länge nach vertikal durchgeschnitten, beide Hälften vereinigt beweglich ein langes Scharnier auf der Oberseite. Die Büchse läßt sich daher aufklappen, so daß zwei etwa im rechten Winkel zueinander geneigte Rinnen entstehen; wird sie geschlossen, so greift der eine freie Blechrand in eine Nute des anderen ein; außerdem gewinnt das Ganze Halt durch zwei Haken, die kleine Stifte umfassen und so beide Rohrhälften fest zusammenziehen. Der eine von diesen Haken ist am Siebboden an-

1) Die Figuren entsprechen zum Teil nicht genau der Wirklichkeit: So ist in Fig. 7 und 8 statt des Verschlussschiebers eine Klappe, in Fig. 2, 6 und 9 statt des dreizinkigen Schiebers ein fünfzinkiger eingezeichnet. Die kleinen Abweichungen sind darauf zurückzuführen, daß nach Anfertigung der Holzschnitte der Apparat noch Änderungen erfuhr. Wegen der geringen Bedeutung der Fehler glaubte ich die bereits geschnittenen Bilder beibehalten zu dürfen.

gebracht, der andere unten am entgegengesetzten, dem Käfig zugewandten Ende der Büchse; letzterer dient außerdem noch zur Sicherung des Schiebers, indem er mit seiner weit vorspringenden Nase in Schlitz desselben eingreift und dessen Herausgleiten verhütet. Sehr wichtig sind die Längsschlitz, von denen sich je ein 1,2 cm breiter auf der Oberseite der Büchse zu beiden Seiten des Scharniers befindet, während je ein 2,5 cm breiter, der Länge nach durch einen Drahtstab halbiertes Rohr unten, dicht neben dem freien Blechrand durchsetzt. So sind im ganzen 6 Längsschlitz vorhanden: Oben zwei einzelne, unten zwei Paar sehr dicht nebeneinander liegende.

3) Die Hülse (Fig. 2 C) läßt sich über die Büchse schieben. Ihre Füße dienen als Stütze und entlasten so die Käfigwand. Das dem Käfig abgewandte Ende läßt sich durch einen abnehmbaren, als Lichtschutzkappe wirkenden Deckel verschließen (Fig. 2 c). Oben befindet sich genau in der Mittellinie — also dem Scharnier der Büchse gegenüber — ein Längsschlitz; in ihm lassen sich, nachdem der Rohransatz vom Käfig abgenommen ist, durch Drehung der inneren Büchse nacheinander sämtliche Schlitz der letzteren einstellen.

4) Der aufklappbare Klemmring (Fig. 2 D) läßt sich an jeder Stelle der Hülse C befestigen. Er trägt an einem rechtwinklig gebogenen Draht eine stark federnde Klemme, bei welcher die Druckwirkung durch eine Sperrschraube gesteigert werden kann. Die Klemmbacken sind mit Gummischlauch überzogen, wodurch Verletzungen des eingespannten Gliedes vermieden werden.

5) Der Aufspannbügel mit Zubehör (Fig. 3 und 4). Zum Aufspannen der Ratte mit Hilfe meines Apparates dient ein in sich ge-

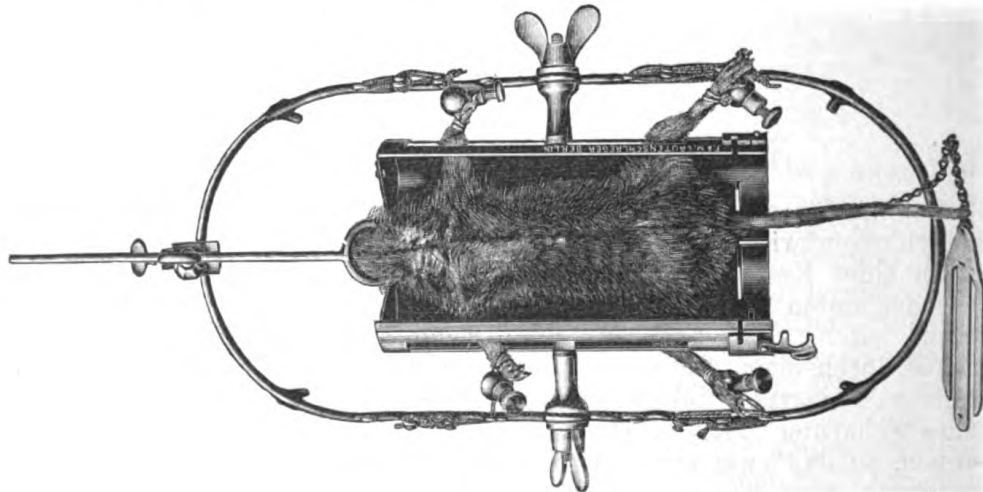


Fig. 3.

schlossener, mit vier kurzen Füßen versehener Bügel aus starkem Draht von der aus Fig. 3 ersichtlichen Form (vergleiche auch Fig. 10). An 4 Stellen — etwa entsprechend der Lage der Füße einer ausgespannten Ratte — ist der Draht in der Vertikalebene wellig gebogen und auf der Oberseite mit einigen zur Befestigung von Schnuren geeigneten Haken und offenen Spiralösen versehen. Zur festen Verbindung des Bügels mit der umgekehrten und aufgeklappten Büchse dienen zwei Klemmen, die

in das eine Schlitzpaar auf der Unterseite des Rohres — nach dem Umkehren und Aufklappen oben! — so eingesetzt werden, daß der den Schlitz teilende Drahtstab in den rinnenförmigen, der untere Blechrand in den keilförmigen Ausschnitt, die große Ausbiegung in der Mitte des Drahtbügels (Längsseite) zwischen Mittelstück und Zwischenscheibe der Klemme zu liegen kommt. Letztere muß beim Einsetzen um 90° gedreht werden, da sie höher als breit und als der Schlitz, in den sie eingeführt werden soll, ist. Außerdem hat man darauf zu achten, daß der Führungsstift, der in eine Bohrung des Mittelstückes eingreift, nicht infolge zu weiten Oeffnens der Klemmbacken ausspringt.

Der Kopfhalter (Fig. 4) wird mittels Doppelmuffe an einer Schmalseite des Spannbügels befestigt. Er besteht aus einem starken, eigenartig gebogenen Messingdrahtbügel mit langem Stiel, der Nacken und Kinn des Versuchstieres umgreift und durch Verschieben der — in Fig. 3 nicht eingezeichneten — feststellbaren Kinngabel der Größe des Rattenkopfes angepaßt werden kann.

Die vier Schnurklemmen, welche zur Sicherung der Schlingen dienen, sind durchbohrte Messingkugeln mit senkrecht zur Schnurbohrung stehenden Schrauben, die kleine Messingklötze gegen die Schnuren pressen. Ein Zerquetschen bzw. Zerdrehen der letzteren ist bei dieser indirekten Einwirkung der Schraube ausgeschlossen. Der Durchmesser der Kugeln ist so groß, daß sie nicht durch die Schlitz der Büchse zu gleiten vermögen.

Nachdem nun der Apparat in allen seinen Teilen ausführlich beschrieben worden ist, sei im folgenden die Art und Weise seiner Verwendung dargestellt.

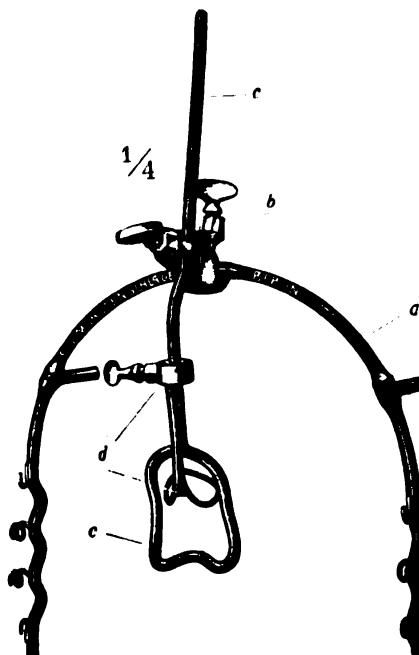


Fig. 4.

### Impfung.

Der zusammengesetzte Apparat (Fig. 5) steht so, daß der Rohransatz nach dem Licht zu gewandt ist, Schieber und Verschußklappe (in der Fig. geschlossen) seien geöffnet, der auf die Hülse aufgesetzte Deckel versperre dem Licht den Zutritt in das Innere der Büchse. Man faßt die Ratte mit der Zange — am besten in der Nackengegend oder an der Schwanzwurzel — und bringt sie aus ihrem Behälter in den Käfig. Das Tier wird dann meist sofort, zuweilen nach einigem Zögern in das dunkle Rohr schlüpfen. Sollte es einmal länger dauern, bis sich die Ratte dazu entschließt, so reize oder ängstige man sie nicht, man trete vielmehr vom Apparat zurück und warte etwas, eventuell kann man durch rasches Drehen des Käfigs (so, daß das Rohr nach der anderen Seite gewandt und im Innern mehr beleuchtet wird) schneller zum Ziele kommen, indem das Tier dabei die Orientierung verliert und in seiner Ratlosigkeit den Schlupfwinkel rascher aufsucht. Ich habe bei

meinen Versuchen nie einen Mißerfolg gehabt; meine Ratten gingen an einem Tage 6- und 7mal freiwillig in die Büchse, ohne daß ich irgend welche Kunstgriffe angewendet hätte. Sobald das Tier in seinem dunklen Schlupfwinkel sitzt, versperrt man ihm durch Umlegen der Käfigklappe und Einschieben des dreizinkigen Gatters den Rückweg. Dabei ist zu

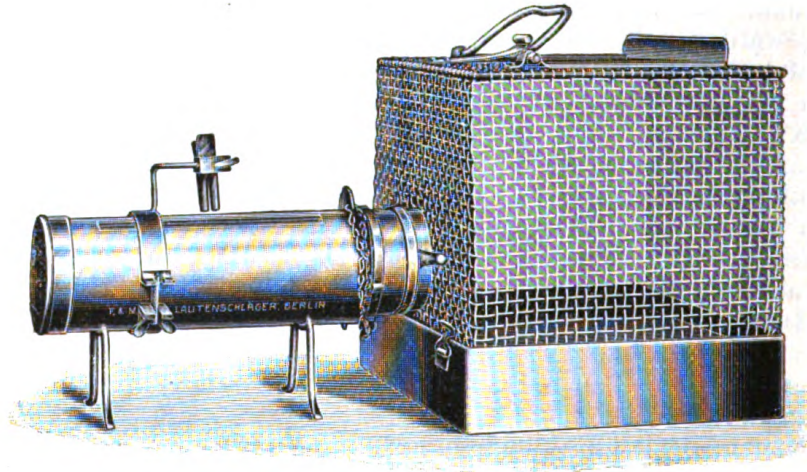


Fig. 5.

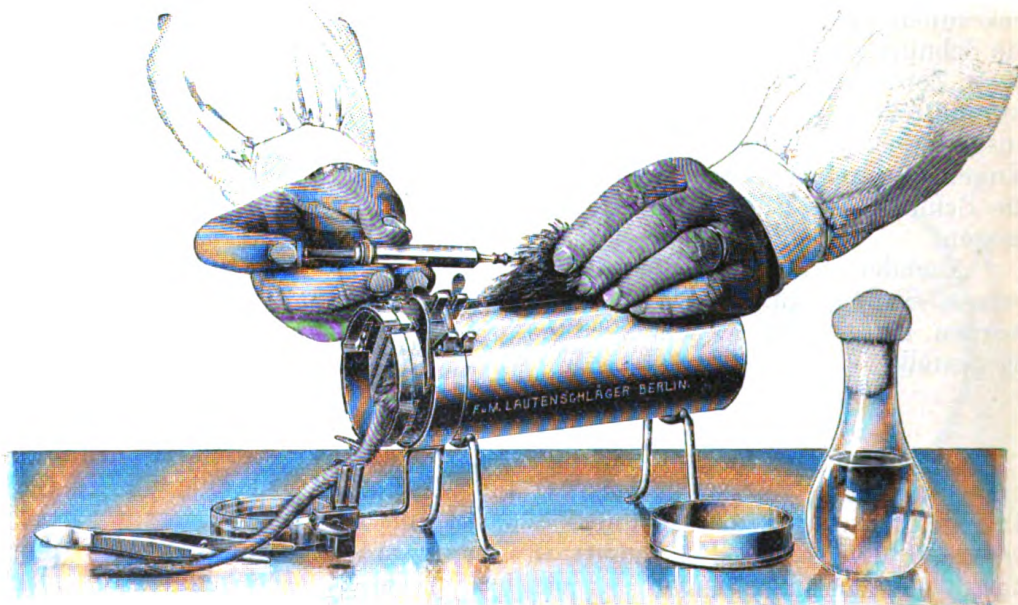


Fig. 6.

beachten, daß vor Einführung des Schiebers der zu seiner Sicherung dienende Verschlüßhaken zu lösen ist; da letzterer zugleich das dem Käfig zugewandte Büchsenende zusammenhält, darf das nur geschehen, so lange die beiden Rohrhälften von der Hülse umfaßt sind. Nach der Einführung des Schiebers wird der Verschlüßhaken mit seiner in Ausschnitte des Gatters eingreifenden Nase wieder geschlossen; damit ist



eine zuverlässige Sicherung erreicht, Hülse und Büchse können ohne Bedenken durch kurze Drehung in der Bajonettführung vom Rohrstützen des Käfigs abgenommen werden. Damit die in der Büchse eingeschlossene Ratte reichlich Atemluft erhält, entfernt man sodann die Verschlusskappe von der Hülse, so daß der Siebboden freiliegt. Ist das Tier sehr groß, so hängt der Schwanz hinten zwischen den Zinken des Schiebers hindurch aus dem Behälter; es empfiehlt sich dann, ihn mittels der am Klemmring angebrachten Klemme zu fixieren (vgl. Fig. 6), bei kleineren Ratten hole man sich das Schwanzende mittels der Pincette heraus und befestige es dann ebenfalls in der Klemme, damit das Tier sich nicht im Rohr umwenden kann. Danach dreht man die Büchse in der Hülse, bis zwei Schlitze übereinanderfallen und das Rattenfell in der freigewordenen Oeffnung erscheint. Bei einigermaßen kräftigen Tieren „quillt“ es förmlich aus ihr hervor, so daß man kaum einer Pincette zum Aufheben der Hautfalte bedarf, vielmehr direkt mit den Fingern zufassen und in der aus Fig. 6 ersichtlichen Weise die Impfung ausführen kann. Das gefaßte Fell ist sicherheitshalber in die Ecke des

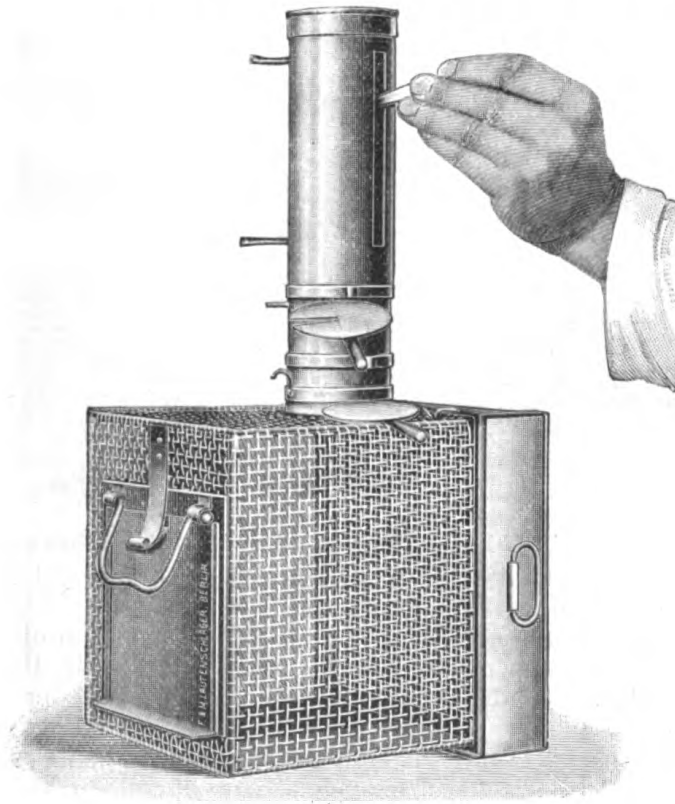


Fig. 7.

Schlitzes zu ziehen, die dem Kopf entspricht, da es sonst leicht vorkommen kann, daß die Ratte ihr Maul durch den Spalt drängt und — etwa in den aufgelegten Handballen — beißt. Nach Beendigung der Operation dreht man das Büchsenrohr wieder in die Anfangslage zurück (um es ohne Gefahr fest umgreifen zu können), befestigt es am Käfig

und öffnet Schieber wie Klappe. Die Ratte verläßt ihren Schlupfwinkel dann selten freiwillig, sie bleibt vielmehr stundenlang in dem dunklen Loch, in dem sie sich geborgen fühlt, sitzen, wenn man sie nicht daraus entfernt. Das ist nun sehr leicht zu bewerkstelligen: Zu dem Zwecke wird der Käfig mit dem Rohransatz in der aus Fig. 7 ersichtlichen Weise aufgestellt, der Schlitz durch Drehung der Hülse geöffnet und das Tier dann mittels eines über ihm eingeführten stumpfen Instrumentes (z. B. einer geschlossenen Pincette) nach unten geschoben. Danach ist jedoch rasch die Käfigklappe zu schließen, da die Tiere erfahrungsgemäß häufig sofort wieder in das (senkrecht stehende!) Rohr springen.

#### Blutentnahme.

Will man Blut in kleinerer Menge aus dem Schwanz oder einer Oberschenkelvene entnehmen, so verfährt man folgendermaßen: Ist das

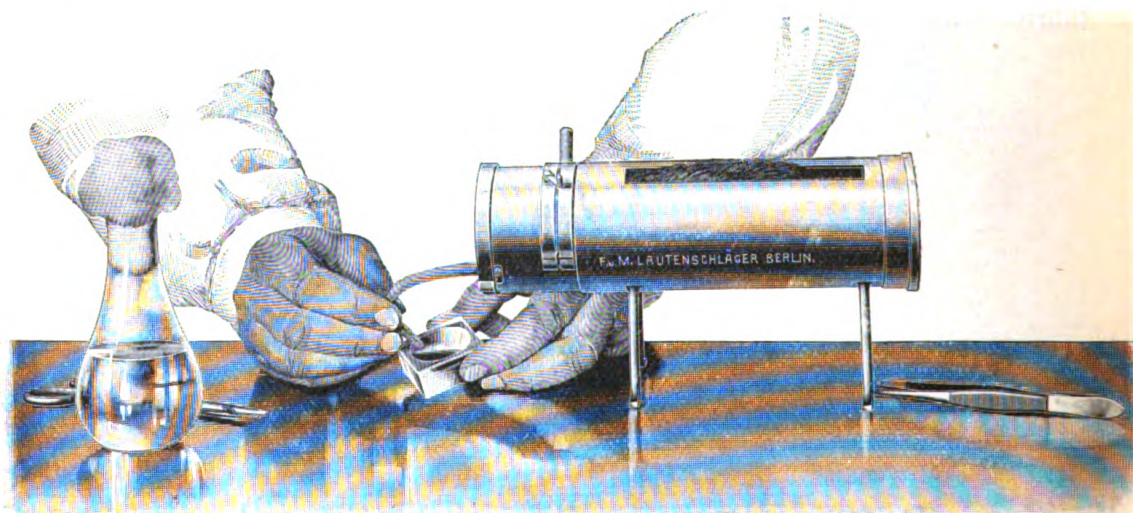


Fig. 8

Tier groß, so daß der Schwanz hinten aus der Büchse heraushängt, oder liegt er bequem genug, um ihn durch das Gatter hervorziehen zu können, so ergibt sich die in Fig. 8 dargestellte Anordnung. Kleinere Ratten ziehen den Schwanz ganz mit sich in das Rohr hinein und wenden sich in letzterem häufig um. Man hat in diesem Fall die Büchse in der Hülse so lange rasch und ruckweise zu drehen, bis der Schwanz im Schlitz erscheint, gefaßt und mit der Pincette hervorgezogen werden kann. Da das innere Rohr 6 Längsschlitze besitzt, ist die geeignete Stellung leicht und sicher zu erreichen. In derselben Weise kann ein Bein eingestellt und hervorgezogen werden. Die am Klemmring sitzende Klemme gestattet ein Festhalten des gefaßten Gliedes an jeder Stelle des Schlitzes und ermöglicht dem Operierenden den freien Gebrauch beider Hände. Fig. 9 veranschaulicht die Blutentnahme aus einer Oberschenkelvene mittels eines aufgedrückten Wattebausches (Czaplewski).

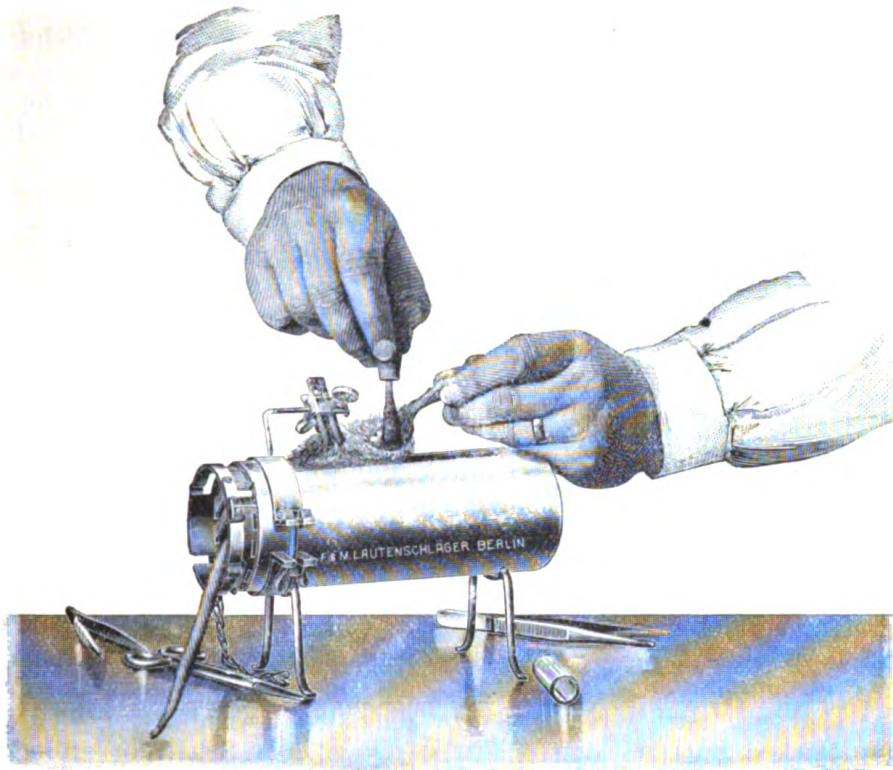


Fig. 9.

**Aufspannen der Ratte in Rückenlage.**

Das Tier sei, wie oben beschrieben, in das Rohr gebracht, letzteres vom Käfig abgenommen und aus der Hülse gezogen. Dabei fällt das eine oder das andere Bein aus den breiten Schlitzten am Boden der Büchse hervor, so daß es angeschlungen werden kann. Soweit die Füße nicht von selbst hervorkommen, sind sie leicht mit einer Pincette zu holen, da die ganze Ventralseite der Ratte zu übersehen und zugänglich ist. Beim Durchziehen der Beine hat man natürlich darauf zu achten, daß in einen Schlitz nur die Extremitäten einer Körperhälfte zu liegen kommen und daß sie beim Aufklappen der Büchse in richtiger Weise auseinandergezogen werden. Das Anschlingen geschieht in der Weise, daß die mit Klemmen versehenen, an beiden Enden geknoteten Doppelschnuren als Schlingen über die Schenkel gestreift, fest angezogen und

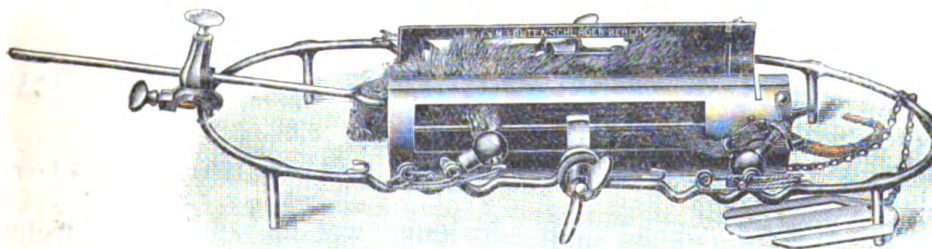


Fig. 10.

durch Heranschieben der Klemmkugeln sowie Andrehen ihrer Schrauben gesichert werden. Es folgt dann die Befestigung des Rohres (Scharnier nach unten!) am Drahtbügel — zunächst auf einer Seite — mittels einer der oben beschriebenen Seitenklemmen, darauf die provisorische Befestigung der Schnurenden an den Haken und Oesen. Nun ist die Ratte so weit fixiert, daß man ohne Gefahr den Schieber entfernen und nach Lösung der Verschlüßhaken die Büchse aufklappen kann. Die Schnuren werden fest angezogen und definitiv an Haken und Oesen befestigt, eventuell so, daß die Füße, falls sie so weit hervorgezogen sind, in die welligen Ausbiegungen des Bügels zu liegen kommen. Zwecks Versteifung des Ganzen kann noch eine zweite Seitenklemme eingesetzt werden, unbedingt erforderlich ist es nicht. Es bleibt nun bloß noch übrig, den Kopfhalter anzubringen: Auf der Seite des Kopfes wird in der Mitte der abgerundeten Schmalseite des Spannbügels die Doppelmuffe angeschraubt. Dann ergreift man den Kopfhalter, schiebt ihn über den Kopf des Tieres bis an die Schultern und senkt den Griff, so daß Nacken und Kinn den Ausbiegungen des Halters fest anliegen, der ganze Kopf — etwas überstreckt — sicher fixiert ist. Die Befestigung des Griffes in der Doppelmuffe geschieht schnell und leicht. Bei kleineren Tieren muß man durch Verschieben der Kinngabel die Oeffnung des Halters verkleinern.

An der aufgespannten Ratte (Fig. 3 und 10) können beliebige Operationen vorgenommen werden: Die ganze Ventralseite liegt frei da, von der dorsalen ist, nachdem das Ganze umgedreht worden ist, der Kopf bis zum Nacken und der den Schlitz neben dem Scharnier anliegende Teil des Rückens zugänglich. Soll die Ratte längere Zeit aufgespannt bleiben, so lege man vor dem Anziehen der Schlingen zwischen letztere und die Beine Stücke aufgeschnittenen Gummischlauches; auf diese Weise wird Verletzungen (Schnürwirkung, Aufscheuern am Blechrand) vorgebeugt. Außerdem empfiehlt es sich, dem Tier einen rinnenförmig gebogenen Pappdeckel unter den Rücken zu schieben, damit ihm Schmerzen nach Möglichkeit erspart werden.

Beim Zurückbringen der Ratte in ihren Behälter folgen die Manipulationen in umgekehrter Reihenfolge wie beim Aufspannen: Lösen des Kopfhalters, einer Seitenklemme, der gleichseitigen Schnuren von Haken und Oesen, Zuklappen der Büchse, Einbringen des Schiebers, Sichern, Lösen der zweiten Seitenklemme und der gleichseitigen Schnuren, Abstreifen der Schlingen nach Entfernung der Kugelklemmen, Ansetzen der Büchse an den Käfig etc.

Der beschriebene Apparat bietet, kurz zusammengestellt, folgende Vorteile:

- 1) Er schont die Ratte;
- 2) er ermöglicht gefahrloses Arbeiten mit den bissigsten Tieren;
- 3) er macht jede Hilfe entbehrlich;
- 4) er besteht ganz aus Metall, ist mithin leicht zu sterilisieren.

Seine Handhabung ist nicht schwierig; wer ihn zwei- oder dreimal benutzt hat, arbeitet mit ihm allein ebenso schnell wie mit guter Assistenz, dabei aber sicherer. Die Vorrichtung dient vielleicht dazu, die

wilde Ratte als Versuchstier beliebter zu machen, als sie wegen ihrer Gefährlichkeit gegenwärtig ist. Man kann diese Tiere überall für wenig Geld bekommen, weshalb sie sich für die Verwendung in kleineren, fern von großen Zentren gelegenen Laboratorien, denen meist größere Geldmittel ebensowenig zur Verfügung stehen, wie geeignete Hilfskräfte, gut zu eignen scheint.

Um auch mit zahmen Ratten ohne Hilfe arbeiten zu können, ließ ich den in Fig. 11 dargestellten einfachen Apparat anfertigen. Er besteht, ähnlich wie der Meerschweinchenhalter von Voges, aus einer

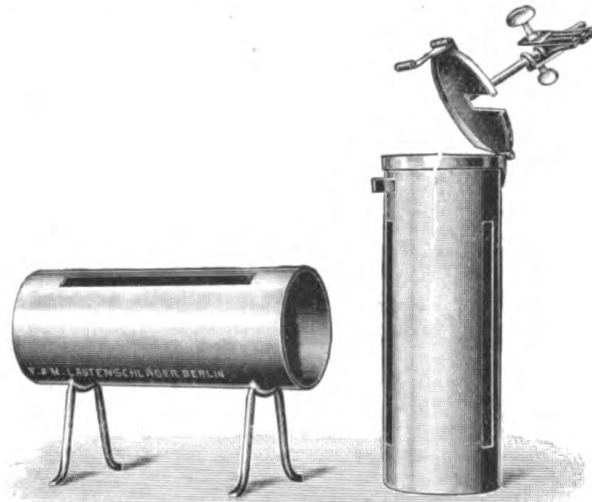


Fig. 11.

geschlitzten Blechbüchse; es sind bei ihm aber drei Schlitze vorhanden, nicht nur einer, außerdem besitzt er einen Scharnierdeckel mit radiärem Ausschnitt und verstellbarer Klemme für den Schwanz. Die Handhabung des Apparates, der mit und ohne Hülse zu verwenden ist, ergibt sich aus der Abbildung und den obigen Ausführungen von selbst. Die Ratte wird hier natürlich direkt in die Büchse geschoben.

Die oben beschriebenen Vorrichtungen, welche in solidem Material von der Firma F. & M. Lautenschläger, Berlin N., ausgeführt werden und von dort zu beziehen sind, haben sich bei meinen zahlreichen Versuchen als praktisch bewährt.

### Inhalt.

- Abe, Nakao**, Ueber die Kultur der Gonokokken, p. 705.
- Friedberger, E. und v. Eisler, M.**, Ueber das Bindungsvermögen des Lyssavirus für rabizides Serum und die Natur der rabiziden Substanz, p. 695.
- Hölling, Ad.**, Spirillum giganteum und Spirochaete balbianii, p. 665.
- Lourens, Louis F. D. E.**, Untersuchungen über die Filtrierbarkeit der Schweinepestbacillen (Bac. suipestifer). (Schluß), p. 630.
- Rissling, Paul**, Beiträge zur Biologie normaler Tiersera. (Schluß), p. 669.
- Buata, Guido Q.**, Die Toxizität der filtrierten Kulturen der Cholera vibrionen. (Schluß), p. 625.
- Simon, F. B.**, Experimentelle Untersuchungen über das monogene Streptokokkenimmenserum. (Schluß), p. 683.
- Vessprémi, D.**, Züchtungs- und Tierversuche mit Bacillus fusiformis, Spirochaete gracilis und Cladothrix putridogenes. Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen gangränösen Entzündungen. (Forts.), p. 648.
- Woithe**, Vorrichtungen zum gefahrlosen Befestigen und Aufspannen wilder Ratten, p. 709.

---

*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.*

---

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XLIV enthaltenen Arbeiten.

- Abe, Nakao**, Ueber die Kultur der Gonokokken. 705
- Ansaldo, L.**, siehe **Bruschettini, A.**
- Belonowsky, G.**, Zur Frage der Wirkung steriler Nahrung auf die Darmflora. 322
- Biffi, U.**, Aussaat und Züchtung der obligaten Anaeroben im luftleeren Raume. 280
- Bongiovanni, Alessandro**, siehe **Tizzoni, Guido.**
- Bruschettini, A.**, Ueber den Nachweis spezifischer Stoffe in den Aggressinen durch die Komplementablenkungsmethode. 441
- und **Ansaldo, L.**, Studien über den Gonococcus. 1. Mitteilung. 512
- Bujwid, O.**, Ueber Anwendung von Asbestfiltern zur Filtrierung bakterienhaltiger und trüber Flüssigkeiten. 191
- Caminiti, R.**, Ueber eine neue Streptothrixspecies und die Streptothricheen im allgemeinen. 1. Mitteilung. 193
- Carapelle, E.**, Ueber die Spaltung der Nukleoproteide. 440
- De Waele, H.**, L'aggressive et la dialyse. 360
- Dohl, Sh.**, Ueber das Vorkommen der Spirochaete pallida im Gewebe, nebst einigen Bemerkungen über Spirochätenfärbung und die Kernfärbung mit Silber imprägnierter Präparate. 246
- Eber, A.**, Wie verhalten sich die nach dem v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfungsverfahren immunisierten Rinder gegenüber einer wiederholten verstärkten natürlichen Infektion, und wie bewährt sich das Schutzimpfungsverfahren bei der praktischen Bekämpfung der Rindertuberkulose? 463, 569.
- Ehrmann, S.**, Ueber die Beziehungen der Spirochaeta pallida zu den Lymph- und Blutbahnen, sowie über Phagocytose im primären und sekundären Stadium. 223
- v. Eisler, M.** siehe **Friedberger, E.**
- Ellermann, V.**, Ueber kleinste Mikroorganismen im menschlichen Speichel. 160
- Famulener, L. W.**, A report of immunization curves derived from goats treated with certain haemolytic bacterial toxins (Vibriolysin and Staphylolysin). 58
- Fermi, Claudio**, Die Cerebrospinalflüssigkeit wutkranker Tiere ist nicht virulent. 25
- , Normale Hirnsubstanz und antirabischer Impfstoff gegen Lyssa. Vorläufige Mitteilung. 475
- , Ueber die Virulenz des Speichels und der Speicheldrüsen wutkranker Tiere. 26
- Fermi, Claudio**, Uebertragung der Tollwut durch die Nasenschleimhaut. 502
- , Verhalten des Wutvirus den ein- oder mehrschichtigen schwedischen Papierfiltern gegenüber, im Vergleich zum Verhalten der Schizomyceten, Blastomyceten, Hyphomyceten (Sporen) und der Amöben. 23
- Friedberger, E.**, Die Bedeutung der Bakterizidie für die Immunität gegenüber Typhus und Cholera. Kritik der Bailschen Anschauungen. 32
- , Zur Geschichte der Typhusschutzimpfung des Menschen. 560
- und **v. Eisler, M.**, Ueber das Bindungsvermögen des Lyssavirus für rabizides Serum und die Natur der rabiziden Substanz. 695
- Fulton, John S. und Stokes, Wm. Royal**, A description of some convenient laboratory devices. 89
- Galli-Valerio, B.**, Notes de parasitologie. 523
- Glerke, E.**, Die intracelluläre Lagerung der Syphilispirochäten. 348
- Gräf, Heinrich und Wittneben, Wilhelm**, Zwei durch anaerobes Wachstum ausgezeichnete Streptokokken. 97
- Hektoen, Ludwig**, The opsonic index in certain acute infectious diseases. 456
- Hess, L.**, Zur Frage des latenten Mikrobismus. 1. Teil. 1
- Heyrovsky, Hans und Landsteiner, Karl**, Ueber Hämotoxine des Milzbrandbacillus und verwandter Bakterien. 150
- Hölling, Ad.**, Spirillum giganteum und Spirochaete balbianii. 665
- Holle**, Beitrag zur Frage der Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für nicht pathogene Mikroorganismen beim normalen und beim dürstenden Tiere. 325
- Jarotzky, Alexander**, Lokale Erscheinungen bei passiver Immunität gegen Schweine-rotlauf und Infektion. 76
- Klein, B.**, Ueber die löslichen Giftstoffe der Ruhrbacillen. 144
- Korentschewsky, W.**, Zur Bakteriologie der Parotitis epidemica. 394
- Kuntze, W.**, Weitere Bemerkungen zur Farbstoffbildung des Bacillus prodigiosus. 299
- Landsteiner, Karl**, siehe **Heyrovsky, Hans.**
- Lentz, Otto**, Ein Beitrag zur Färbung der Negrischen Körperchen. 374
- v. Linstow**, Neue und bekannte Nematoden. 265

- van Loghem, J. J.**, Widerspruch zwischen den Resultaten der Bacillenzüchtung und der Widalschen Reaktion bei Typhus und Paratyphus. 186
- Lourens, Louis F. D. E.**, Untersuchungen über die Filtrierbarkeit der Schweinepestbacillen (*Bac. suispestifer*). 420. 504. 630.
- Lüdke, H.**, Ueber Hämolysine und Anti-hämolysine in menschlichen Transsudaten und Exsudaten. 268
- Lutz, Adolph**, Bemerkungen über die Nomenklatur und Bestimmung der brasilianischen Tabaniden. 137
- Manwaring, Wilfred H.**, On the thermostability of complement. 70
- Marks, Lewis H.**, Ueber einen für Fische pathogenen *Bacillus* (*Bac. piscicidus haemolyticus*). 370
- Maslakowetz, siehe Zabolotny, D.**
- Meyerstein, Wilhelm**, Ueber die bakteriologische Bedeutung der Gallensalze. 434
- Mola, Pasquale**, Ueber eine neue Cestodenform. 256
- Neumann, Georg**, Beitrag zur Kenntnis der Erreger der Kälberruhr, speziell der Colibacillöse. 213
- Neumann, R. O.**, Untersuchungen über „Opsonine“ und Phagozytose. 46
- Panc, N.**, Ueber den Mechanismus der mikrobiziden Tätigkeit des Organismus in den Infektionen. 535
- Panichi, Luigi**, siehe Tizzoni, Guido.
- Parodi, Umberto**, Ueber die Uebertragung der Syphilis auf den Hoden des Kaninchens. 428
- Pende, N. und Viviani, L.**, Eine neue praktische Methode für anaerobische Bacillenkulturen. 282
- Perrucci, Pietro**, Beobachtungen über die Malaria der Pferde (Piroplasmose). 429
- Pfuhl, E.**, Die Züchtung anaerober Bakterien in Leberbouillon, sowie in Zuckerbouillon und in gewöhnlicher Bouillon mit einem Zusatz von Platinschwamm oder Hepin unter Luftzutritt. 378
- Plaut, H. C.**, Ueber die Geißeln bei fusiformen Bacillen. 310
- Preis, H.**, Ueber das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus. Vorläufige Mitteilung. 209
- Beyher, Paul**, Ueber die Bedeutung der bakteriologischen Befunde bei den im Verlaufe des Keuchhustens auftretenden Bronchopneumonien. 493
- Rissling, Paul**, Beiträge zur Biologie normaler Tiersera. 363. 444. 541. 669.
- Rothe**, Beitrag zur Differenzierung der Diphtheriebacillen. 618
- Ruata, Guido Q.**, Die Toxizität der filtrierten Kulturen der Cholera vibrionen. 385. 486. 625.
- Russ, Viktor K.**, Ein Beitrag zur kulturellen Differenzierung der Kapselbacillen. 289
- Rywosch, D. und Rywosch, Marie**, Ueber die Katalyse des  $H_2O_2$  durch Bakterien. 295
- Rywosch, Marie**, siehe Rywosch, D.
- , Ueber Hämolyse und Bakterizidie des embryonalen Hühnerblutes. 468
- Saling, Th.**, Spirochätenähnliche Spiralfasern (sogenannte „Silberspirochäten“) im Gewebe eines Schweinefötus. 339
- Saul, E.**, Untersuchungen zur Aetiologie der Tumoren. 416
- Scordo, Francesco**, Vergleichende Untersuchungen über die Eigenschaften des Sublimats und Sublimins. 284
- Simon, F. B.**, Experimentelle Untersuchungen über das monogene Streptokokkenimmenserum. 563
- Spengler, Carl**, Artverschiedenheit der Tuberkel-Perlsuchtbacillen, die symbiotische Doppelätiologie der menschlichen Tuberkulose und die Doppelvaccination. 481
- Stokes, Wm. Royal**, siehe Fulton, John S.
- Stühlern, V. R.**, Ueber Typhusbakteriämie und Agglutinationsvermögen im Verlaufe des Typhus abdominalis. 178
- Tizzoni, Guido und Bongiovanni, Alessandro**, Ueber den Mechanismus der Zerlegung des Wutvirus in vitro durch das Radium. 7. vorläufige Mitteilung. 353
- —, Ueber einige Bedingungen, welche zur Zersetzung des Wutvirus mittels Radiums in vitro erforderlich sind. 6. vorläufige Mitteilung. 27
- und Panichi, Luigi, Weitere experimentelle Untersuchungen über die Pellagra. Vorläufige Mitteilung. 210
- Vannod, Th.**, Contributions à l'étude du gonocoque. 10, 110
- Veszprémi, D.**, Züchtungs- und Tierversuche mit *Bacillus fusiformis*, *Spirochaete gracilis* und *Cladothrix putridogenes*. Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen gangränösen Entzündungen. 332, 408, 515, 648
- Vincenzi, Livio**, Die Pseudotuberkulose bei Fröschen. 391
- Viviani, L.**, siehe Pende, N.
- Waele, H. de**, siehe De Waele, H.
- Weichardt**, Spezifisches Antitoxin? Eine kritische Studie, mit besonderer Berücksichtigung der Arbeit von G. v. Mari-kovszky. 72
- Weil, Edmund**, Versuche über die Widerstandsfähigkeit bei intraperitonealer Infektion. 164
- Wittneben, Wilh.**, siehe Gräf, Heinrich.
- , Schwer färbbare Stäbchen bei einem Fall von multiplen Hautabscessen. 392
- , *Streptococcus lanceolatus* als Erreger einer Meerschweinchenepizootie. 316
- Woithe**, Vorrichtungen zum gefahrlosen Befestigen und Aufspannen wilder Ratten. 709
- Wrzosek, Adam**, Weitere Untersuchungen über die Züchtung von obligatorischen Anaeroben in aërober Weise. 607
- Zabolotny, D. und Maslakowetz**, Beobachtungen über Agglutination der



- Spirochaete pallida*. Vorläufige Mitteilung. 532  
**Zebrowski, Boleslas**, Précipitation et déviation de l'alexine. Comparaison entre les deux méthodes biologiques de détermination de la nature du sang. 556  
**Zeidler, G.**, Zur Frage der Typhusanreicherung mittels der Gallenkultur. Vorläufige Mitteilung. 479  
**Zschokke, F.**, *Moniezia diaphana* n. sp. Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Cestoden aplacentaler Säugetiere. 261

## II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Abcesse, Haut-, Isolierung schwer färbbarer Stäbchen. 392  
 Abschwächung des Milzbrandbacillus, Wesen. 209  
 Agglutination des *Bac. anthracis* durch normales Serum. 444. 451  
 — des *Bac. avisepticus* durch normales Serum. 451  
 — des *Bac. mallei* durch normales Serum. 446. 452  
 — des *Bac. suipestifer* durch normales Serum. 446. 451  
 — des *Bac. suisepiticus* durch normales Serum. 446. 451  
 — des *Bac. tuberculosis* durch normales Serum. 453. 541  
 — des *Bac. typhi* durch normales Serum. 367. 450  
 — des *Bac. coli* durch normales Serum. 444. 451  
 — des *Proteus vulgaris* durch normales Serum. 444. 451  
 — des Rotlaufbacillus durch normales Serum. 446. 452  
 — der *Spirochaete pallida*. 532  
 — der Staphylokokken durch normales Serum. 369. 451  
 — der Streptokokken durch normales Serum. 369. 451  
 — bei Typhus und Paratyphus, Verhalten zur Bacillenzüchtung. 186  
 — des *Vibrio cholerae* durch normales Serum. 368. 450  
 Agglutinationsvermögen, Verhalten bei Typhus abdominalis. 178  
 Agglutinine, Bakterien-, des normalen Tierserums. 365. 444. 541  
 —, Häm-, des normalen Tierserums. 544  
 —, Iso-, des normalen Serums. 554  
 — des normalen Serums, Bindungsgesetze. 553  
 Aggressin des Gonococcus, Gewinnung. 514  
 Aggressive, Nachweis spezifischer Stoffe in denselben mittels Komplementablenkungsmethode. 441  
 —, Verhalten bei der Dialyse. 360  
 Aggressintheorie, Kritik. 32  
 Aggressinwirkungen. 164  
 Alexinablenkung zur Bestimmung der Natur des Blutes. 556  
 Amöben, Durchgang durch schwedische Papierfilter. 24  
 Anaeroben, Aussaat und Züchtung im luftleeren Raume. 280  
 —, Kulturmethode. 282  
 —, obligatorische, Züchtung in aërober Weise. 607  
 —, Züchtung in Leber-, Zucker- und gewöhnlicher Bouillon. 378  
 Anreicherung, Typhusbacillen-, mittels Galle. 479  
 Anthraxlysin, Untersuchung. 153  
 Antigen, Eiweißabspaltungs-, von Ermüdungstoxincharakter, Entstehung. 72  
 Antihämolyse in Transsudaten und Exsudaten. 268  
 Antikörper des normalen Serums. 363. 444. 541. 669  
 Antitoxin, spezifisches, kritische Studie. 72  
 Apparat zum Befestigen und Aufspannen von wilden Ratten. 709  
 Artverschiedenheit der Tuberkel- und Perlsuchtbacillen. 481  
 Asbestfilter, s. Filter, Asbest.  
*Ascaris lumbricoides*, Verbreitung. 529  
 Ascitesflüssigkeit, Gehalt an Hämolyse- und Antihämolyse.  
*Aspergillus niger*, Durchgang der Sporen durch schwedische Papierfilter. 24  
 — —, Farbstoffbildung. 302  
 Aufspannen von wilden Ratten, Apparat. 709  
 Autoagglutinine des normalen Serums. 554  
 Bacillen, fusiforme, Geißeln. 310  
*Bacillus anthracis*, Agglutination durch normales Serum. 444. 451  
 — —, Hämolyse, Untersuchung. 151  
 — —, Hämotoxin, Untersuchung. 151  
 — —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — —, Wesen der Abschwächung. 209  
 — —, Wirkung von Sublimat und Sublimin. 285  
 — *avisepticus*, Agglutination durch normales Serum. 451  
 — *bifidus* Tissier, Auftreten im Darne. 322  
 — *botulinus*, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — —, Züchtung in aërober Weise. 611  
 — —, Züchtung in Leberbouillon. 378  
 — *capsulatus* Pfeiffer, Identität mit *Bac. lact. aërogenes*. 294  
 — — —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — — —, kulturelle Eigenschaften. 294  
 — — *septicus*, kulturelle Eigenschaften. 294  
 — *cholerae suis*, siehe *Bacillus suipestifer*.  
 — *coli communis*, Filtrierbarkeit der Bouillonkultur. 643

- Bacillus diphtheriae*, Differenzierung. 618  
 — *dysenteriae*, lösliche Giftstoffe. 144  
 — *enteritidis* Gärtner, Filtrierbarkeit der Bouillonkultur. 644  
 — *fusiformis*, Geißeln. 316  
 — —, Züchtungs- und Tierversuche. 332.  
 408. 515. 648  
 —, Geflügelcholera-, Filtrierbarkeit der Bouillonkultur. 643  
 —, Heu-, Durchgang durch schwedische Papierfilter. 24  
 —, Kartoffel-, Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für denselben. 325  
 — *lactis aërogenes*, Auftreten im Darne. 322  
 — —, Identität mit *Bac. capsul.* und *Bac. muc. capsul.* 294  
 — — —, Escherich, Gärungsvermögen. 292  
 — — —, Säurebildung. 290  
 — *mallei*, Agglutination durch normales Serum. 446. 452  
 — *megatherium*, Hämolyse, Untersuchung. 154  
 — *mucosus capsulatus* Fasching, Identität mit *Bac. lact. aërogen.* 294  
 — — —, kulturelle Eigenschaften. 294  
 — — *enteritidis* Gaffky, kulturelle Eigenschaften. 294  
 — — *ozaenae* Abel, Gärungsvermögen. 292  
 — — —, Säurebildung. 290  
 — — —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — *mycoides*, Hämolyse, Untersuchung. 154  
 — *oedematis maligni*, Züchtung in aërober Weise. 611  
 — — —, Züchtung in Leberbouillon. 378  
 — *ozaenae scleromatis*, Fehlen des Gärungsvermögens. 292  
 — *paratyphi*, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — *pertussis*, Vorkommen bei Keuchhusten-bronchopneumonien. 493  
 — *pestis* (Kitasato-Yersin), Vitalität. 525  
 — *piscicidus haemolyticus n. sp.*, Morphologie und Biologie. 370  
 —, Pleuropneumonie-, Filtrierbarkeit der Bouillonkultur. 643  
 — *pneumoniae* Friedländer, Gärungsvermögen. 292  
 — — —, Säurebildung. 290  
 — *prodigiosus*, Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für denselben. 325  
 — —, Durchgang durch schwedische Papierfilter. 24  
 — —, Farbstoffbildung. 299  
 — —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — —, Spaltung der Nukleoproteide. 440  
 —, Pseudodiphtherie-, Differenzierung. 618  
 — —, Vorkommen in den Lymphdrüsen. 5  
 — *putrificus* Bienstock, Züchtung in Leberbouillon. 378  
 — *pyocyaneus*, Durchgang durch schwedische Papierfilter. 24  
 — —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — —, Wirkung der Gallensalze. 437  
 — —, Wirkung von Sublimat und Sublamin. 285  
 —, Rauschbrand-, Züchtung in aërober Weise. 611  
 — —, Züchtung in Leberbouillon. 378
- Bacillus rhusiopathiae suis*, Filtrierbarkeit der Bouillonkultur. 643  
 —, Rotlauf-, Agglutination durch normales Serum. 446. 452  
 — *ruber indicus*, Farbstoffbildung. 301  
 — — *purpureus*, Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für denselben. 325  
 — *scleromatis* Paltauf-Eiselsberg, Säurebildung. 290  
 — *subtilis*, Hämolyse, Untersuchung. 154  
 — —, Vorkommen in den Lymphdrüsen. 5  
 — *suipestifer*, Agglutination durch normales Serum. 446. 451  
 — —, Filtrierbarkeit. 420. 504. 630  
 — *suisepiteticus*, Agglutination durch normales Serum. 446. 451  
 — —, Filtrierbarkeit der Bouillonkultur. 643  
 — *tetani*, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — —, Züchtung in aërober Weise. 612  
 — —, Züchtung in Leberbouillon. 378  
 — *tuberculosis*, Agglutination durch normales Serum. 453. 541  
 — —, Artverschiedenheit vom *Perlaucht-bacillus*. 481  
 — *typhi*, Agglutination durch normales Serum. 367. 450  
 — —, Anreicherung mittels Galle. 479  
 — — Eberth, Filtrierbarkeit der Bouillonkultur. 644  
 — —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — —, Vorkommen im Blute bei Typh. abd. 178  
 — —, Wirkung der Gallensalze. 438  
 —, Xerose-, Differenzierung. 621
- Bacterium coli*, Agglutination durch normales Serum. 444. 451  
 — —, Auftreten im Darne. 322  
 — —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — —, Wirkung des embryonalen Hühnerblutes. 473  
 — —, Wirkung der Gallensalze. 438  
 — — *commune*, Vorkommen in den Lymphdrüsen. 5  
 — — —, Wirkung von Sublimat und Sublamin. 285  
 — *fluorescens*, Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für dasselbe. 325  
 — *perfringens*, Auftreten im Darne. 322
- Bakterizidie, Bedeutung für die Immunität gegenüber Typhus und Cholera. 32  
 — durch embryonales Hühnerblut. 468  
 — des Organismus bei Infektionen, Mechanismus. 535
- Bakterien, siehe a. Mikroorganismen, Spaltpilze etc.  
 —, anaërobe, Aussaat und Züchtung im luftleeren Raume. 280  
 — —, Kulturmethoden. 282  
 — —, Züchtung in aërober Weise. 607  
 — —, Züchtung in Leber-, Zucker- und gewöhnlicher Bouillon. 378  
 —, Auftreten im Darne. 322  
 —, bakterizide Wirkung des Organismus bei Infektionen. 535

- Bakterien, Darm-, Wirkung steriler Nahrung.** 322  
 —, Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für dieselben. 325  
 —, Durchgang durch schwedische Papierfilter. 24  
 — als Erreger der Parotitis epidemica. 394  
 —, Farbstoffbildung. 299  
 —, Filtrierbarkeit der Bouillonkulturen. 420. 643  
 —, fusiforme, Geißeln. 310  
 —, Hämotoxinbildung. 150  
 —, Kapsel-, Gärungsvermögen. 292  
 —, —, Gasbildung. 292  
 —, —, kulturelle Differenzierung. 289  
 —, —, Säurebildung. 290  
 —, —, Wachstum auf farbigen Nährböden. 292  
 —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 295  
 —, schwer färbbare, aus Hautabscessen. 392  
 —, Vorkommen bei Bronchopneumonien im Verlaufe des Keuchhustens. 493  
 —, Vorkommen in Organen. 1  
 —, Wirkung des embryonalen Hühnerblutes. 473  
**Bakterienagglutinine des normalen Tier-serums.** 365. 444. 541  
**Bakteriolyse durch embryonales Hühnerblut.** 473  
**Blastomyceten, Durchgang durch schwedische Papierfilter.** 24  
**Blut, Bestimmung der Natur desselben mittels Präzipitation und Alexinablentung.** 556  
 —, Hühner-, embryonales, Bakterizidie. 468  
 —, —, —, bakteriolytische Wirkung. 473  
 —, —, —, hämolytische Wirkung. 468  
**Blutgefäße, Beziehung der Spirochaete pallida zu denselben.** 223  
**Bombinator igneus, Wirt von Opalina ranarum.** 528  
**Bothriocephalus latus, Verbreitung.** 531  
**Bouillon, Leber- etc. zur Züchtung von Anaëroben.** 378  
**Bovovaccin, Untersuchung seiner Wirksamkeit.** 463. 569  
**Bronchopneumonie im Verlaufe des Keuchhustens, Bakterienbefunde.** 493  
**Bubonen bei Mus rattus, durch Corynebacterium muris erzeugt.** 526  
**Carcinom, parasitäre Aetiologie, Statistik und Kasuistik.** 416  
**Cerebrospinalflüssigkeit, Gehalt an Hämolytinen.** 279  
 — wutkranker Tiere, Virulenzverhalten. 25  
**Cestoden aplacentaler Säugetiere, Beitrag.** 261  
**Cestodenform, neue, Phanobothrium Monticellii, Morphologie.** 256  
**Cholera, Bedeutung der Bakterizidie für die Immunität.** 32  
**Cladotrix putridogenes, Züchtungs- und Tierversuche.** 332. 408. 515. 648  
**Coccobacillus perfoetens, Auftreten im Darne.** 322  
**Colibacillose, Untersuchungen.** 213  
**Corynebacterium muris, Ursache der Bubonen bei Mus rattus.** 526  
**Darmflora, Wirkung steriler Nahrung.** 322  
**Darmschleimhaut, Durchgängigkeit für nicht pathogene Mikroorg.** 325  
**Desinfektion mit Sublimat und Sublamin, Vergleichung.** 284  
**Dialyse, Verhalten der Aggressine bei denselben.** 360  
**Differenzierung der Diphtheriebacillen.** 618  
 —, kulturelle, der Kapselbacillen. 289  
**Diphtherie, opsonischer Index.** 459  
**Diphtheriebacillus s. Bacillus diphtheriae.** 618  
**Diplococcus lanceolatus, Vorkommen bei Keuchhustenbronchopneumonien.** 495  
 — pneumoniae, Vorkommen in den Lymphdrüsen. 5  
**Diplokokken, Vorkommen bei Parotitis epidemica.** 400  
**Distomum lanceolatum, Verbreitung.** 531  
**Durst, Einfluß auf die Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für Bakterien.** 325  
**Dysenterie, Giftstoffe der Ruhrbacillen.** 144  
**Eiweißspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter, Entstehung.** 72  
**Entzündungen, gangränöse, Bakteriologie und Histogenese.** 332. 408. 515. 648  
**Enzyme, Bildung durch Streptothrix.** 205  
**Ermüdungstoxin, Entstehung.** 72  
**Exsudate, Gehalt an Hämolytinen.** 268  
**Färbung der Negrischen Körperchen.** 374  
 — der Spirochäten. 246  
**Farbstoff s. a. Pigment.**  
 —, Bildung durch Aspergillus niger. 302  
 —, Bildung durch Bac. prodigiosus. 299  
 —, Bildung durch Bac. ruber indicus. 301  
 —, Bildung durch Bakterien. 299  
 —, Bildung durch Streptothrix. 206  
**Filaria-Arten, bei Menschen und Tieren beobachtet.** 265  
**Filaria acuminata n. sp. Linstow bei Lutra vulgaris, Morphologie.** 265  
 — cervina s. Filaria labiato-papillosa. 267  
 — labiato-papillosa Aless., Morphologie. 267  
 — terebra s. Filaria labiato-papillosa. 267  
**Filter, Asbest-, zur Filtrierung bakterienhaltiger und trüber Flüssigkeiten.** 191  
 —, Papier-, Durchdringen des Wutvirus durch dieselben. 23  
**Filtrierbarkeit des Bac. suipestifer.** 420. 504. 630  
 — der Bouillonkulturen von Bakterien. 420. 504. 630  
**Filtrierung bakterienhaltiger Flüssigkeiten mittels Asbestfilter.** 191  
**Fische, mit Bac. piscicidus haemolyticus infiziert.** 370  
**Frösche, Pseudotuberkulose.** 391  
**Gärung, Skala zum Ablesen der Gasmenge.** 94  
**Gärungsvermögen bei Kapselbakterien.** 292  
**Galle zur Typhusbacillen anreicherung.** 479  
**Gallensalze, bakteriolog., Bedeutung.** 434  
 —, Wirkung auf Bac. pyocyaneus. 437

- Gallensalze, Wirkung auf *Bac. typhi*. 438  
 —, Wirkung auf *Bac. coli*. 438  
 —, Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 439  
 Gangrän, Bakteriologie und Histogenese. 332. 408. 515. 648  
 Gas, Bildung durch Kapselbakterien. 292  
 —, Skala zum Ablesen der bei der Gärung gebildeten Menge. 94  
 Geflügelcholera bacillus, Filtrierbarkeit d. Bouillonkulturen. 643  
 Gehirn, normales, Absorption rabizider Substanz. 698  
 —, —, antirabische Wirkung. 475  
 Geißeln der fusiformen Bacillen. 310  
*Geophylus longicornis* Leach., Pseudo-parasitismus im Darne einer Frau. 531  
 Geschwülste, Aetiologie. 416  
 Giftstoffe, lösliche, der Ruhrbacillen. 144  
 Gonokokken s. *Micrococcus gonococcus*.  
 Gonokokkenserum, Agglutination. 122  
 —, Amboceptoren. 126  
 —, spezifischer Wert. 122  
 Hämagglutinine des normalen Tiereserums. 544  
 Hämolyse durch embryonales Hühnerblut. 468  
 Hämolsin des *Bac. anthracis*, Untersuchung. 151  
 — — — *megatherium*, Untersuchung. 154  
 — — — *mycoides*, Untersuchung. 154  
 — — — *subtilis*, Untersuchung. 154  
 Hämolsine in Ascitesflüssigkeit. 271  
 — in der Cerebrospinalflüssigkeit. 279  
 — des normalen Serums. 669  
 — in Transsudaten und Exsudaten. 268  
 Hämotoxine des Milzbrandbacillus und verwandter Bakterien. 150  
 Hautabscesse, Isolierung schwer färbbarer Stäbchen. 392  
 Hefe, Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für dieselbe. 325  
 —, weiße, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 Helminthen, Verbreitung. 529  
 Hepin, Zusatz zu Bouillon zur Züchtung von Anaëroben. 378  
 Hühnerblut s. Blut, Hühner-  
 Hyphomyceten, Durchgang durch schwedische Papierfilter. 24  
 Immunisierungskurven von mit hämolytischen bakteriellen Toxinen behandelten Ziegen. 58  
 Immunität des Meerschweinchens gegen den Heubacillus. 164  
 —, passive, gegen Schweinerotlauf und Infektion. 76  
 Immunserum, Streptokokken-, monogenes, Untersuchungen. 563. 683  
 Index, opsonischer, bei akuten Infektionskrankheiten. 456  
 Infektion, lokale Erscheinungen bei passiver Immunität gegen dieselbe. 76  
 —, Mechanismus der mikrobiziden Tätigkeit des Organismus. 535  
 Infektionskrankheiten, opsonischer Index. 456  
 Isoagglutinine des normalen Serums. 554  
 Kälberruhr, Erreger, Morphologie und Biologie. 213  
 Kapselbacillen, kulturelle Differenzierung. 289  
 Katalyse des  $H_2O_2$  durch Bakterien. 295  
 Keuchhusten, Bakterienbefunde bei der Bronchopneumonie im Verlaufe des K. 493  
 Körperchen, Negrische, Färbung. 374  
 Komplement, Thermolabilität. 70  
 Komplementablenkungsmethode zum Nachweise spezifischer Stoffe in den Aggrésinen. 441  
 Korb, schräger, für flüssige Kulturen. 94  
 Kultur anaërober Bakterien. 280. 282  
 Laboratoriumsutensilien, Beschreibung. 89  
 Liquor cerebrospinalis wutkranker Tiere, Virulenzverhalten. 25  
*Lutra vulgaris*, Wirt von *Filaria acuminata* n. sp. Linstow. 265  
 Lymphdrüsen, Bakteriengehalt. 4  
 Lymphgefäße, Beziehung der *Spirochaete pallida* zu denselben. 223  
 Lysin, Anthrax-, Untersuchung. 153  
 Lyssa s. Wut.  
 Magenschleimhaut, Durchgängigkeit für nicht pathogene Mikroorg. 325  
 Malaria der Pferde, Beobachtungen. 429  
 Meerschweinchenepizootie, *Streptococcus lanceolatus* als Erreger. 316  
*Meningococcus intracellularis* (Weichselbaum) L. et N., Beobachtungen. 523  
*Micrococcus gonococcus*, Aggregierung. 514  
 — —, Darstellung eines Nukleoproteids. 117  
 — —, Immunisierungsversuche an Tieren. 21, 110  
 — —, Kultur. 512. 705  
 — —, Nährböden. 10  
 — —, spezifischer Wert des Gonokokkenserums. 122  
 — —, Vitalität. 19  
 — —, Wachstum auf Agar. 15  
 — *parotitidis*, Erreger der Parotitis epidemica, Morphol. und Biol. 401  
 — *tetragenus*, Wirkung von Sublamin. 287  
 Mikrobismus, latenter. 1  
 Mikrobizidie des Organismus bei Infektionen, Mechanismus. 535  
 Mikroorganismen s. a. Bakterien, Spaltpilze etc.  
 —, Durchgängigkeit der Magen- und Darmschleimhaut für dieselben. 325  
 —, Durchgang durch schwedische Papierfilter. 24  
 —, Vorkommen im menschlichen Speichel. 160  
 Milzbrandbacillus s. *Bac. anthracis*.  
*Moniezia diaphana* n. sp., Morphologie. 261  
*Mus rattus*, Wirt von *Trichomonas muris*. 528  
 Nasenschleimhaut, Uebertragung der Wut durch dieselbe. 502  
*Necator americanus* Stil., Vorkommen in Lausanne. 531

- Negrische Körperchen s. Körperchen, Ne-  
 grische.  
 Nematoden, neue und bekannte. 265  
 Nucleoproteide des *Bac. prodigiosus*, Spal-  
 tung. 440  
 Nyctipithecus trivirgatus, Wirt von *Oxyuris*  
*microon* n. sp. Linstow. 265  
 Ofen, transportabler, für Plattenkulturen. 92  
 Oidium albicans, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 Opalina ranarum Purk. et Val. bei *Rana*  
*escul.*, *R. tempor.*, *Bombinator igneus* u.  
*Trit. alpestr.* 528  
 Oponine, Zusammenhang mit der Phago-  
 cytose. 46  
 Oponinindex bei akuten Infektionskrank-  
 heiten. 456  
 Ornithomyia avicularia L., Vorkommen  
 beim Menschen. 532  
 Oxyuris microon n. sp. Linstow bei *Nycti-*  
*pithecus trivirgatus*, Morphologie. 265  
 Parasiten, pflanzliche. 523  
 —, tierische. 528  
 Paratyphus, Widerspruch zwischen den  
 Resultaten der Bacillenzüchtung und  
 Widalschen Reaktion. 186  
 Parotitis epidemica, Bakteriologie. 394  
 Pellagra, experimentelle Untersuchungen,  
 Erreger. 210  
 Peritoneum, Resistenz gegen Infektion.  
 164  
 Perlsuchtbacillen, Artverschiedenheit von  
 den Tuberkelbacillen. 481  
 Pertussis s. Keuchhusten.  
 Pferdemalaria, Beobachtungen. 429  
 Pferdeserum, agglutinierende Wirkung. 367.  
 444. 541  
 Phagocytose der Spirochaete pallida. 235  
 —, Zusammenhang mit den Oponinen. 46  
 Phanobothrium Monticellii n. g. n. sp. Mola,  
 Morphologie. 256  
 Pigment s. auch Farbstoff.  
 Piroplasma equi, Erreger der Pferdemalaria,  
 Morphologie. 430  
 Piroplasmose der Pferde (Malaria), Beobach-  
 tungen. 429  
 Platinschwamm, Zusatz zu Bouillon zur  
 Züchtung von Anaëroben. 378  
 Pneumococcus Friedländer, Katalyse des  
 $H_2O_2$ . 297  
 —, spezifische Stoffe im Aggressin desselben.  
 441  
 Pneumonie, Broncho-, im Verlaufe des  
 Keuchhustens, Bakterienbefunde. 493  
 —, opsonischer Index. 456  
 Präcipitation zur Bestimmung der Natur  
 des Blutes. 556  
 Proteide, Nukleo-, Spaltung. 440  
 Proteus vulgaris, Agglutination durch nor-  
 males Serum. 444. 451  
 Protozoen, parasitische, im Kanton Waadt.  
 528  
 Pseudodiphtherie, opsonischer Index. 460  
 Pseudotuberkulose bei Fröschen. 391  
 Radium, Zersetzung des Wutvirus. 27. 353  
 Rana esculenta und temporaria, Wirte von  
 Opalina ranarum. 528  
 Rana esculenta und temporaria, Wirte von  
 Trichomon. batrachor. 528  
 — temporaria, Pseudotuberkulose. 391  
 Ratten, wilde, Befestigungs- und Auf-  
 spannungsapparat. 709  
 Rauschbrandbacillus s. Bacillus, Rausch-  
 brand-.  
 Rindertuberkulose s. Tuberkulose, Rinder-.  
 Rotlauf, Schweine-, lokale Erscheinungen  
 bei passiver Immunität gegen denselben. 76  
 Rotzbacillus s. Bacillus mallei.  
 Ruhr, Giftstoffe der Ruhrbacillen. 144  
 Ruhr, Kälber-, Erreger, Morphologie und  
 Biologie. 213  
 Ruhrbacillen s. Bacillus dysenteriae.  
 Säurebildung durch Kapselbakterien. 290  
 Sarcina-Arten, Vorkommen in den Lymph-  
 drüsen. 5  
 Sarcina flava, Durchgängigkeit der Magen-  
 und Darmschleimhaut für dieselbe. 325  
 — lutea, Vorkommen in den Lymphdrüsen. 5  
 — —, Vorkommen in den Tonsillen. 5  
 Sarcine, orange, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 Scarlatina, opsonischer Index. 458  
 Schizomyceten, Durchgang durch schwe-  
 dische Papierfilter. 24  
 Schleimhaut, Magen- und Darm-, Durch-  
 gängigkeit für nicht pathogene Mikroorg.  
 325  
 —, Nasen-, Uebertragung der Wut durch  
 dieselbe. 502  
 Schweinefoetus, spirochätenähnliche Spi-  
 ralfasern im Gewebe 339  
 Schweinepestbacillus s. Bacillus suispestifer.  
 Schweinerotlauf, lokale Erscheinungen bei  
 passiver Immunität gegen denselben. 76  
 Sera, Tier-, Biologie. 363. 444. 541. 669  
 Serum, Gonokokken-, spezifischer Wert. 122  
 —, normales, Agglutination des *Bac. an-*  
*thraxis*. 444. 451  
 —, —, Agglutination des *Bac. avisepticus*.  
 451  
 —, —, Agglutination des *Bac. mallei*. 446.  
 452  
 —, —, Agglutination des *Bac. suispestifer*.  
 446. 451  
 —, —, Agglutination des *Bac. suissepticus*.  
 446. 451  
 —, —, Agglutination des *Bac. tuberculosis*.  
 453. 541  
 —, —, Agglutination des *Bac. typhi*. 367.  
 450  
 —, —, Agglutination des *Bac. coli*. 444. 451  
 —, —, Agglutination des *Proteus vulgaris*.  
 444. 451  
 —, —, Agglutination des Rotlaufbacillus.  
 446. 452  
 —, —, Agglutination der Staphylokokken.  
 369. 451  
 —, —, Agglutination der Streptokokken.  
 369. 451  
 —, —, Agglutination des *Vibrio cholerae*.  
 368. 450  
 —, —, Antikörper. 363. 444. 541. 669  
 —, —, Auto- und Isoagglutinine. 554  
 —, —, Bakterienagglutinine. 365. 444. 541

- Serum, normales, Bindungsgesetze der Agglutinine. 553  
 —, —, Hämagglutinine. 544  
 —, —, Hämolsine. 669  
 —, Pferde-, agglutinierende Wirkung. 367. 444. 541  
 —, rabizides, Bindungsvermögen des Wutvirus für dasselbe. 695  
 —, Streptokokkenimmun-, monogenes, Untersuchungen. 563. 683  
 Silberspirochäten im Gewebe eines Schweinefötus. 339  
 Speichel, Vorkommen kleinster Mikroorganismen. 160  
 — wutkranker Tiere, Virulenz. 26  
 Speicheldrüsen wutkranker Tiere, Virulenz. 26  
 Spirillum giganteum, Morphologie, Vergleich mit Spirochaete balbiani. 665  
 Spirillum sputigenum, Geißeln. 312  
 Spirochaeta s. Spirochaete und Treponema.  
 Spirochaete balbiani, Morphologie, Vergleich mit Spirillum giganteum. 665  
 — gracilis, Züchtungs- und Tierversuche. 332. 408. 515. 648  
 — pallida, Beweglichkeit und Agglutination. 532  
 — —, Beziehung zu Lymph- und Blutbahnen. 223  
 — —, Färbung. 246  
 — —, intracelluläre Lagerung. 348  
 — —, Kritik. 339  
 — —, Phagocytose. 235  
 — —, Vorkommen im Gewebe. 246  
 Spirochäten, Silber-, im Gewebe eines Schweinefötus. 339  
 — -ähnliche Spiralfasern im Gewebe eines Schweinefötus. 339  
 Staphylococcus pyogenes albus, Filtrierbarkeit der Bouillonkultur. 643  
 — — —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — — —, Vorkommen bei Parotitis epidemica. 400  
 — — aureus, Filtrierbarkeit der Bouillonkultur. 643  
 — — —, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — — —, Vorkommen in den Lymphdrüsen. 5  
 — — —, Vorkommen bei Parotitis epidemica. 400  
 — — —, Wirkung der Gallensalze. 439  
 — — —, Wirkung von Sublimat und Sublimin. 285  
 Staphylokokken, Agglutination durch normales Serum. 369. 451  
 Staphylolysin, Immunisierung von Ziegen. 58  
 Sterilisator. 90. 96  
 —, staubsicherer, für Petrische Schalen. 89  
 —, —, für 50 Pipetten. 96  
 Sterilität der Nahrung, Wirkung auf die Darmflora. 322  
 Streptococcus „K“, aus einem Hirnabsceß, anaërobes Wachstum. 104  
 — —, aus einem Hirnabsceß, Morphologie und Physiologie. 104  
 Streptococcus lanceolatus als Erreger einer Meerschweinchenepizootie. 316  
 — —, kulturelles Verhalten. 318  
 — —, Pathogenität. 319  
 — pyogenes, Vorkommen in den Lymphdrüsen. 5  
 — —, Vorkommen in den Tonsillen. 5  
 — „Sch“, aus einem Hautabsceß, anaërobes Wachstum. 97  
 — —, aus einem Hautabsceß, Morphologie und Physiologie. 97  
 Streptokokken, Agglutination durch normales Serum. 369. 451  
 —, anaërobes Wachstum. 97  
 —, Vorkommen bei Keuchhustenbronchopneumonien. 495  
 Streptokokkenimmenserum, monogenes, Untersuchungen. 563. 683  
 Streptothricheen, Untersuchungen. 193  
 Streptothrix-Species, neue, Morphologie und Biologie. 200  
 Sublimin, Eigenschaften, Vergleich mit Sublimat. 284  
 —, Wirkung auf Bakterien. 285  
 —, Wirkung auf Micrococcus tetragenus. 287  
 Sublimat, Eigenschaften, Vergleich mit Sublimin. 284  
 —, Wirkung auf Bakterien. 285  
 Syphilis, Beweglichkeit und Agglutination der Spirochaete pallida. 532  
 —, Beziehung der Spirochaete pallida zu Lymph- und Blutbahnen. 223  
 —, Kritik der Spirochaete pallida. 339  
 —, Phagocytose der Spirochaete pallida. 235  
 —, Spirochaete pallida, intracelluläre Lagerung. 348  
 —, Uebertragung auf den Hoden des Kaninchens. 428  
 —, Vorkommen der Spirochaete pallida im Gewebe. 246  
 Tabaniden, brasilianische, Nomenklatur und Bestimmung. 137  
 Thermolabilität des Komplements. 70  
 Tiersera, Biologie. 363. 444. 541. 669  
 Tollwut s. Wut.  
 Tonsillen, Bakteriengehalt. 5  
 Toxin, Bildung bei Vibrio cholerae. 385. 486. 625  
 Toxine, Häm-, des Milzbrandbac. und verwandter Bakterien. 150  
 —, hämolytische bakterielle, Immunisierung von Ziegen. 58  
 —, lösliche, der Ruhrbacillen. 144  
 Toxizität der filtrierten Kulturen der Choleravibrionen. 385. 486. 625  
 Transsudate, Gehalt an Hämolsinen. 268  
 Treponema s. Spirochäte.  
 Trichocephalus trichiurus, Verbreitung. 531  
 Trichomonas batrachorum Perty bei Rana escul. und R. tempor. und Trit. alpestr. 528  
 — muris n. sp. bei Mus rattus. 528  
 Triton alpestris, Wirt von Opalina ranarum. 528  
 — —, Wirt von Trichomonas batrachor. 528  
 Tuberkelbacillus s. Bac. tuberculosis.

- Tuberkulose, Doppelvaccination.** 481  
 —, menschliche, symbiotische Doppelätiologie. 481  
 —, Pseudo-, bei Fröschen. 391  
 —, Rinder-, Bewährung der Schutzimpfung bei der Bekämpfung derselben. 582  
 —, —, Wirkung der Schutzimpfung bei natürlicher Infektion. 463. 569  
**Tuberkuloseschutzimpfung nach Behring, Bewährung bei der Bekämpfung der Rindertuberkulose.** 582  
 — — —, Wirkung bei natürlicher Infektion. 463. 569
- Tumoren s. Geschwülste.**
- Typhus abdominalis, Bakteriämie und Agglutinationsvermögen.** 178  
 — —, Bedeutung der Bakterizidie für die Immunität. 32  
 — —, Geschichte der Schutzimpfung. 560  
 — —, Widerspruch zwischen den Resultaten der Bacillenzüchtung und Widal'schen Reaktion. 186  
**Typhusschutzimpfung, Geschichte.** 560  
**Vibrio cholerae, Agglutination durch normales Serum.** 368. 450  
 — —, Toxinbildung. 385. 486. 625  
 — —, Toxizität der filtrierten Kulturen. 385. 486. 625  
 — Danubicus, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — Finkler, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — Metschnikoff, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
 — phosphorescens, Katalyse des  $H_2O_2$ . 297  
**Vibriolysin, Immunisierung von Ziegen.** 58  
**Wasserprobenverpackung zur bakteriologischen Untersuchung.** 91  
**Wasserstoffsperoxyd, Katalyse durch Bac. anthracis.** 297  
 —, Katalyse durch Bac. capsul. 297  
 —, Katalyse durch Bac. mucos. ozaenae. 297
- Wasserstoffsperoxyd, Katalyse durch Bac. paratyphi.** 297  
 —, Katalyse durch Bac. prodigiosus. 297  
 —, Katalyse durch Bac. pyocyaneus. 297  
 —, Katalyse durch Bac. tetani. 297  
 —, Katalyse durch Bac. typhi. 297  
 —, Katalyse durch Bact. coli. 297  
 —, Katalyse durch Bakterien. 295  
 —, Katalyse durch Hefe. 297  
 —, Katalyse durch Oidium albicans. 297  
 —, Katalyse durch Pneumococcus Friedländer. 297  
 —, Katalyse durch Sarcine orange. 297  
 —, Katalyse durch Staphylococcus pyogenes albus. 297  
 —, Katalyse durch Staphylococcus pyogenes aureus. 297  
 —, Katalyse durch Vibrio Danubicus. 297  
 —, Katalyse durch Vibrio Finkler. 297  
 —, Katalyse durch Vibrio Metschnikoff. 297  
 —, Katalyse durch Vibrio phosphorescens. 297
- Widerstandsfähigkeit bei intraperitonealer Infektion.** 164  
**Wut, Bindungsvermögen des Virus für rabizides Serum.** 695  
 —, Durchdringen des Virus durch schwedische Papierfilter. 23  
 —, Färbung der Negrischen Körperchen. 374  
 —, Natur der rabiziden Substanz. 695  
 —, Uebertragung durch die Nasenschleimhaut. 502  
 —, Virulenz des Speichels und der Speicheldrüsen. 26  
 —, Virulenzverhalten der Cerebrospinalflüssigkeit. 25  
 —, Viruszersetzung durch Radium. 37. 353  
 —, Wirkung normaler Hirnsubstanz und des antirabischen Impfstoffes, Vergleich. 475

### III. Verzeichnis der Abbildungen.

- Anaeroben, Apparat zur Züchtung im luftleeren Raume.** 281  
**Apparat zum Befestigen und Aufspannen wilder Ratten.** 709. 711—717. 719  
 — zur Züchtung von Anaeroben im luftleeren Raume. 281  
**Bacillen, fusiforme, Geißeln. (Taf., Fig. 1—4.)** 311. 312. 313. 316  
 —, Perlsucht, mit Tuberkelbacillen vermischt. 482  
**Bacillus fusiformis, Geißeln. (Taf., Fig. 12 bis 14.)** 316  
 — suipestifer, Ausstrichpräparat. 509. 631  
 — tuberculosis, Reinkultur, mit Perlsucht-bacillen vermischt. 482  
**Bakterizidie bei Infektionen, Veränderungen der Bakterien. (Taf.)** 536  
**Bakterien, fusiforme, Geißeln. (Taf., Fig. 1—4.)** 311. 312. 313. 316
- Bakterien, Veränderungen durch die bactericide Tätigkeit des Organismus. (Taf.)** 536  
**Bronchopeumonie, Keuchhusten-, Lungenschnitt. (Taf. II, Fig. 4.)** 502  
**Filaria acuminata n. sp., Kopfende. (Taf., Fig. 3.)** 267  
 — — —, Querschnitt. (Taf., Fig. 4.) 267  
 — labiato-papillosa, Kopfende. (Taf., Fig. 5 und 6.) 267  
**Frösche, Pseudotuberkulose.** 391  
**Gärung, Skala zum Ablesen der Gasmenge.** 94  
**Gärungsöhrchen.** 91  
**Geißeln bei fusiformen Bacillen. (Taf., Fig. 1—4.)** 311. 312. 313. 316  
 — bei Bacillus fusiformis. (Taf., Fig. 12—14.) 316

- Geißeln von *Spirillum sputigenum*. (Taf., Fig. 5—11.) 312. 313. 316
- Keuchhusten, Larynxquerschnitt. (Taf. II, Fig. 6.) 502
- Keuchhustensputum, Bakterienbefunde. (Taf. I, Fig. 1—3, Taf. II, Fig. 5.) 502
- Korb, schräger, für flüssige Kulturen. 94
- Lymphgefäße mit *Spirochaete pallida*. 225—234
- Micrococcus gonococcus*, Antikörperbildung, schematische Darstellung. 127
- Mikroorganismen, kleinste im Speichel. 161  
162. 163
- Moniezia diaphana* n. sp., Proglottis. 262
- Ofen, transportabler, für Plattenkulturen. 92
- Oxyuris microon* n. sp., Kopfende. (Taf., Fig. 1.) 267
- — —, Schwanzende, männliches. (Taf., Fig. 2.) 267
- Persuchtbacillen, mit Tuberkelbacillen vermischt. 482
- Phagocytosen aus syphilitischen Initialsklerosen. (Taf.) 236. 237. 239. 245
- Phanobothrium Monticellii* n. g. n. sp., Eier. (Taf., Fig. 6.) 260
- — —, Gesamtansicht. (Taf., Fig. 1.) 260
- — —, Geschlechtsorgane. (Taf., Fig. 5.) 260
- — —, Haken. (Taf., Fig. 7.) 260
- — —, Larve. (Taf., Fig. 9.) 260
- — —, Proglottiden. (Taf., Fig. 3. 4. 8. 10—19.) 260
- — —, Scolex. (Taf., Fig. 2.) 260
- Platten, geimpfte, Behälter für dieselben. 93
- Pseudotuberkulose bei Fröschen. 391
- Ratten, wilde, Apparat zum Befestigen und Aufspannen. 709. 711—717. 719
- Schalen, Petrische, Gestell und Sterilisator für dieselben. 90
- Schweinepest, Darmveränderung nach Impfung mit dem Organfiltrat von pestkranken Schweinen. 509. 511. 632
- Schweinepestbacillen, Ausstrichpräparat. 509. 631
- Schweinerotlauf, Hautquerschnitt nach Injektion von Serum und Bacillen zur Immunisierung. 81. 82. 83. 84. 86
- Speichel, kleinste Mikroorganismen in demselben. 161. 162. 163
- Spirillum sputigenum*, Geißeln. (Taf., Fig. 5—11.) 312. 313. 316
- Spirochaete pallida*, Agglutination. 533. 534
- — in einem Blutgefäße. (Taf., Fig. 5.) 245
- —, Durchwanderung durch die Bronchialwand. 349
- —, extracelluläre Lagerung. 351
- —, intracelluläre Lagerung. 352
- — in Lymphgefäßen. 225—234
- Spirochäten, Geißelfärbung. 313
- — ähnliche Spiralfasern im Gewebe eines Schweinefötus. (Taf.) 348
- Sterilisator, staubsicherer, für Petrische Schalen. 90
- —, für 50 Pipetten. 96
- Streptokokken, anaërobe, Wachstumszonen. 99. 105
- Streptothrix*-Species, neue, Agarkultur. (Taf. I.) 208
- —, Morphologie. (Taf. II—IV.) 208
- Syphilis, Phagocytosen aus Initialsklerosen. (Taf.) 236. 237. 239. 245
- , *Spirochaete pallida* in einem Blutgefäße. (Taf., Fig. 2.) 245
- , *Spirochaete pallida* in Lymphgefäßen. 225—234
- Trichomonas muris* n. sp., gefärbt. 528
- Tuberkulose, Pseudo-, bei Fröschen. 391
- Wasserbad. 95
- Wasserprobenverpackung. 91
- Wut, Färbung der Negrischen Körperchen. (Taf. I, Fig. 1—3, Taf. II, Fig. 4, Taf. III, Fig. 5.) 378. 383



JUN 15 1907

*Factorial*

# CENTRALBLATT

für

## Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:

Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

== **Originale** ==

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler, Prof. Dr. R. Pfeiffer, Prof. Dr. M. Braun  
Greifswald Königsberg i. Pr.

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 15, Nachodstr. 17<sup>II</sup>

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XLIV. Bd.

Jena, den 23. Mai 1907.

Heft 1.

Preis für den Band (50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Nummern erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe. Bei Einzelverkauf Preis für einen einfachen Druckbogen 40 Pfg., für eine Tafel 60 Pfg.

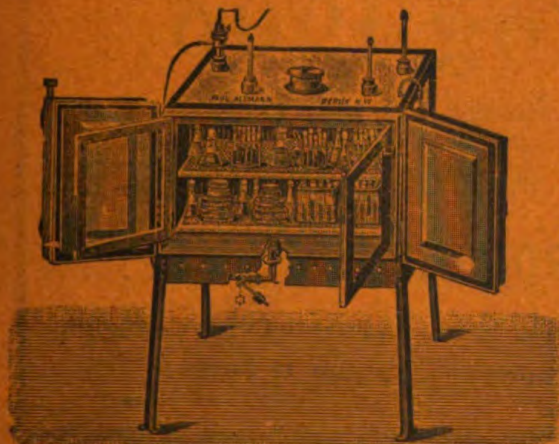
## *Paul Altmann*

Luisen-Strasse 47. Berlin N.W., Luisen-Strasse 47

### Fabrik und Lager

aller Apparate und Utensilien für Chemie, Bakteriologie,  
Mikroskopie und Hygiene.

Versandfähig!



**Sterilisiertes Blut-Serum**  
keimfrei!

in  
Verschluss-  
Flaschen

150 gr. Inhalt

- a) von Pferdeblut à Flasch. 2,50 M.
- b) von Rinder- oder Hammelblut  
à Flasche 3,00 M.

Ausführliche illustrierte Kataloge an Interessenten gratis und franko.

# Vereinigte Fabriken für Laboratoriumsbedarf

Max Kaehler & Martini.

G. m. b. H.  
Berlin N., Chausseeestr. 3

Dr. Peters & Post.

## Vorteilhafteste Bezugsquelle

von Apparaten und Gerätschaften für alle Laboratoriumsarbeiten im Gesamtgebiet der

## Biochemie

(Allgemeine Chemie — Physiologische und pathologische Chemie — Bakteriologie — Hygiene — Mikroskopie etc.) — Neue Preisliste No. 54 dafür auf Verlangen.

Erhöhte Leistungsfähigkeit durch bedeutend vergrösserte und modern ausgestattete Werkstätten im eigenen neuerbauten grossen Fabrik-Etablissement.

## Versuchs-Laboratorium,

Demonstrations-  
und Ausstellungsräume.

Neue Brutschränke, Neue Stoffwechsel-  
und andere praktische Tierkäfge.



## J. Klönne & G. Müller,

BERLIN NW. 6,

No. 49. Luisen-Str. No. 49.

Lieferanten der bedeutendsten Krankenhäuser  
und Institute des In- und Auslandes.

## Werkstätten für Mikroskopie und Bakteriologie.

Gesamt-Einrichtung bakteriologischer, chemischer und gährungskemischer Laboratorien. Bakteriologisches Laboratorium für den praktischen Arzt für Gas-, Benzin-, Spiritus- etc. Heizung (für Gas-Einrichtung 240 M.) Brutschränke und Sterilisatoren in jeder Grösse in gediegenster Ausführung zu billigsten Preisen. Normal-Thermoregulator für Heizung jeder Art (auch Dampf) und Wasserkühlung ganz aus Metall. — Mikroskope, Special-Mikroskope. — Mikroskopische Präparate aus allen Gebieten der Naturwissenschaften in höchster Vollendung. — Apparate und Gerätschaften von Metall, Holz, Porzellan und Glas. — Objektträger, Deckgläschen, Lacke, Farben, Farbelösungen genau nach Vorschrift der Autoren. — Chemikalien etc., Nährböden, Reinkulturen. — Mikrophotographische Camera mit allem Zubehör nach Dr. R. Neuhäuss. — Photogramme und Diapositive von Dr. R.



Neu! Mikroskopische Präparate von  
„Spirochaete pallida“.  
Deetjen's Nährboden für Blut-Farblösung  
nach Romanowsky-Nocht zur Malariafärbung.

Neubauss. Apparate zur Untersuchung von Blut und Harn.

Deckglasschneide-Anstalt, Farblösungen u. Apparate z. Blutfärbungen. Prof. Ehrlich.

Reiner Azur, Azur-Eosin zur Romanowsky-Färbung unterscheidet sich vorteilhaft durch seine exakte Doppelfärbung (überfärbt nicht diffus violett) von dem im Handel befindlichen.

# SPEYER & PETERS

Spezialbuchhandlung für Medizin

== BERLIN N.W. 7, Unter den Linden 43 ==

bieten in wohl erhaltenen und garantiert vollständigen  
Exemplaren an:

- Annales de l'Institut Pasteur.** Jg. 1—12. 1887—98. Geb. 700.—
- Archiv f. mikr. Anatomie.** Bd. 1—67<sup>II</sup>. 1865—1905.  
(3135.30) Geb. 1775.—
- Archiv, Intern., f. Schulhygiene.** Bd. 1—3. 1905—06.  
(80.—). Ungeb. 55.—
- Archives de biologie.** Bd. 1—14. 1880—95. (590.— frs.)  
Geb. u. brosch. 325.—
- Archivio per le scienze mediche.** Bd. 1—18. 1876  
bis 1894. (270.— frs.) Meist ungeb. 100.—
- Beiträge, Internat., z. wissensch. Medizin.** (Festschrift  
für R. Virchow.) 3 Bde. 1891. Kart. (120.—) 60.—
- XV. Congrès Internat. de Médecine,** Lisbonne, 19.—  
26. IV. 1906. 18 Bde. Ungeb. 125.—  
Ausführl. Prospekt gratis.
- Jahrbuch, Morpholog.** Bd. 1—14. 1876—88. (654.—). Geb. 355.—
- Journal of cutaneous a. genito-urinary diseases.** Bd. 1  
bis 20. 1883—1902. Ungeb. 275.—
- Lebert, Traité, d'anatomie pathol.** 2 Bde. Text u. 2 Bde.  
Atlas. M. 200 color. Taf. 1857—61. Geb. (675.— frs.) 200.—
- Maly's Jahresbericht.** Bd. 1—33. (f. 1871—1903.) Geb. 550.—
- Monatshefte f. Dermatologie.** Bd. 1—35. 1882 bis  
1902. Geb. 400.—
- Revue de médecine.** Jg. 1—22. 1881—1902. (440.— frs.) Geb. 200.—
- Rundschau, Hygien.** Jg. 1—14. 1891—1904. (380.—) Ungeb. 190.—
- Thompson Yates Laboratories Report.** Bd. 1—4<sup>I</sup>. 1900  
bis 1901. (75.50) Ungeb. 45.—
- Virchow's Archiv.** Bd. 1—175. 1847—1904. Orig.-Druck. 1275.—
- Zeitschrift f. Hygiene.** Bd. 1—45. 1886—1903. Ungeb.  
Ohne Bd. 2, H. 3, S. 369/432. 560.—

## Wir suchen zu kaufen:

Fortschritte a. d. Gebiete d. Röntgenstrahlen.  
Merkel u. Bonnet, Ergebnisse.  
Zeitschrift für klin. Medizin.

# Für den Bezug neuer Bücher

hält sich die **Sortimentsabteilung** unseres Geschäfts  
angelegentlichst empfohlen.

**Ganz besonders empfehlen wir uns zur**

**Annahme von Abonnements  
auf  
alle Zeitschriften des In- und Auslandes**

die stets am Tage des Erscheinens an die aufgegebenen  
Adressen zur Absendung gebracht werden.

Korrespondenz auch in französischer  
und englischer Sprache.

**Spezialität: Einrichtung ganzer Bibliotheken.**

**SPEYER & PETERS,**

Spezialbuchhandlung für Medizin,

Berlin N.W. 7, Unter den Linden 43.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.





QR 279846 *orig*  
 1 Centralblatt für  
 .CAF Bakteriologie und Parasit-  
 4.44 enkunde... 1909  
 3/16/25 *orig* A.F. Reith, Ract.  
 Nov. 16/1925 Miss Juhn 7.21  
 E. Geyson  
 JL 173 *Barbra*  
 J135'88 *M. B. B...*  
 My 1 '86 *Dama-Sagey*  
 No 7'80 *n. McCullough*  
 8/30/39 *the new d...*  
 14/118 *E. Geyson*

SHELVED BY TITLE

UNIVERSITY OF CHICAGO  
  
73 122 977

Generated on 2019-09-14 16:47 GMT / <http://hdl.handle.net/2027/chi.73122977>  
Public Domain in the United States; Google-digitized / [http://www.hathitrust.org/access\\_use#pd-us-google](http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google)